TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

İNCE İĞNE ASPİRASYON BİYOPSİ MATERYALLERİNDE PANKREATİK DUKTAL ADENOKARSİNOMA TANISINDA IMP3, S100P, PVHL VE MASPİN İMMÜNHİSTOKİMYA ANTİKORLARININ TANISAL DEĞERİ

Dr. Ayşegül AKSOY ALTINBOĞA

PATOLOJİ ANABİLİM DALI
SİTOPATOLOJİ BİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Koray CEYHAN

ANKARA
2013

TÜRKİYE CUMHURİYETİ

ANKARA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İNCE İĞNE ASPİRASYON BİYOPSİ MATERYALLERİNDE PANKREATİK DUKTAL ADENOKARSİNOMA TANISINDA IMP3, S100P, PVHL VE MASPİN İMMÜNHİSTOKİMYA ANTİKORLARININ TANISAL DEĞERİ

Dr. Ayşegül AKSOY ALTINBOĞA

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

SİTOPATOLOJİ BİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Koray CEYHAN

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğü tarafından 13L3330006 Proje no ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yandal eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşarak beni sitoloji ailesine kazandıran değerli hocalarım Prof. Dr. Cemil Ekinci, Prof. Dr. Nural Erdoğan ve Doç. Dr. Koray Ceyhan'a, iki yıl boyunca beraber çalışmaktan zevk duyduğum Dr. Tolga Bağlan'a, Patoloji ailesinin değerli hocalarına, uzman ve asistan arkadaşlarıma, çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen AÜTF Patoloji Anabilim dalının tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca sitoloji yandal eğitimi için beni teşvik eden, yüreklendiren ve destek olan sevgili eşim Orhan'a, bana hergün yaşama sevinçi aşılayan dünyanın en güzel varlığı oğlum Sinan'a teşekkür ederim.

Dr. Ayşegül Aksoy Altınboğa

Ankara, 2013

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ……...……...ii

İÇİNDEKİLER……...iii

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ…….....vi

RESİMLER DİZİNİ……..vii

TABLOLAR DİZİNİ……..ix

1. GİRİŞ VE AMAÇ……....1

2.GENEL BİLGİLER…….2

2.1. Pankreas Embriyolojisi ……..2

2.1.1. Dorsal Ve Ventral Primordiyaların Gelişimi……...2

2.1.2.Pankreatik Organogenez……...3

2.1.3 Multipotansiyel Hücrelerin Endokrin ve Ekzokrin hücrelere diferansiye olması ……..……..3

2.2. Pankreas Anatomisi…..……4

2.3. Pankreas Histolojisi…….……5

2.4. Pankreas Tümörleri…….7

2.4.1.Epidemiyoloji ve İnsidans ……...8

2.4.2.Etiyoloji……8

2.4.3. Klinik Prezentasyon, Tanı ve Tedavi…….....9

2.4.4. Pankreas Kanserlerinin Histopatolojik Sınıflandırması ……10

2.4.5. Pankreatik Duktal Adenokarsinomada Öncü Lezyonlar……12

2.4.6. Pankreatik Duktal Adenokarsinomada Genetik Yatkınlık……13

2.4.7.Pankreas Kanseri Gelişiminde Etkili Olan Moleküler Belirteçler ……..……14

2.4.7.1. Öncü Lezyonların Gelişiminde Moleküler Patoloji……15

2.4.8. Pankreatik Duktal Adenokarsinoma Histopatolojisi…….16

2.4.9. Çalışmada Kullanılan İmmünohistokimyasal Belirteçler……..20

2.4.9.1. IMP3……..20

2.4.9.2. pVHL…….21

2.4.9.3. S100P…….21

2.4.9.4. Maspin……22

2.4.10. Pankreas Sitolojisi……23

2.4.10.1. Normal Pankreas Dokusunun Sitolojisinde Görülen Hücreler ……....24

2.4.10.1.1. Ekzokrin hücreler……...24

2.4.10.1.2. Endokrin Hücreler……..**.....**25

2.4.10.2. Pankreas Sitolojisinde Görülen Reaktif/Dejeneratif Atipik Hücreler……**...**25

2.4.10.3. Pankreatik Duktal Adenokarsinoma Sitolojisi…….25

2.4.11. Pankreas Kanserinde Prognoz ve Prediktif Faktörler ……...…….27

3. GEREÇ VE YÖNTEM……..……28

3.1. Olgu Seçimi…….……28

3.2. Sitolojik İnceleme……29

3.3. İmmünhistokimyasal Değerlendirme……..…….29

3.4. İstatistiksel İnceleme……...……30

4. BULGULAR……..……31

4.1. Genel Bulgular…….31

4.2. İmmünhistokimyasal Bulgular…….32

5. TARTIŞMA……..54

6. SONUÇLAR…….62

7. ÖZET…….63

8. SUMMARY……..65

9. KAYNAKLAR…….....67

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

PDAK:	Pankreatik Duktal Adenokarsinoma
PanIN:	Pankreatik İntraepiteyal Neoplazi
İİAB:	İnce İğne Aspirasyon Biyopsisi
ERCP:	Endoskopik Retrograd Kolanjiyopankreatografi
MRG:	Magnetik Rezonans Görüntüleme
BT:	Bilgisayarlı Tomografi
USG:	Ultrasonografi
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
CEA:	Karsino Embriyonik Antijen
PET:	Pozitron Emisyon Tomografisi
FANC:	Fanconi Anemi Complementation Group
DAB:	Diamino Benzidin
IMP3:	Insulin-like growth factor II mRNA binding protein
pVHL:	Von Hippel-Lindau Gen Ürünü
HE:	Hematoksilen Eozin
MGG:	May-Grünwald Giemsa

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: **A**: Balpeteği görünümümde normal pankreas duktal hücreleri **B-F:** PDAK olguları

Resim 2: IMP3 ile **A-B:** fokal güçlü immün pozitivite gösteren PDAk olgusu, **C**: fokal zayıf immün pozitivite gösteren PDAK olgusu, **D,E,F**: yaygın güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olguları

