

## Midenin nöroendokrin tümörlerinde P-16 ekspresyonu

P-16 expression in neuroendocrine tumors of the stomach

Murat SEZAK<sup>1</sup>, Nevin ORUÇ<sup>2</sup>, Betül Duygu YILDIRIMCAN<sup>1</sup>, Ömer ÖZÜTEMİZ<sup>2</sup>

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi <sup>1</sup>Patoloji Anabilim Dalı, <sup>2</sup>Gastroenteroloji Bilim Dalı, İzmir

**Giriş ve Amaç:** Gastrointestinal nöroendokrin tümörler, gastrointestinal kanalın nadir görülen tümörleridir. Mide yerleşimli nöroendokrin tümörler ise tüm gastrointestinal nöroendokrin tümörler'ler içerisinde %6 gibi çok daha küçük bir grubu oluşturur. Dünya Sağlık Örgütü sınıflamasında bu tümörler histopatolojik özelliklerine göre iyi diferansiye nöroendokrin tümör, iyi diferansiye nöroendokrin karsinom ve az diferansiye nöroendokrin karsinom olmak üzere üç gruba ayrılır. İyi diferansiye nöroendokrin tümörler genellikle çok iyi prognoza sahipken az diferansiye nöroendokrin karsinomlar yüksek derecede malign biyolojik davranış sergiler. İyi diferansiye endokrin tümör ile karsinom arasında histolojik düzeyde belirgin bir fark olmaması nedeniyle tümör davranışını öngörme konusunda yol gösterecek bir belirteç saptanmasına ihtiyaç vardır. Bu çalışmanın amacı, mide nöroendokrin tümörleriyle benzer özellikler gösteren, akciğerin nöroendokrin tümörlerinde yol gösterici olabildiği saptanan P-16 ekspresyonunun mide tümörlerindeki varlığını ve spektrum içerisindeki ekspresyon farklılıklarını ortaya koymaktır. **Gereç ve Yöntem:** Bu amaçla, 2004-2008 yılları arasında, primer mide nöroendokrin tümörü olan hastalar geriye dönük olarak taranarak endoskopik polipektomi veya cerrahi mide rezeksiyonu uygulanan 20 hasta çalışmaya dahil edildi. Olguların P-16 ekspresyonu (%) olarak değerlendirildi. **Bulgular:** Olguların 15'inde (%75) iyi diferansiye nöroendokrin tümör, 2'sinde (%10) iyi diferansiye nöroendokrin karsinom, 3'ünde (%15) az diferansiye nöroendokrin karsinom saptandı. P-16 skorları sırasıyla %14,4, %15, %90 olarak bulundu. İyi diferansiye nöroendokrin tümör ile iyi diferansiye nöroendokrin karsinom arasında P-16 ekspresyonunda istatistiksel bir fark olmamasına karşın az diferansiye nöroendokrin karsinom ile arasında anlamlı farklılık saptandı ( $p=0.007$  Mann Whitney U testi). Yaş, cinsiyet, tümörün midedeki yerleşimi, invazyon derinliği, atrofi, intestinal metaplazi, endokrin hücre hiperplazisi, multisentrik olması, nüks oluşturma kapasitesi gibi klinikopatolojik veriler ile P-16 ekspresyonu arasında bir korelasyon saptanmadı. **Sonuç:** P-16 overekspresyonu, düşük malignite potansiyeli olan tümör ile yüksek dereceli bir tümörü ayırmada özellikle sınırlı sayıda tümör hücresinin izlendiği küçük endoskopik biyopsilerde ve sınır-daki vakalarda patoloğa karar verme aşamasında destek sağlayabilir. Ancak nadir görülen ve çoğunun düşük malignite potansiyeli olduğunu bildiğimiz bu tümör grubunun, çok sayıda merkezin katıldığı hastaların uzun süre izlendiği çalışmalar ile değerlendirilmesi gerekmektedir.

**Anahtar sözcükler:** P-16, nöroendokrin tümör, az diferansiye nöroendokrin, iyi diferansiye nöroendokrin, mide

**Background and Aims:** Gastrointestinal neuroendocrine tumors are rarely seen tumors of the gastrointestinal tract. Stomach-localized neuroendocrine tumors account for just 6% of the so-called tumors. The World Health Organization classifies these tumors into three groups based on their histopathological features, as follows: well-differentiated neuroendocrine tumor, well-differentiated neuroendocrine carcinoma and poorly-differentiated neuroendocrine carcinoma. While well-differentiated neuroendocrine tumors have significantly good prognosis, poorly-differentiated neuroendocrine carcinomas have a highly malignant course. Because there is no histological difference between a well-differentiated endocrine tumor and a carcinoma, a useful marker is needed in order to reveal the tumor behavior. This research aimed to investigate the presence of P-16 expression in tumors of the stomach, which show some similarities to lung small cell carcinoma, in which P-16 has been found to be a helpful guide. **Materials and Methods:** Toward this aim, 20 cases who underwent surgical stomach resection or endoscopic polypectomy from 2004-2008 were retrospectively analyzed and included in the study. P-16 expression of the cases was calculated as a percentage (%). **Results:** Among the 20 patients, 15 (75%) had well-differentiated neuroendocrine tumor, whereas 2 (10%) had well-differentiated neuroendocrine carcinoma and 3 (15%) had poorly-differentiated neuroendocrine carcinoma. P-16 scores were found to be 14.4%, 15% and 90%, respectively. Although no statistical difference was found between well-differentiated neuroendocrine tumor and well-differentiated neuroendocrine carcinoma regarding P-16 expression, a significant difference was observed with poorly-differentiated neuroendocrine carcinoma ( $p=0.007$ , Mann-Whitney U test) No correlation was found between P-16 expression and clinicopathological features like age, sex, location of the tumor in the stomach, invasion, atrophy, intestinal metaplasia, endocrine cell hyperplasia, multicentric configuration, and capacity for relapse. **Conclusion:** In conclusion, overexpression of P-16 may provide support in differentiating tumors with low malignant potential from the highly potential ones, especially in small endoscopic biopsies in which a limited number of tumor cells are being observed. However, these tumors, rarely seen and mostly known as having a low malignant potential, should be investigated in multicenter studies and with longer follow-up periods.