Resim 3: S100P ile **A:** fokal zayıf immün poztivite gösteren PDAK olgusu **B:** fokal güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu **C-D:** yaygın güçlü immünpozitivite gösteren PDAK olguları

Resim 4: Maspin ile **A:** fokal güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu **B-C:** yaygın güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu

Resim 5: A: PDAK olgularından tümör-nontümöral pankreas parankimini bir arada izlendiği bir olgunun H&E kesiti **B-C:** aynı olgunun maspin ile tümörde pozitif immün boyanma ve normal pankreasta negatiflik **D-E:** S100P ile tümörde pozitif immün boyanma ve normal pankreasta negatiflik **F:** IMP3 ile tümörde pozitif immün boyanma ve normal pankreasta negatiflik

Resim 6: pVHL ile **A:** boyanma göstermeyen PDAK olgusu **B:** fokal-zayıf immün boyanma gösteren PDAK olgusu **C:** fokal-güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu **D:** yaygın-güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu

Resim 7: A-C: Normal/kronik pankreatit olgularının H&E kesitleri **D-F:** Bu olgularda pVHL ile yaygın-güçlü immün pozitivite

Resim 8: A: Normal/kronik pankreatit olgularından birinin H&E kesiti **B:** maspin **C:** IMP3 **D:** S100P ile negatif immün boyanma

Resim 9: A: PDAK ile yaygın-güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu, aynı olgunun **B:** IMP3 ile yaygın-güçlü immün pozitivitesi **C:** S100P ile yaygın-güçlü immün pozitivitesi **D:** maspin ile yaygın-güçlü immün pozitivitesi

Resim 10: A: pVHL ile fokal-güçlü immün pozitivite gösteren olgunun H&E kesiti, aynı olgunun **B-C:** pVHL ile fokal güçlü immün pozititivitesi **D:** IMP3 ile yaygın-güçlü immün pozitivitesi **E:** maspin ile yaygın-güçlü immün pozitiviteisi **F:** S100P ile yaygın-güçlü immün pozitivitesi

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1: Dünya Sağlık Örgütü Pankreas Tümörleri Sınıflaması

Tablo 2.2. DSÖ'ye Göre PDAK Derecelemesi

Tablo 2.3. PDAK TNM Evrelemesi

Tablo 3.1. Kullanılan Antikorların İsimleri, Klonları, Dilüsyonlar ve Ticari İsimleri

Tablo 4.1. PDAK Olguların Yaş Özellikleri

Tablo 4.2. PDAK Olguların Cinsiyet Dağılımı

Tablo 4.3. Normal/kronik Pankreatitlerde İmmünhistokimyasal Boyama Sonuçları

Tablo 4.4. PDAK'larda İmmünhistokimyasal Boyama Sonuçları

Tablo 4.5. IMP3 Pozitif Boyanan PDAK Olgularının Boyanma Şiddeti Ve Yaygınlığı

Tablo 4.6. S100P Pozitif Boyanan PDAK Olgularının Boyanma Şiddeti Ve Yaygınlığı

Tablo 4.7. Maspin Pozitif Boyanan PDAK Olgularının Boyanma Şiddeti Ve Yaygınlığı

Tablo 4.8. PVHL Pozitif Boyanan PDAK Olgularının Boyanma Şiddeti Ve Yaygınlığı

Tablo 4.9. PDAK ve Normal/Kronik Pankreatitte İmmünhistokimyasal Sonuçlar

Tablo 4.10. IMP3, S100P, Maspin ve pVHL'nin Duyarlılık, Özgüllük, Doğruluk, Pozitif Belirleyici Değeri, Negatif Belirleyici Değeri

Tablo 4.11. PDAK'da S100P, IMP3 ve Maspinin Kombine Kullanımında Pozitiflik Oranları

Tablo 4.12. PDAK'da S100P, IMP3 ve Maspinin Kombine Kullanımının Duyarlılık, Özgüllük, Doğruluk, Pozitif Tahmin Değeri ve Negatif Tahmin Değeri

Tablo 4.13. PDAK'da pVHL, S100P, IMP3 ve Maspinin Kombine Kullanımında Pozitiflik Oranları

Tablo 4.14. PDAK'da pVHL, S100P, IMP3 ve Maspinin Kombine Kullanımının Duyarlılık, Özgüllük, Doğruluk, Pozitif Tahmin Değeri ve Negatif Tahmin Değeri

Tablo 4.15. Antikorların PDAK grubunda boyanma şiddeti ve boyanma yüzdeleri açısından uyumu

Tablo 4.16. pVHL Pozitif PDAK Olgularında Maspin, IMP3 ve S100P'nin Boyanma Özelliği

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Pankreas retroperitonda lokalize ve bir çok hayati önemi olan organ ile yakın ilişkidedir. Pankreatik duktal adenokarsinoma (PDAK) tüm pankreas tümörlerinin %85-90'ını oluşturur (1). Büyük bir kısmı pankreas başında lokalize olan bu tümörün sağ kalımı oldukça kısadır. Tanı anında tümörlerin çoğu opere edilemeyecek evreye ilerlemiştir. Bu nedenle pankreasta bir kitle varlığında tanı cerrahi rezeksiyon materyalinden çok ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) veya kesici iğne biyopsisi gibi sınırlı dokunun incelendiği örnekler ile konmak zorundadır (2).

Pankreas İİAB'si hızlı, güvenilir ve komplikasyon oranının az olması nedeniyle, son yıllarda pankreas kitlelerinin tanısında altın standart haline gelmiştir (2). İİAB'nin bilgisayarlı tomografi (BT) ve ultrasonografi (USG) eşliğinde yapılması, biyopsi yapılacak alanın doğrudan gözlenmesine izin vermesi nedeniyle tanısal yeterlilik oranlarını artırmaktadır (3).

İyi diferansiye bir pankreatik duktal adenokarsinomayı, nonneoplastik pankreas dokusundan ayırt etmek, cerrahi rezeksiyon materyallerinde bile zor olabilmektedir. Bu durum küçük kesici iğne biyopsi materyallerinde veya İİAB ile elde edilen hücre bloğu materyallerinde daha sıklıkla karşımıza çıkmaktadır (4).

PDAK'u benign pankreatik duktal epitelden ayırt etmek için literatürde sitolojik kriterlerin değerini araştıran çeşitli çalışmalar mevcuttur (5,6). Aynı zamanda pankreas İİAB'lerinde duyarlılık ve özgüllüğü artırmak için pankreatik duktal adenokarsinomalarda çeşitli tümör belirteçleri de araştırılmıştır (7-11). PDAK'Larda araştırılan bu belirteçlerden "prostate stem cell antigen", mezotelin, MUC-1, claudin-4 ve KOC ile %90 civarında pozitiflik saptanmıştır (8-11).

Çalışmamızda Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda pankreatik duktal adenokarsinoma tanısı konulan 33 olgunun hücre bloklarında ve pankreas cerrahi rezeksiyon materyali bulunan olguların tümör içermeyen, normal pankreas veya kronik pankreatit içeren 34 parafin doku bloğunda immünhistokimyasal olarak S100P, IMP3, maspin ve pVHL'nin tanısal değerini ve PDAK-normal/kronik pankreatit ayırımına katkısını araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

Pankreas retroperitonda lokalize ve bir çok hayati önemi olan organ ile yakın ilişkidedir. Pankreas ekzokrin ve endokrin dokunun aynı organda birleştiği komleks bir organdır.

2.1.Pankreasın Embriyolojisi:

Pankreas embriyogenezisi 3 basamakta gerçekleşir (12):

1. Dorsal ve ventral pankreatik primordiyanın gelişimi
2. Pankreasın organ olarak büyüme ve dallanmasını içeren morfogenezi
3. Multipotansiyel hücrelerin endokrin ve ekzokrin hücrelere differansiye olması

2.1.1.Dorsal ve Ventral Pankreatik Primordiyaların Gelişimi:

Pankreas gestasyonun 4-7. haftalarında gelişmeye başlar. Foregut endoderminin ventral ve dorsal tomurcuklanmasından köken alır. Dorsal pankreas tomurcuğu dorsal mezenter içerisinde, ventral pankreas tomurcuğu ise koledok yakınında bulunur. Gestasyonel 5. haftada her iki tomurcuğun gelişmekte olan bağırsak içeresine açılan duktus sistemi vardır. 7. Haftada duedonumun sağa doğru rotasyon yaparak C şeklini alması sürecinde, pankreasın ventral tomurcuğu saat yönünde dönerek dorsal tomurcuğun alt-arkasına yerleşir ve dorsal tomurcuk ile birleşir. Dorsal tomurcuktan pankreas gövde, kuyruk ve başın kraniyal kısmı gelişir. Pankreas başının kaudali ve unsinat proçes ise ventral tomurcuktan köken alır (12).

Her iki tomurcuğun duktus sistemi de bu sırada birleşir. Wirsung's kanalı olarak bilinen ana pankreatik duktus, pankreas gövde ve kuyruk kısmında dorsal tomurcuktan, pankreas başında ise ventral tomurcuktan köken alır. Tek bir duktus olarak ampulla vateride duedonuma açılır ve bu alan major duedanal papilla olarak adlandırılır. Santorini duktusu olarak adlandırılan, posterior taslaktan gelişen duktusun bir kısmı, pankreas başının kraniyalini drene eder minör ampulla ve papillada duedonuma açılır (12).

2.1.2. Pankreatik Organogenezis:

Yedinci gestasyonel haftanın sonunda pankreas birleşmiş tek bir organ halini alır. Primitif epitelyal ağacın gövde ve uç parçaları olmak üzere iki kısmı vardır. Pankreatik epitelyal ağacın uç kısmı, asiner progenitör hücrelere dönüşecek multipotansiyel pankreatik hücrelere dönüşür. Gövde kısmı ise endokrin-duktus bipotansiyel hücre havuzunu oluşturur. Gövdede lokalize progenitör hücrelerin bir kısmı endokrin hücre adalarına dönüşür. Gestasyonel 4. ayda pankreas dokusunun lobülasyonu belirgindir. İlerleyen haftalarda lobül gelişmeye devam eder ve çevre bağ doku azalır (12).

2.1.3. Multipotansiyel Hücrelerin Endokrin ve Ekzokrin Hücrelere Differansiye Olması:

Endokrin ve ekzokrin hücre differansiyasyonu 12-14. haftalarda gerçekleşir. Bu süreç çok sayıda sinyal yolağı ile kontrol edilir. Erken dönemde PDX1 eksprese eden progenitör hücreler asini, duktus ve endokrin hücreleri oluşturur. Endokrin subtiplerin oluşumunda PDX1 ve Notch sinyalleri önemli kontrol mekanizması oluşturur. Asiner sistem gelişiminde ise Wnt/B-katenin sinyal yolağı anahtar role

sahiptir. Ancak pankreatik duktus sisteminin gelişimi ile ilgili bilgiler çok sınırlıdır (12).

2.2. Pankreas Anatomisi:

Pankreas retroperitoneal alanda duedonum ve dalak arasında transvers olarak uzanır. Erişkinde 14-20 cm uzunluğunda ve yaklaşık 100 gr ağırlığında olan pankreas majör tükrük bezlerininkine benzer lobülasyona sahip açık ten-sarı renkli bir organdır. Pankreas başlıca üç anatomik alana ayrılır; baş, gövde ve kuyruk (12).