**Key words:** P-16, neuroendocrine tumor, poorly differentiated neuroendocrine tumor, well differentiated neuroendocrine tumor, stomach

İletişim: Murat SEZAK

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Tel/Faks: + 90 232 388 17 25

E-mail: drsezak@gmail.com

Geliş Tarihi: 08.09.2010 · Kabul Tarihi: 15.09.2010

## GİRİŞ

Gastrointestinal nöroendokrin tümörler (GI NET), 2/100.000 olgu/yıl insidansına sahip nadir tümörlerdir (1). Gastrointestinal kanal tümörlerinin sadece %2'sini oluşturur. Gastrointestinal kanalda en sık ileum, apendiks ve rektumda görülür. Olguların %6'sı gibi küçük bir kısmında mide tutulumu vardır (2). Ancak son yıllarda mide NET'lerde bir artış dikkati çekmektedir (3). Bu gerçek bir artış olabileceği gibi, endoskopik inceleme sıklığının artması, bu tür lezyonların tanınması ve patolojik tanı koyma yöntemlerinin daha etkin kullanılmasına bağlı olarak bir artış da olabilir.

Mide yerleşimli NET'lerin büyük bölümü (%70) enterokromafin benzeri hücrelerden (ECL) gelişir. Bu hücreler gastrointestinal sistemde yalnızca mide korpus ve fundus mukozasında bulunur ve buradaki en sık görülen endokrin hücre grubudur. Bu hücreler histamin salgılayarak komşu parietal hücrelerden asit salgılanmasını uyarır. Daha nadir olarak serotonin sekrete eden enterokromafin ve G hücrelerinden de NET gelişebilir (4).

Tümörlerin derecelendirilmesi klinisyene önemli bir prognostik veri sunar. World Health Organisation (WHO) sınıflaması GI NET'lerin histopatolojik özelliklerinden yola çıkarak oluşturulmuş bir sınıflamadır (5) (Tablo 1). Bu sınıflamada GI NET'ler, histolojik diferansiyasyon, tümör çapı, invazyon derinliği, Ki-67 proliferasyon indeksi ve anjiyoinvazyon göz önüne alınarak 3 temel gruba ayrılır. Bunlar, iyi diferansiyasyonlu nöroendokrin tümör (WNET), iyi diferansiyasyonlu nöroendokrin karsinom (WNEC) ve az diferansiyasyonlu nöroendokrin karsinomdur (PNEC). Gastrik "iyi diferansiyasyonlu" tümör ve karsinomda, tek tip hücrelerden oluşan insular, trabekular, asiner büyüme paterni görülür. Gastrik iyi diferansiyasyonlu endokrin tümör, mukoza-submukoza sınırlı, boyutu 1 cm'den küçük, 10 büyük büyütmede (10 BB) 2'den az mitoz görülen, Ki-67 proliferasyon indeksi %2'nin altında olan, biyolojik davranışı benign bir lezyondur. Öncelikle tercih edilen tedavi şekli, endoskopik eksizyon ve yıllık endoskopik kontrollerdir. Bu lezyonların benign özellikte olmasına karşın rekürrens yapabilmeleri ve nadir de olsa lenf nodu metastazı oluşturdukları bildirilmiştir. Sık rekürrens ve metastaz daha büyük cerrahi tedavi uygulanmasını gerektirebilir.

Gastrik iyi diferansiyasyonlu endokrin karsinomlar, muskularis propria invazyonu gösteren, çapları 2 cm'den büyük, 10 BB'de 2'den fazla mitoz görülen, Ki-67 proliferasyon indeksi %2'nin üzerinde olan tümör lezyonlardır (Resim 1). Bu tümörler lenf nodu metastazı oluşturabilir. Biyolojik olarak düşük malignite potansiyeli taşır. Cerrahi rezeksiyon öncelikli tedavi şeklidir.