Pankreas başı superior mezenterik ven ve portal venin sol sınırının sağında kalan alandır. Superior mezenterik venin sol sınırı ile aortanın sol sınırı arasında kalan kısım pankreas gövdesidir. Pankreas kuyruk ise geri kalan kısmın dalak hilusuna kadar olan bölümünden oluşur. Ön-arka eksende 1-2 cm çapa sahip pankreasın en ince kısmı olan pankreas boynu, pankreas baş ve gövdesini birleştirir. Pankreasın en kalın kısmı olan ve pankreas hacminin %60-70'ini oluşturan pankreas başı ise 3.5-5.5 cm çapa sahiptir. Unsinat proçes, mezenterik damarların arkasında yer alan, pankreas başının sol laterale doğru olan kanca şeklinde çıkıntısıdır (12).

Derinde retroperitonda lokalize olan pankreasın gövdesi 2.-3. lumbal vertebra düzeyinde vertebral kolonu çaprazlar. Karaciğerin sol lobu ve midenin arkasında yer alan pankreasın ön yüzeyini bursa omentalis kaplar. Pankreas gövde ve kuyruğun bir kısmında anterior yüzeyde pankreas periton ile kaplı iken, pankreas başının ön yüzeyinde periton bulunmaz. Pankreas başı ve duedonum 2. ve 3. kısımları arasında sadece pankreatikoduedonal yarık adı verilen ince bir bağ dokusu alanı vardır (12).

Ana pankreatik kanal olan Wirsung's kanalı pankreas kuyruk-gövde ve başından sırası ile geçerek majör duedanal papilladan duedonuma açılır (13). Ana pankreatik kanalın çapı ortalama 3 mm'dir ve pankreas başında en geniş kalınlığına ulaşır. Çapı ortalama 7 mm olan ana safra kanalı, pankreas boyun kısmından pankreasa girer ve genellikle ampulla vateriden dueonuma açılır. Çapının daha büyük olması, kalın duvarı ve pankreas başının arka kısmında yer alması ile, daha küçük

çaplı, ince duvarlı ve daha santral lokalizasyonlu ana pankreatik duktustan kolaylıkla ayrılır. Proksimal ucu Wirsung's duktusu ile birleşen Santorini duktusunun (aksesuar pankreatik duktus) erişkinlerde distal ucu genellikle kaybolmuştur. Santorini duktusunun distal ucu kapanmamış ise, majör duedonal papillanın 2 cm yukarısında minör duedonal papilladan duedonuma açılır (13,14).

2.3. Pankreas Histolojisi:

Pankreas damar ve sinirler içeren ince bir stroma ile birbirlerinden ayrılan, çapları 1-10 mm arasında değişen lobüllerden oluşan, kapsülsüz bir organdır.

Pankreatik asiner hücreler: Pankreasın %85'i asiner hücrelerden oluşur. Asiner hücreler santralinde küçük bir lümen bulunan asini oluşturacak şekilde dizelenirler. Primadal şekilli asiner hücrelerin nükleusu yuvarlak şekilli olup, bazalde lokalizedir ve santral belirgin olmayan nükleole sahiptir. Asiner hücrenin bazal kısmı zengin düz endoplazmik retikulum içeriği nedeniyle bazofilik görünümdedir. Apikal kısım ise zimojen birikimi nedeniyle eozinofilik-granüler görünümde ve periodik-asit-Schiff (PAS) pozitiftir. Bu hücreler sindirim enzimlerini sentez ve sekrete ederler. Pankreatik enzimler olan lipaz, amilaz, tripsin, kimotripsin ve elastaz antikorları ile pozitif boyanma gösterir. Epitelyal belirleyicilerin ise bir kısmı ile (CAM5.2/sitokeratin 8 ve 18 ile pozitif, sitokeratin 7, 19, 20;AE1/AE3 ile negatif) pozitif boyanma sergilerler (12).

Pankreatik duktus sistemi: Pankreas duktuslarının drenaj fonksiyonu yanı sıra sekresyon fonksiyonuda vardır. Su, klorid ve bikarbonat sekrete ederek pankreatik suyun yaklaşık pH 6.5 civarında kalmasını sağlar (12).

Sentroasiner hücreler bu sistemin en ucunda, asini lümenlerinin hemen yanında yer alan, küçük berrak sitoplazmalı hücrelerdir. Bu komponentten hemen sonra yer alan intercalated duktuslar alçak küboidal epitelyum ile döşelidir. İntralobüler duktuslar değişken çapa sahiptir. Küçük çaplı olanlar "intercalated"

duktuslardan hafifçe büyüktür. Büyük çaplı olanlar ayrıca ince bir fibröz doku ile çevrelenir. Elastin lifleride içeren bir fibröz doku kılıfı, duktuslar lobülleri terk ederken onları sarmaya başlar. İntra-inter asiner duktuslar ve ana pankreatik duktus epiteli sitoplazması içinde müsin var iken, sentroasiner hücreler ve intecalated duktus epiteli müsin içermez. Duktus epiteli sitokeratin (7, 8, 18, 19) ve EMA ile pozitif boyanır. Monoklonal CEA bu hücrelerde genellikle negatiftir. Sentroasiner hücreler ve interkale hücreler MUC6 ile pozitif boyanırken, küçük intralobüler ve intercalated duktuslar MUC1 pozitif boyanma sergiler. MUC5AC ve MUC2 ile boyanma normalde yoktur. Tükrük bezinin aksine pankreatik duktusların bazal veya myoepitelyal hücresi yoktur (12).

Histolojik olarak ana pankreatik duktus kas tabakasının yokluğu ile ana safra kanalından ayırt edilebilir. İkisi arasında bir başka histolojik ayırt edici özellik ise, ana safra kanalına açılan daha küçük çaplı duktusların yokluğudur (12).

Endokrin komponent; langerhans adacıkları ve ekstrainsüler endokrin hücreler: Pankreasın endokrin komponenti tüm gland yapısının %2'sini oluşturur. Endokrin adacıklar pankreas kuyrukta daha yoğun olmak üzere pankreas lobülleri arasında dağınık olarak bulunur. Büyük çoğunluğu (%90) kapsül içermeyen, iyi sınırlı, çapları 150-300 μm olan kompakt adalar şeklinde gözlenir. Orta boyutta, oval şekilli adacık hücreleri gevşek kompleks anastomozlaşan ilmikler oluşturur. Kaba kromatinli, benek benzeri nükleollü, oval şekilli nükleusa sahip hücrelerin orta büyüklükte, soluk eosinofilikten amfofiliğe değişen sitoplazmları vardır. Pankreatik endokrin adacıklar kapiller damar ağından zengindir (12).

Dört ayrı ana endokrin hücre tipi vardır; glukagon üreten α hücreleri, insülin üreten β hücreleri, somatostatin üreten δ hücreleri ve pankreatik polipeptit sekrete eden PP hücreleri. Kompakt adacık hücrelerinin %60-80'ini β hücreleri, %15-20'sini α hücreleri, %5-10'unu δ hücreleri, %2'den azını PP hücreleri oluşturur. α hücreleri ve δ hücreleri adacığın daha çok periferinde lokalize iken, β hücreleri genellikle santralde lokalizedir. Son yıllarda klinik önemleri henüz bilinmeyen, ghrelin sekrete eden € hücrelerinin varlığı saptanmıştır (12).

Ventral pankreatik tomurcuktan gelişen endokrin adacıklar, çevre asinilerden iyi sınırla ayrılamayan düzensiz şekilli adacıklardır ve diffüz adacıklar olarak adlandırılır. Bu adacıklar trabeküler bir düzenlenim göstermekte ve daha büyük boyuttadır. Diffüz adacıklar PP hücrelerinden daha zengindir (%70-80) (12).

Adacık hücreler nöroendokrin belirteçler (sinaptofizin, kromogranin, CD56), PDX1, progesteron reseptör ve CD99 pozitiftir. Sitokeratin ekspresyonu genellikle gözlenmez. Ancak nadir zayıf CAM5.2 immün boyanması saptanabilir (12).

Erişkin pankreasta %10'dan endokrin hücre adacıklar dışında da yer alabilir. Bu hücreler asiner parankim boyunca dağılır ve pankreatik duktuslar içinde veya onlara yakın olacak şekilde yerleşim gösterir. Adacık dışı endokrin hücrelerin çoğunu PP hücreleri oluşturur. Adacık dışında yerleşen endokrin hücrelerin bazıları seratonin de üretebilir (12).

Pankreasın endokrin komponentinin histolojisi erken postnatal dönemde hızla değişir. Fetal ve neonatal dönemde asiner dokunun tam gelişmemiş olması nedeniyle endokrin komponenet daha belirgindir (neonatal pankreatik hacmin %10'u). Hayatın ilk bir yılında, ekzokrin komponente göre endokrin komponenette hızlı bir azalma meydana gelir. β hücrelerin miktarı artarken (%50'den %70'e yükselir), δ hücrelerinin oranı azalır (%30'dan %10'a düşer) (12).

İnterstisyum: Pankreatik lobüllerin içi belirgin ince kapiller ağa sahiptir. İnterlobüler septa, interlobüler pankreatik duktusları, periferal sinirleri, lenfatik kanalları ve kan damarlarını destekleyen ince, gevşek fibröz bir stromaya sahiptir. Otonom ganglionlar intelobüler septa ve asiniler arasında bulunur. Küçük periferal sinirler asini lobüllerinin periferinde mevcuttur (12).

2.4. Pankreas Tümörleri:

PDAK tüm pankreas tümörlerinin %85-90'ını oluşturur. PDAK'unun %60-70'i pankreas başında, kalanı ise gövde (%5-15) veya kuyruktan (%10-15) gelişir.

Tümörlerin çoğu soliterdir. Ancak nadiren multifokal olarak da görülebilir (1,15). Çok nadir olarak heterotopik pankreatik dokuda kanser gelişimi de söz konusu olabilir (1,16,17).

2.4.1. Epidemiyoloji ve insidans:

PDAK kadınlarda erkeklerden %50 daha fazla görülür. Hastaların çoğu 60-80 yaş aralığındadır ve 40 yaşından önce nadirdir (1). Dünyada kanser ölümleri içerisinde 4. sırada yer alır (18). Her yıl 100 000 kişide 8 yeni pankreas kanseri olgusu saptanır (19). Pankreas kanserlerinin çoğunu duktal adenokarsinomalar oluşturur. Ülkeler arasında pankreas kanseri sıklığında değişiklikler mevcuttur. Bu değişiklikler klinik tanının duyarlılık ve özgüllük farklılığı yanı sıra kanser veri tabanının yeterliliği arasındaki ülkeler arası farklardan da kaynaklanmaktadır (1,18). Dünyada pankreas kanseri insidansı en yüksek topluluk Afro-Amerikanlar (100 000'de 12) ve Okyanusya yerlileridir (100 000'de 10) . En düşük oran ise Hindistan, kuzey-orta Afrika ve güney-doğu Asya'da yaşayanlarda gözlenir (1). Alıcı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre Türkiye'de pankreas kanseri erkeklerde 6. kadınlarda ise 10. sırada, tüm toplum göz önünde bulundurulduğunda ise 7. sırada yer almaktadır (20). PDAK Türkiye'deki kanser vakalarının %3.3'ünü oluşturmaktadır (20).

2.4.2.Etiyoloji

Günümüzde pankreas kanseri risk faktörleri ile ilgili bilgi sınırlıdır. Herediter risk faktörleri duktal adenokarsinomaların %10 kadarında rol oynar. Ekstrensek risk faktörlerinin ise çok az bir kısmı bilinmektedir. Sigara bilinen en güçlü risk faktörüdür. Sigara içende, hiç sigara içmeyene göre risk 2-3 kat artar (12,18). Sigaranın bırakılması ile risk tekrar azalmaktadır (21). Sigara içimine atfedilebilecek

pankreatik adenokarsinoma oranı erkeklerde %20-30, kadınlarda %10'dur (1). Ağır alkol kullanımı da bir diğer risk faktörüdür. Diyet ilişkili risk faktörleri pankreas kanseri gelişiminde çalışılan bir başka konudur. Özellikle yüksek ısıya maruz kalmış-işlenmiş et, N-nitrözamin veya nitratların alımı, doymuş yağların fazla tüketimi, sebze ve meyvelerin az yenmesi, diette folatın az miktarda tüketilmesi artmış risk ile ilişkilidir (1,12,22). Bazı mesleki maruziyetler PDAK gelişme riskini artırır. Araba sanayii, hava gazı endüstirisi ve metal işçiliği bunlardan bazılarıdır (12). Fiziksel aktivitenin azlığı da artmış risk faktörü olarak tanımlanmaktadır (1).