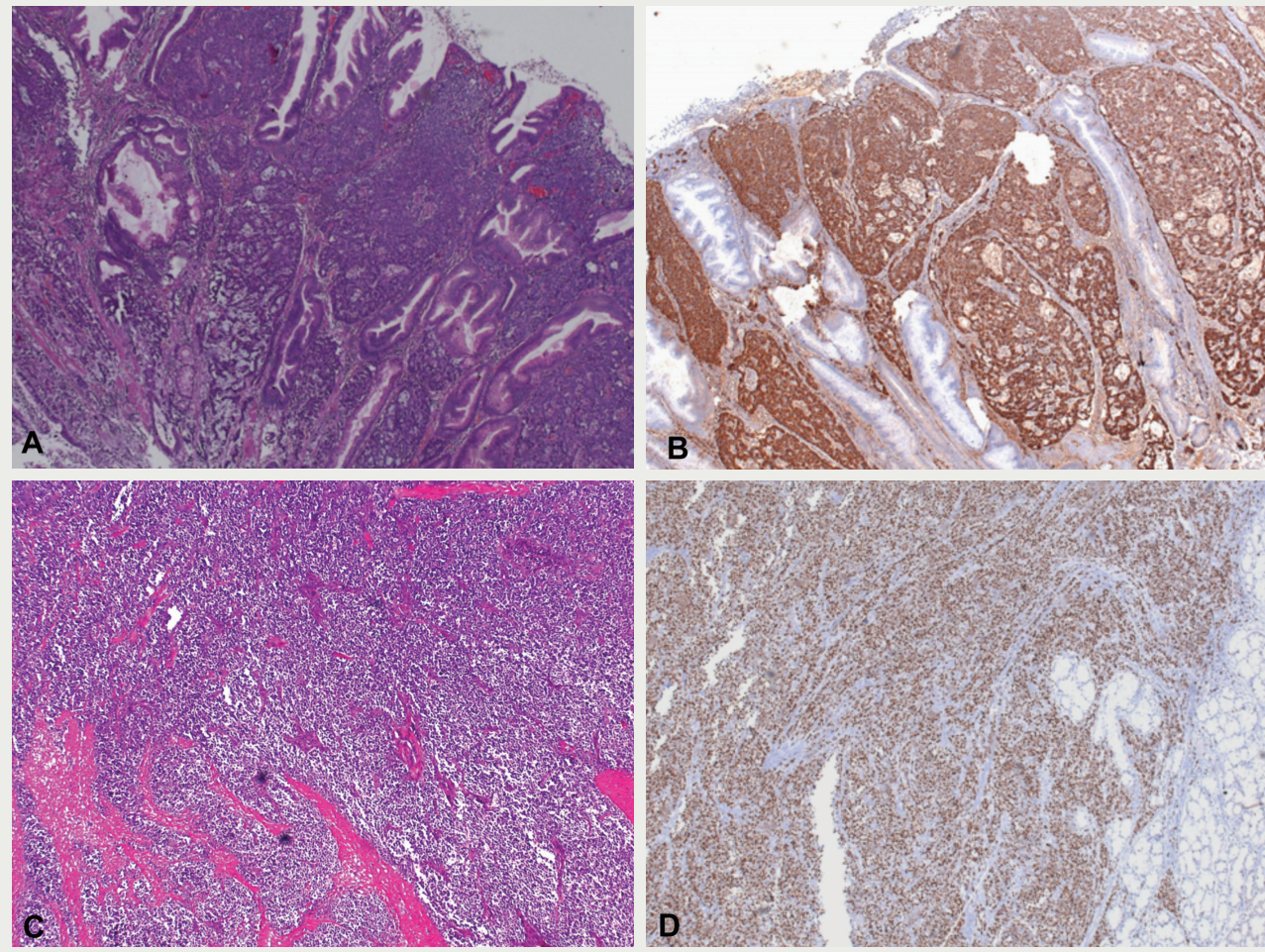
Midenin az diferansiyasyonlu nöroendokrin karsinomu histolojik olarak, belirgin bir patern göstermeyen dar sitoplazmaya sahip, yoğun kromatin içeren orta büyüklükte nükleus barındıran hücrelerden oluşur. Pleomorfizm belirgin olup organize büyüme paterni göstermez. Ki-67 proliferasyon indeksi %15'in üzerindedir (Resim 1). Mitoz sayısı 10 BB'de 10'dan fazladır. Vasküler ve nöral invazyon veya uzak metastazlar izlenebilir. Biyolojik davranışı yüksek derecede maligndir. Cerrahi tedavi yanında cisplatin bazlı kemoterapiye iyi yanıt verir.

Bu grup tümörler içinden, atrofik gastrit zemininde gelişmiş iyi diferansiyasyonlu endokrin tümörler daha sık görülür. Bu tümörler benign olarak kabul edilse de çok az bir kısmında nüks ve düşük dereceli malign davranış izlenebilmektedir. Ayrıca, iyi diferansiyasyonlu endokrin tümör ile karsinom arasında histolojik düzeyde belirgin bir fark olmayıp hemen hemen benzer histolojik görüntü vermektedir. Ancak bu iki tümör mitoz sayısı, Ki-67 indeksi, çap ve muskularis propria invazyonu ile birbirinden ayrılabilir. Küçük endoskopik mide biyopsilerinde tümörün çapı ve invazyon derinliğine karar vermek her zaman kolay olmamaktadır. Çünkü alınan küçük punç biyopsiler çok nadiren submukoza örneklemekte ve çoğunda cerrahi sınırlarda lezyon devam ettiği için gerçek çapa ulaşmak mümkün olamamaktadır. Bu nedenle, tümörün biyolojik davranışını öngörebilecek yeni belirleyicilere ihtiyaç duyulmaktadır.