Kronik pankreatit, PDAK risk faktörleri arasında yer alır (12). Kronik pankreatit öyküsü varlığı, pankreas kanseri riskini 10 kattan fazla artırmaktadır (23). Diabetes mellitus pankreas kanseri riskini 2 kat artırır (18,1). Gastrektomili hastalarda da pankreatik adenokarsinoma gelişme riski 3-5 kat artar (1).

2.4.3. Klinik Prezentasyon, Tanı ve Tedavi

Klinik olarak sırt ağrısı, kilo kaybı, sarılık ve kaşıntı gibi şikayetler sıklıkla görülür (24). Hastaların %70'inde diabetes mellitus vardır ve yeni ortaya çıkan diabet bazen hastalığın ilk belirtisi olabilir (25). İlerleyen dönemde karaciğer metastazı, komşu organ invazyonu veya peritoneal kavitenin tutulumuna bağlı şikayetler ortaya çıkar. Nadiren akut pankreatit, gezici tromboflebit, hipoglisemi veya hiperkalsemi ile prezente olabilir (26,27,28).

BT ile olguların %92'si hipodens kitle olarak gözlenir (29,30,31). Pankreatik duktal adenokarsinomanın BT'de erken bulgusu olarak pankreatik duktusun ani kesintisi ve dilatasyonu gözlenir (32). Çift duktus işareti (biliyer ve pankreatik duktusun her ikisinin de dilatasyonu), pankreas başında gelişen bir kansere işaret eder. Endoskopik ultrasonografi ile (EUS) duktal adenokarsinomaların çoğu zayıf ekojen, nonhomojen kitle olarak gözlenir. Tümör çapının büyümesi ile heterojen bir görünüm kazanmaya (kistik alanlar ve ekojenitesi belirgin alanlar) başlar. Pankreatik duktus ve/veya ana safra duktusu genişlemesi bulgusu sıklıkla 3 cm'den büyük çapa

sahip tümörlerde gözlenir. Endoskopik retrograd kolanjiyografi (ERCP) ile pankreatik duktusta silinme, daralma veya obstrüksiyon izlenir. Magnetik rezonans görüntüleme (MRG) ve serum tümör belirteçleri (CA19-9 ve carcinoembryonic antigen (CEA)), tümörün saptanmasında önemli ipucu verebilir. Ancak yanlış pozitif ve yanlış negatif oranının fazla olması nedeniyle, genel popülasyonun taranmasında serum tümör belirteçlerinin kullanımı uygun değildir (1). Serum tümör belirteçleri tedavi yanıtının gözlenmesi ve tümör rekürrensinin saptanması amacı ile kullanılabilir (12). Pozitron emisyon tomografi (PET) ile tarama tanısal değerlidir ancak konvansiyonel görüntüleme yöntemlerine katkısı belirgin değildir (33).

BT, USG, MRG, ERCP, EUS, PET gibi görüntüleme yöntemlerin tek başına duyarlılık ve özgüllüğü %55-%95'tir. Kombine kullanımlarında bu oran %95'in üzerine çıkar. Ancak doku tanısı hala en değerli tanı yöntemidir (31).

2.4.4. Pankreas Kanserlerinin Histopatolojik Sınıflandırması

Dünya sağlık örgütünün pankreas epitelyal tümörleri için sınıflaması Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Dünya Sağlık Örgütü Pankreas Tümörleri Sınıflaması

BENİGN EPİTELYAL TÜMÖRLER
Asinik hücreli kistadenoma
Seröz kistadenoma
PREMALİGN LEZYONLAR
Pankreatik intraepitelyal neoplazi, grade-3 (PanIN-3)
Düşük ve orta düzeyde displazi içeren intraduktal papiller müsinöz neoplazi
Yüksek dereceli displazi içeren intraduktal papiller müsinöz neoplazi
İntraduktal tübülopapiller neoplazı
Düşük ve orta düzeyde displazi içeren müsinöz kistik neoplazi
Yüksek dereceli displazi içeren müsinöz kistik neoplazi
MALİGN EPİTELYAL TÜMÖRLER
Duktal adenokarsinoma
Adenoskuamöz karsinoma
Kolloid karsinoma (müsinöz nonkistik karsinoma)
Hepatoid karsinoma
Medüller karsinoma
Taşlı yüzük hücreli karsinoma
İndiferansiye karsinoma
Osteoklast benzeri dev hücre içeren indiferansiye karsinoma
Asinik hücreli karsinoma
Asinik hücreli kistadenokarsinoma
İnvaziv karsinoma alanı içeren intraduktal papiller müsinöz karsinoma
Mikst asiner-duktal karsinoma
Mikst asiner-nöroendokrin karsinoma
Mikst asiner-nöroendokrin-duktal karsinoma
İnvaziv karsinoma alanı içeren müsinöz kistik neoplazi
Pankreatoblastoma
Seröz kistadenokarsinoma
Solid pseudopapiller neoplasm
Nöroendokrin neoplaziler
Pankreatik nöroendokrin mikroadenoma
Nöroendokrin tümör (NET)
Fonksiyone olmayan pankreatik NET, G1, G2
NET G1
NET G2
Nöroendokrin karsinoma (NEK)
Büyük hücreli NEK
Küçük hücreli NEK
Enterokromafin hücre, seratonin üreten NET (karsinoid)
Gastrinoma
Glugakonama
İnsülinoma
Somatostainoma
VIPoma

2.4.5. Pankreatik duktal adenokarsinomada öncü lezyonlar

PDAK'nın en önemli öncü lezyonu PanIN'lerdir. Müsinöz kistik neoplazi ve intraduktal papiller müsinöz neoplazi zeminde de daha düşük olasıkla PDAK gelişebilir (1).