P-16INK4a (P-16) siklin ilişkili kinaz inhibitörlerinden bir tanesi olup hücre siklusunun düzenlenmesinde önemlidir. Siklin ilişkili kinaz (CDK4), siklin D ile birleşip D-CDK4 kompleksini oluşturur. Bu aktif kompleks, retinoblastom'u fosforile ederek hücre siklusunun G1'den S fazına geçmesini sağlar (6). S fazı hücre siklusunda geri dönüşü olmayan bir noktadır. Bu nokta, hücrenin DNA hasarını kontrol ettiği ve replikasyon kararını verdiği yerdir. P-16, siklin D ile yarışarak, D-CDK4 kompleksinin oluşmasını en-

**Tablo 1.** WHO'ya göre nöroendokrin tümörlerin histopatolojik sınıflama kriterleri

WHO Sınıflaması	Çap (cm)	Ki-67 (%)	Mitoz (10BBA)	İnvazyon
İyi diferansiyasyonlu nöroendokrin tümör	≤1	≤2	≤2	Submukoza
İyi diferansiyasyonlu nöroendokrin karsinom	>1	>2	>2	Muskularis propria
Az diferansiyasyonlu nöroendokrin karsinom	Hepsi	>15	>10	Vasküler nöral



**Resim 1. A)** Mukozada sınırlı WNET (hematoksilin Eozin (HE) inceleme x4). **B)** Kromogranin immunhistokimyasal incelemesinde WNET diffüz kuvvetli pozitif (x4) **C)** Muskularis propria lifleri arasında PNEC (HE x4) **D)** Ki-67 proliferasyon indeksi %65 olan PNEC (x4)

geller. Bu durumda retinoblastomun fosforile (pRb) olması mümkün olamaz ve hücre siklusu geç G1 fazında durur. Ancak insan kanserlerinde P-16, hipermetilasyona veya mutasyona uğrayarak inaktive olur (7, 8).

Overin seroz papiller karsinomu, kolorektal karsinom, malign melanom, akciğerin küçük hücreli karsinomu, osteosarkom gibi birçok tümörde P16INK4a/siklin D1/pRb yolunda değişiklikler ve P-16 overekspresyonu saptanmıştır (9-14). Akciğerin küçük hücreli karsinomunda %95 olguda P-16 overekspresyonu izlendiği bildirilmiştir (15). Bu çalışmanın amacı, akciğerin nöroendokrin tümörleri ile benzer özellikler gösteren mide nöroendokrin tümör spektrumunda P-16 ekspresyonunun varlığını ve spektrum içerisindeki ekspresyon farklılıklarını ortaya koymaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

2004-2008 yılları arasında hastanemizde tanı konulan ve tedavi edilen, primer mide nöroendokrin tümörü olan

hastalar geriye dönük olarak tarandı. Bunlardan endoskopik polipektomi veya cerrahi mide rezeksiyonu uygulanan ve yıllık endoskopik kontrole gelen 20 hasta çalışmaya dahil edildi. Biyopsi örnekleri 100 ml/L nötral tamponlu formalinde fiske edildi. Dokular rutin doku takibi sonrasında parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4 µm kalınlıkta kesitler alınarak, kesitlere hematoksilin ve eosin, immunhistokimyasal olarak kromogranin, Ki-67 ve P-16 boyaları uygulandı. Bu antikorların klon, dilüsyon oranları ve marka özellikleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tümörler WHO’nun gastrointestinal kanal endokrin tümörler sınıflamasına uygun olarak yeniden değerlendirildi. Yaş, cinsiyet gibi demografik veriler değerlendirildi. Kronik atrofik gastrit, endokrin hücre hiperplazisi/displazisi, intestinal metaplazi olup olmadığı, tümör yerleşimi, tümörün invazyon derinliği, lenf nodülü metastazı, uzak metastaz, takip endoskopilerde nüks varlığı not edildi. Tümörün multifokal olup olmadığı, endoskopi raporundaki özelliklerin yanı sıra midenin farklı alanlarından gönderilmiş ör-

**Tablo 2.** Uygulanan immunhistokimyasal testlerin özellikleri

Antijen	Antikor klonu	Isı 95 °C Süre (dk)	Dilüsyon	Marka ve kodu
Kromogranin A	LK2H10+PHE5	8	1/1000	Thermo MS382
P-16	E6H4	8	Predilue	CINtec Histology
Ki-67	MIB-1	8	1/150	Dako M7240

nekler de dikkate alınarak değerlendirildi. P-16 immunhistokimyasal incelemesi için P16INK4a'ya karşı E6H4 klonu antikor içeren kullanıma hazır CINtec Histology kit kullanıldı. Pozitif kontrol olarak, incelenen örneklerin kesitlerinin yanına ayrıca intraepitelyal neoplazi gösteren servikal biyopsi örneği eklendi. Tüm kesitlerin deparafinizasyonu ve immunhistokimyasal uygulama Ventana BenchMark XT boyama modülü yapıldı. Bu şekilde boyanmanın standardizasyonu sağlandı. Ventana BenchMark XT boyama modülünde tüm basamaklar otomatik olmasına karşın primer antikor eklemeye basamağı manuel olarak gerçekleştirildi. Antijen kazanım basamağında ısıtma 95 °C ta 8 dakikayı takiben 30+60 dakikalık inkübasyondan oluşmaktaydı. Primer antikor süresi 32 dakika olarak uygulandı.

P-16 ve Ki-67 incelemelerin değerlendirilmesi klinik bulgularını bilmeden iki patolog tarafından kör olarak yapıldı. Her iki incelemede boyanan hücrelerin boyanmayan hücrelere oranı yüzde olarak hesaplandı. Her olgu için, iki gözlemcinin ortalaması olgunun skoru olarak not edildi. Tümör hücrelerindeki pozitiflik Ki-67 için nükleer boyanma (Ki-67 pozitif kontrolü doku içerisindeki lenfositler ve mide bazal foveolar epitel dikkate alındı), P-16 için ise nükleer ve sitoplazmik boyanma kabul edildi.

İstatistiksel analiz, bilgisayar temelli analiz programı olan SPSS 12.0 ile gerçekleştirildi. P-16 ile Ki-67 ve yaş arasındaki ilişki Pearson korelasyon analizi ile yapıldı. Klinik histolojik bulgular ile P-16 skoru arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi Mann Whitney U testi ve lokalizasyon ve invazyon gibi bulguların değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi uygulandı.  $P < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

### Hastalar ve Tümör Özellikleri

Mide nöroendokrin neoplazisi olan 20 hastanın dokusu çalışmaya alındı. Hastaların 12'si (%60) erkek, 8'i (%40) kadındı. Hastaların ortalama yaşı  $51 \pm 3,2$  (aralık:21-81) olarak hesaplandı. Tümörlerden 8'i (%40) korpus, 7'si (%35) antrum, 5'i (%25) fundus yerleşimliydi. Olguların 4'ü (%20) multifokal, 8'i (%40) atrofik gastrit intestinal metaplazi zemininde gelişmişti. Olgulardan 9'unda (%45) komşu mukozada endokrin hücre hiperplazisi veya displazisi saptandı.

Histolojik özelliklerine göre, olguların 17'sinde iyi diferansiye, 3'ünde az diferansiye nöroendokrin tümör özellikleri saptandı. Olgular WHO kriterlerine göre sınıfladığında ise; 15'i (%75) iyi diferansiye nöroendokrin tümör, 3'ü (%15) az diferansiye nöroendokrin karsinom, 2'si (%10) iyi diferansiye nöroendokrin karsinom olarak değerlendirildi. Olguların 13'ü (%65) endoskopik polipektomi uygulanarak tedavi edilirken 7'sine (%35) cerrahi mide rezeksiyonu uygulanmıştı. Olguların ortalama  $35,2 \pm 4$  aylık (aralık:5-67 ay) takipleri süresince, olgulardan 3'ünde (polipektomi ile tedavi edilen olgularda) nüks tümör, cerrahi mide rezeksiyonu uygulanan 8 olgudan 5'inde tanı anında lenf nodu metastazı, 2'sinde uzak organ metastazı bulunmaktaydı. Uzak organ metastazı bulunan 2 olguda aynı zamanda tanı anında lenf nodülü metastazı da mevcuttu. Bu olguların tamamı az diferansiye endokrin karsinom olarak tanı almış ve ortalama 8 ay içinde eks olmuştur. Az diferansiye karsinom tanılı diğer olgunun da tanı anında lenf nodulu metastazı saptanmıştır. İyi diferansiye endokrin tümörler ortalama 48,7 yaşında izlenirken, az diferansiye endokrin karsinomların ortalama 70 yaş gibi daha ileri yaş grubunda izlendiği ( $p=0,007$ ) görülmüştür. Olguların klinik ve histolojik özellikleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

### Immunhistokimyasal olarak P-16 ve Ki-67 Ekspresyonunun analizi

P-16 ve Ki-67 ekspresyonu histolojik olarak iyi diferansiye 17 olgu ile az diferansiye 3 olguda değerlendirilmiştir. Mide NET'lerinde P-16 ile Ki-67 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır ( $p < 0,01$  Pearson korelasyon analizi). Histolojik diferansiyasyon özelliğine göre değerlendirildiğinde, az diferansiye olan grup %90'a karşılık iyi diferansiye grup %14,5 skoru almıştır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,006$ ) (Tablo 4). WHO sınıflamasına göre değerlendirildiğinde WNET %14,4'e karşılık WNEC %15 skoru almıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,72$ ). Ancak WNET %14,4 skoruna karşılık PNEC %90 skoru almıştır (Resim 2) bu fark ise istatistiksel olarak anlamlıdır (Tablo 5) ( $p=0,007$ ).