PanIN'ler pankreatik duktusa sınırlı, genellikle 5 mm'den küçük, papiller veya düz, invaziv olmayan epitelyal neoplazilerdir. Değişken oranlarda müsin içeren, kolumnar veya küboidal hücrelerden oluşan PanIN'ler sitolojik ve arkitektürel atipilerine göre PanIN-1, PanIN-2 ve PanIN-3 olarak sınıflanır. PanIN-1'de lezyonun düz (PanIN-1A) veya papiller (PanIN-1B) olarak 2 gruba ayrılır (1). Duktal adenokarsinomada olduğu gibi PanIN'lerin sıklığı yaş ile artar ve pankreas başında, pankreas kuyruğundan daha sık gözlenir (1). PanIN'ler pankreatik duktal adenokarsinoma ile benzer genetik anomaliler içerir.

PanIN-1A: Bol miktarda supranükleer müsin içeren, nükleusu bazalde lokalize uzun kolumnar hücrelerden oluşan düz bir epitelyal lezyondur. Lezyonel hücrelerde nükleus küçük, yuvarlak-oval şekillidir. Nükleuslar oval olduğunda bazal membrana dik yerleşim gösterir.

PanIN-1B: Bu epitelyal lezyonun sitolojik özellikleri PanIN-1A ile benzer nitelikte olup, papiller, mikropapiller veya pseudostratifiye arkitektüre sahiptir.

PanIN-2: Bu epitelyal lezyonun çoğu papillerdir, ancak düz lezyonlarda söz konusu olabilir. Polarite kaybı, nükleer yığılma, büyümüş nükleus, pseudostratifikasyon, hiperkromaziyi içeren nükleer anomalilerden bazıları, PanIN-3'tekinden daha hafif şiddette olacak şekilde bu epitelyal lezyonda gözlenir. Mitoz nadiren görülebilir ancak gözlendiğinde lüminal lokalizasyonda bulunmaz ve atipik mitoz görünümünde değildir. Lüminal nekroz içeren gerçek kribriform yapılar ve belirgin sitolojik anomali genellikle gözlenmez.

PanIN-3: Bu lezyonlar genellikle papiller veya mikropapillerdir, nadiren düz olabilir. Gerçek kribriform yapılar, küçük epitelyal hücre kümelerinin lümen içine

tomurcuklanması ve lüminal nekroz PanIN-3 tanısını akla getirmelidir. PanIN-3 lezyonlarda nükleer polarite kaybı, distrofik goblet hücreleri (nükleusu bazal membrana doğru oriante olmuş goblet hücresi), anormal mitotik figürler, nükleer irregülerite gibi PDAK'da izlenen görüntüye rağmen bazal membran invazyonu yoktur (1).

2.4.6. Pankreatik duktal adenokarsinomada genetik yatkınlık

Pankreatik kanserlerin %10'unda aile hikayesi mevcuttur (34,35). Ailede birinci derece akrabalardan birinde, ikisinde ve üçünde pankreas kanseri varlığı, pankreatik kanser geliştirme riskini sırasıyla 2.3 kat, 6 kat ve 32 kat artırır (36,37). Familyal atipik multiple mole melanoma (FAMMM) kromozom 9p'de lokalize tümör supresör bir gen olan CDKN2A'nın mutasyonu ile ilişkilidir. Etkilenen bireylerde melanoma ve pankreatik karsinoma gelişme riski artmıştır (38,39). Hastaların pankreatik kanser geliştirme riski, normal popülasyona göre 20-34 kat artmıştır. Özellikle CDKN2A'da 19 baz çiftlik özel bir mutasyonu taşıyan bireylerde hayat boyu pankreatik kanser geliştirme riski %15'tir (1).

BRCA2 meme karsinomunda varlığı iyi bilinen, kromozom 13q'da lokalize, pankreatik karsinomalarda homozigot delesyonu söz konusu olabilen bir gendir (40). BRCA2 gen mutasyonu taşıyan hastalarda 3-10 kat artmış pankreatik karsinoma gelişim riski mevcuttur (41). BRCA2 geni *Fankoni anemisi complementation geni* (FANC) ile de ilişkilidir. FANC gen mutasyonunun varlığı pankreatik kanserli genç hastalarda bildirilmiştir (42,43). BRCA2-bağlayıcı proteini kodlayan FANCN (PALB2) geni, pankreatik kanser gelişimi için genetik yatkınlık oluşturur. (44) BRCA1 gen mutasyonu da pankreatik kanser gelişimi artmış riski ile ilişkilidir (41).

Peutz-Jeghers sendromlu hastalarda 100 kattan fazla pankreatik kanser gelişim riski mevcuttur (45).

Herediter pankreatitli hastalarda katyonik tripsinojen geni PRSS1 veya serin peptidaz inhibitör geni SPINK1'de mutasyonu vardır. Bu hastalar genç yaşlardan itibaren rekürren pankreatit atakları geçirir ve 70'li yaşlarda %25-40'ında pankreatik kanser gelişir. (23)

Lynch sendromu kolon, endometriyum, mide ve over kanseri gelişimi artmış riski ile ilişkili bir sendromdur (46). Bu sendromda kromozom 2p'de lokalize MSH2 ve 3p'de lokalize MLH1 'i içeren DNA mismatch tamir genlerinden birini içeren mutasyon mevcuttur. (46,47) lynch sendromlu bireylerde pankreatik kanser gelişim riski yüksektir. Mikrosatellit instabilite pankreas tümörlerinin %4'ünde gözlenir ve karakteristik olarak medüller histolojik görünüm ile ilişkilidir (1).