Mide mukozasında atrofi ve intestinal metaplazi zemininde gelişen tümörlerin P-16 skoru %14,6 olarak saptanırken atrofi zemininde gelişmemiş olan tümörlerde skor

**Tablo 3.** İyi ve az diferansiye nöroendokrin tümörlerin klinik patolojik özelliklerinin dağılımı

Klinik & Patolojik Özellikler	WNET (Olgu, %)	WNEC (Olgu,%)	PNEC (Olgu, %)	Total
Ortalama yaş	46,8±13	54±7	70±11	51±3,2
Ortalama takip (Ay)	39,3±14,9	43±24	9,6±4	35,2±4
Toplam olgu	15 (%100)	2 (%100)	3 (%100)	20 (%100)
Atrofi	10 (%67)	2 (%100)	0	12 (%60)
İntestinal metaplazi	10 (%67)	2 (%100)	0	12 (%60)
Nöroendokrin hiperplazi	9 (%60)	2 (%100)	0	11 (%55)
Mültifokal	3 (%20)	1 (%50)	0	4 (%20)
M. propria & Seroza invazyonu	0	1 (%50)	3 (%100)	4 (%20)
Nüks	2 (%13,3)	0	0	2 (%10)
Cerrahi rezeksiyon	3 (%20)	2 (%100)	3 (%100)	8 (%40)
LNM	1 (%6)	1 (%50)	3 (%100)	5 (%25)
Uzak metastaz	0	0	2 (%67)	2 (%10)
Hayatta	15 (%100)	2 (%100)	1 (%33)	18 (%90)

%42,7 bulunmuştur ancak istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (p=0,27). Tanı anında lenf nodülü metastazı saptanan olguların P-16 skoru %64'e karşılık metastaz bulunmayanlarda %13,3 olarak değerlendirilmesine karşın istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,07). Histolojik ve klinik özellikler ile P-16 ilişkisi Tablo 6'da gösterilmiştir.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada 20 gastrik nöroendokrin tümörde P-16 ekspresyonu değerlendirildi. Bunlardan 3'ü PNEC olup bu tümörler ortalama %90 oranında P-16 ekspresyonu (overekspresyon) göstermekteydi. Buna karşın iyi diferansiye histolojideki nöroendokrin tümörlerde %14,4 gibi düşük bir oranda pozitiflik saptandı. Öyle ki 6 olguda hiç P-16 ekspresyonu izlenmedi. İstatistiksel olarak da bu ilişkinin

anlamlı olduğu gösterildi. Literatürde P-16 ile gastrointestinal nöroendokrin tümörleri inceleyen kısıtlı sayıda inceleme mevcuttur. Li ve ark.'nın yaptığı gastrointestinal kanallı nöroendokrin tümörlerinde (PNEC ve WNET) P-16 varlığının değerlendirildiği çalışmada, PNEC'larda P-16 overekspresyonu (%60 ve üzeri) olguların %73'ünde (16 olgu) saptanırken WNET olgularının hiçbirinde P-16 overekspresyonu izlenmemiştir. Yaptığımız bu çalışmada da WNET'lerden hiçbirinde %40'ı geçen bir skor saptanma-

**Tablo 4.** Histolojik diferansiyasyon ile ilişkili P-16 ve Ki-67 skorları

Histolojik Diferansiyasyon	P-16		Ki-67	
	Skor %	Min-Max	Skor %	Min-Max
İyi diferansiye tm	14,5± 15,1	0-40	1,65±1,7	0-8
Az diferansiye tm	90±17,3	70-100	73,3±25,6	45-95

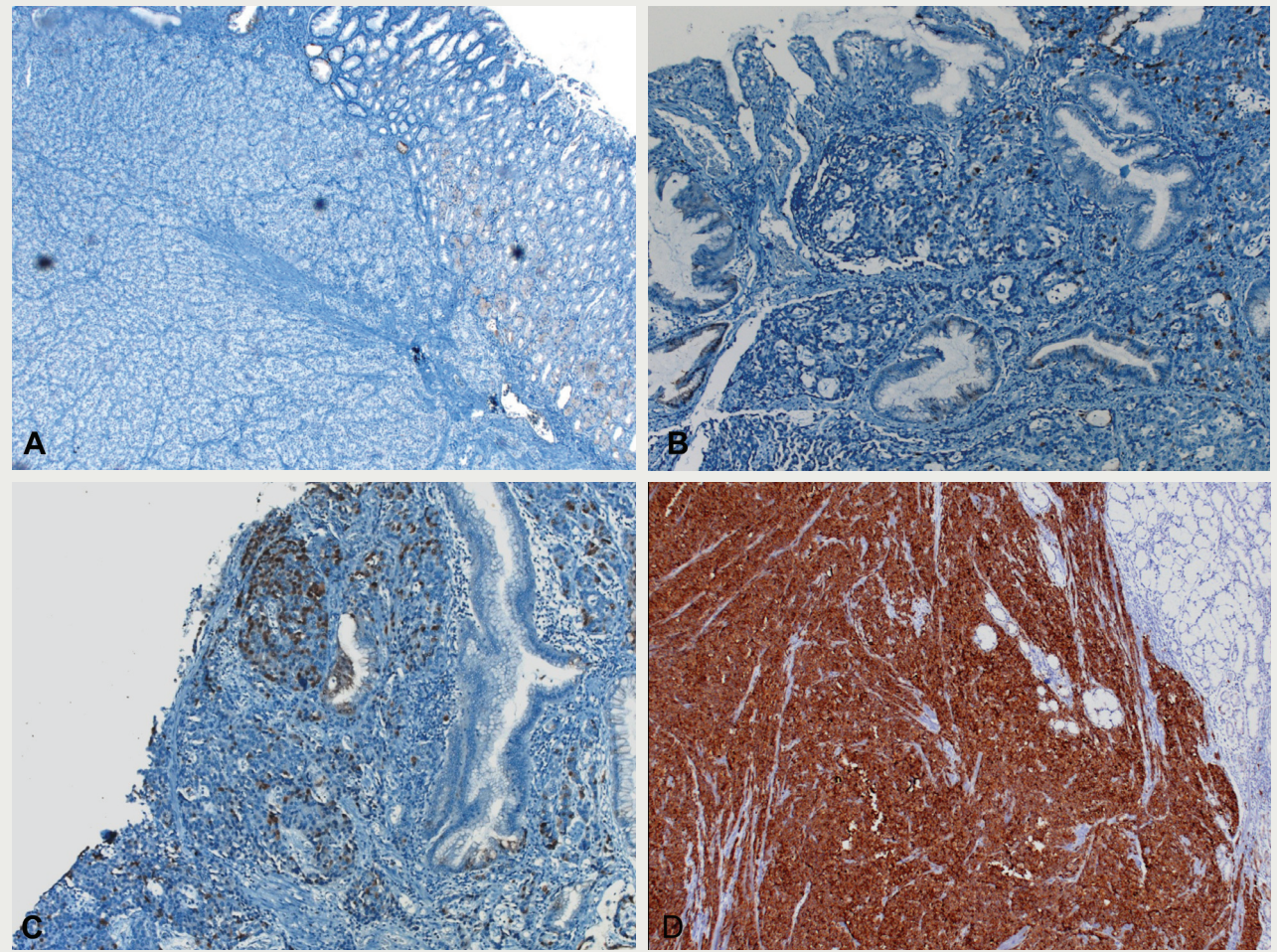
**Tablo 5.** WHO sınıflamasına göre nöroendokrin tümörlerin P-16 ve Ki-67 skorlarının karşılaştırılması

WHO	WNET (Skor %)	WNEC (Skor %)	PNEC (Skor %)
P-16	14,4±16	15±7	90±17
Ki-67	1,2±0,5	5±4,2	73±25

**Tablo 6.** Histolojik ve klinik özellikler ile P-16 skorlarının karşılaştırılması

Klinik&Patolojik Özellikler	n=	P-16 skor %	
Lokalizasyon	Fundus	5	42,5
	Korpus	8	24,3
	Antrum	7	17
İnvazyon	Mukoza	3	20
	Submukoza	13	13,6
	M. Propria	2	55
	Seroza	2	85
Atrofi+intestinal metapazi	Var	12	14,5
	Yok	8	42,7
Endokrin hücre hiperplazisi	Var	11	11,1
	Yok	9	40,7
Multisentrik	Var	4	20
	Yok	16	26,6
Nüks	Var	2	25
	Yok	18	25,9
Lenf nodu metastazı	Var	5	64
	Yok	15	13,13

\*Kruskal-Wallis testi \*\*Mann Whitney U testi



**Resim 2.** P-16 immunhistokimyasal incelemesinde izlenen farklı skorlar (x4). **A)** WNET P-16 skoru %0 **B)** WNET P-16 skoru %10 **C)** WNET P-16 skoru %25 **D)** PNEC P-16 skoru %100.

di. Dolayısı ile bu çalışmanın sonuçları Li ve ark. yaptığı çalışmanın sonuçları ile örtüşmektedir.

Az diferansiye nöroendokrin karsinom tanısına, nükleol belirginliği, nükleer pleomorfizm, yüksek mitoz sayısı (>10/BBA), Ki-67 proliferasyon indeksinin yüksek olması (>%10), nekroz gibi histolojik özelliklerin yanında tümörün nöroendokrin özelliğini ortaya koyan belirleyicilerin immunhistokimyasal olarak (Kromogranin A, sinaptofizin, CD56, NSE) gösterilmesi ile varılır. Ancak küçük endoskopik biyopsilerde sınırlı sayıda tümör hücresinde bu kararı vermek zaman zaman zor olabilmektedir. Histolojik bulgular, Ki-67 proliferasyon indeksi, WNET ile PNEC arasında ayırıcı tanı zorluğu gösteren olgularda, P-16 overekspresyonu, düşük malignite potansiyeli olan tümör ile yüksek dereceli olan PNEC ayırmada patoloğa karar verme aşamasında destek sağlayabilir. PNEC'ler kemoterapiye iyi yanıt verirken WNET'ler dirençlidir. Bu nedenle P-16 overekspresyonu doğru tanının ve tedavinin belirlenmesinde önemli bir belirleyici olabilir.

Overin seroz papiller karsinomu, kolorektal karsinom, malign melanom, akciğerin, serviksın küçük hücreli karsinomu, osteosarkom gibi birçok tümörde P16INK4a / siklin D1/pRb yolağında değişiklikler saptanmıştır. P-16 overekspresyonu, akciğerin küçük hücreli karsinomunda %95 üzerinde olguda gösterilmiştir. Bu bulgu, bizim çalışmamızdaki gastrik PNEC'lardaki P-16 ekspresyonu ile benzerdir.

Çalışmamızda iyi diferansiye tümör ile iyi diferansiye nöroendokrin karsinom arasında P-16 ekspresyonu açısından bir fark saptanmadı. Li ve ark. yapmış oldukları çalışmada da P-16 ekspresyonunda bir fark saptamamıştır. Bu bulgu belki de iyi diferansiye endokrin tümörlerin P16INK4a / siklin D1/pRb yolağını kullanmadığını düşündürülebilir.

Bunlara ek olarak yaş, cinsiyet, tümörün midedeki yerleşimi, invazyon derinliği, atrofi, intestinal metaplazi, endokrin hücre hiperplazisi, multisentrik olması, nüks oluşturma kapasitesi gibi kliniko-patolojik veriler ile P-16 ekspresyonu arasında bir korelasyon saptanmamıştır. Ancak

P-16 ekspresyonu ile lenf nodü metastazı arasında bir ilişki olasılığı var gibi görünmektedir. Ancak vaka sayısı az olduğu için istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. Daha büyük bir hasta grubu ile bu bulgu değerlendirilmelidir.

P-16 ile elde ettiğimiz bu sonuçlar ilerisi için umut vericidir. Ancak nadir görülen ve çoğunun düşük malignite potansiyeli olduğunu bildiğimiz bu tümör grubu, daha çok merkezine katıldığı, hastaların uzun süre izlendiği çalışmalar ile değerlendirilmelidir.

## KAYNAKLAR

- Hemminki K, Li X. Incidence trends and risk factors of carcinoid tumors. A nationwide epidemiologic study from Sweden. *Cancer* 2001; 92: 2204-10.
- Modlin IM, Lye KD, Kidd M. A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors. *Cancer* 2003; 97: 934-59.
- Modlin IM, Lye KD, Kidd M. A 50-year analysis of 562 gastric carcinoids: small tumor or larger problem? *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 23-32.
- Gilligan CJ, Lawton GP, Tang LH, et al. Gastric carcinoid tumors: the biology and therapy of an enigmatic and controversial lesion. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 338-52.
- Solcia E, Klöppel G, Sobin LH. Histological typing of endocrine tumours. WHO International Histological Classification of Tumours 2000; 2nd ed. Berlin Springer.
- Lowe SW, Sherr CJ. Tumor suppression by Ink4a-Arf: progress and puzzles. *Curr Opin Genet Dev* 2003; 13: 77-83.
- Walworth NC. Cell-cycle checkpoint kinases: checking in on the cell cycle. *Curr Opin Cell Biol* 2000; 12: 697-704.
- Bartek J, Lukas J. Mammalian G1- and S-phase checkpoints in response to DNA damage. *Curr Opin Cell Biol* 2001; 13: 738-47.
- Armes JE, Lourie R, de Silva M, et al. Abnormalities of the RB1 pathway in ovarian serous papillary carcinoma as determined by overexpression of the p16(INK4A) protein. *Int J Gynecol Pathol* 2005; 24: 363-8.
- Muthusamy V, Hobbs C, Nogueira C, et al. Amplification of CDK4 and MDM2 in malignant melanoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2006; 45: 447-54.
- Cui X, Shirai Y, Wakai T, et al. Aberrant expression of pRb and p16(INK4), alone or in combination, indicates poor outcome after resection in patients with colorectal carcinoma. *Hum Pathol* 2004; 35: 1189-95.
- Beasley MB, Lantuejoul S, Abbondanzo S, et al. The p16/cyclin D1/Rb pathway in neuroendocrine tumors of the lung. *Hum Pathol* 2003; 34: 136-42.
- Heinsohn S, Evermann U, Zur Stadt U, et al. Determination of the prognostic value of loss of heterozygosity at the retinoblastoma gene in osteosarcoma. *Int J Oncol* 2007; 30: 1205-14.
- Igarashi T, Jiang SX, Kameya T, et al. Divergent cyclin B1 expression and Rb/p16/cyclin D1 pathway aberrations among pulmonary neuroendocrine tumors. *Mod Pathol* 2004; 17: 1259-67.
- Yuan J, Knorr J, Altmannsberger M, et al. Expression of p16 and lack of pRB in primary small cell lung cancer. *J Pathol* 1999; 189: 358-62.
- Li AF, Tsay SH, Liang WY, et al. Clinical significance of p16INK4a and p53 overexpression in endocrine tumors of the gastrointestinal tract. *Am J Clin Pathol* 2006; 126: 856-65.
- Li AF, Li AC, Tsay SH, et al. Alterations in the p16INK4a/cyclin D1/RB pathway in gastrointestinal tract endocrine tumors. *Am J Clin Pathol* 2008; 130: 535-42.