2.4.7. Pankreas Kanseri Gelişiminde Etkili Olan Moleküler Belirteçler

Pankreas kanserinde raporlanan genetik değişiklikler genetik materyal kaybı, kazanımı ve yaygın kromozom instabilitesini içerir (48,49). Kromozom 18q (%90), 17p (%90), 1p (%60), 9p (%85) kaybı sıklıkla gözlenir. CDKN2A, TP53 ve SMAD4 gibi tümör süpresör genlerin mutasyonu pankreas duktal adenokarsinoma gelişiminde önemli role sahiptir (50,51). CDKN2A'nın homozigot delesyonu ile inaktivasyonu %40 pankreas karsinomu olgusunda gözlenir. Bir allelde kayıp, diğer allelde intragenik mutasyon ile ikiye katlanma kalan %40 pankreas kanseri olgusunda saptanır. %15'inde ise promotör metilasyonu vardır (52,53). TP53'te bir allelde kayıp ile inaktivasyon, diğer allelde intragenik mutasyon ile çiftlenme %75 pankreas karsinomu olgusunda gözlenir (54). Pankreas duktal adenokarsinomunun %55'inde SMAD4 gen inaktivasyonu vardır. Bu mutasyon % 35 homozigot delesyon, % 20 bir allelde kayıp, diğer allelde intragenik mutasyon ile çiftlenme şeklinde gözlenir (55). SMAD4 protein kaybı kanser spesifik olup, pankreas biyopsilerinde histopatolojik tanıda kullanılabilmektedir (56). DNA tamirine katılan, tümör süpresör gen olan BRCA2 geni de pankreas karsinomunda %7 oranında inaktivedir (40). MKK4, STK11, transforme büyüme faktör β reseptör I ve II,

FANC yolağındaki genlerin inaktivasyonu (FANCC, FANCG, FANCN) pankreas karsinomalarında gözlenen diğer tümör süpresör gen değişiklikleridir (43,44,57,58,59).

Pankreas duktal adenokarsinomunda KRAS, ERBB2 gibi onkogen mutasyonları da gözlenebilir. Kromozom 12p'de lokalize KRAS geninin nokta mutasyonu ile inaktivasyonu %90'dan fazla pankreas karsinomunda gözlenir. Kromozom 17q'da lokalize ERBB2 overekspresyonu da %70 pankreas karsinomunda mevcuttur (50,61,62).

Pankreas duktal adenokarsinomalarının %4'ünde mikrosatellit instabilite saptanır. Bu karsinomalar medüller histolojik görünüm ile karakterizedir (1).

2.4.7.1. Öncü lezyonların gelişiminde moleküler patoloji:

PanIN lezyonlardan invaziv karsinoma gelişiminde genetik ve epigenetik bir progresyon vardır. Moleküler değişiklikler yüksek dereceli lezyonlarda en fazla görülür. (1). PanIN-1A, PanIN-1B ve PanIN-2/3lezyonlarda KRAS geni mutasyon oranı sırasıyla % 36, %44, %87'dir (62). KRAS mutasyonu ve telomeraz kısalması erken dönem değişiklikler olup, lezyonların başlangıcından sorumludurlar. CDKN2A mutasyonu intemediate derece (PanIN2) lezyonlarda gözlenirken, TP53, BRCA2 ve SMAD4 mutasyonu ile inaktivasyonu yüksek dereceli lezyonlarda (PanIN3 veya invaziv karsinoma) hastalığın progresyonundan sorumlu olacak şekilde mevcuttur (1).

2.4.8. Pankreatik duktal adenokarsinoma histopatolojisi

Duktal adenokarsinom pankreasta sınırları belirgin olmayan, oldukça infiltratif görünümlü, sert, soluk gri-beyaz renkli kitle şeklinde izlenir. Düzensiz sferik şekle sahip tümörün çapı genellikle 2-4 cm olmakla birlikte, 10 cm'ye kadar ulaşabilir. İntraduktal papiller müsinöz neoplazi, müsinöz kistik neoplazi nedeniyle takipte olan hastalarda yakalanan insidentalomalar gibi tümörler dışında, pankreas tümörlerinde 1 cm'den küçük çap çok nadir rastlanır. Erken dönemde sarılık gibi bulguların sık gözlenmemesi sebebiyle, pankreas gövde ve kuyrukta lokalize tümörler genellikle daha büyük boyutlara ulaşır. Tümör sınırlarının belirgin olmaması sebebiyle çıplak göz ile değerlendirirken, tümör çapı olduğundan az ölçülebilmektedir. Bu nedenle doğru tümör çapı ve doğru evrenin belirlenebilmesi için çapın mikroskopik olarak ölçülmesi gereklidir. (12)

Duktal adenokarsinomalar solid tümörlerdir. Tümör nekrozuna bağlı kistik değişiklikler gözlenebilir. Duktal adenokarsinomada belirgin kistik alanların bulunması ve özellikle bu alanların müsin ile dolu olması altta yatan intraduktal papiller müsinöz neoplazi veya müsinöz kistik neoplazi olasılığını akla getirmelidir. (12)

Duktal adenokarsinomada çevre pankreas parankiminde oluşan belirgin fibrozis, tümörün sınırlarını ve nereye kadar uzandığının saptanmasını güçleştirmektedir. Pankreasın fibrozisi parankim atrofisi ile sıklıkla birliktelik gösterir ve bu durum obstrüktif pankreatit olarak adlandırılır. Ana pankreatik duktusun ve ana safra duktusunun tümör obstrüksiyonu nedeniyle dilatasyonu sık bir makroskopik bulgudur. (12)

Duktal adenokarsinoma duedonum duvarı, ampulla, ana safra duktusu, peripankreatik yumuşak doku, komşu kalın bağırsak, superior mezenterik, portal ve splenik venler gibi komşu yapıları sıklıkla infiltre eder (12). Peripankreatik lenf nodları yanı sıra superior mezenterik arter, ana hepatik arter ve hepatoduedenal ligament çevresi lenf nodlarının tutulumu da pankreatik duktal adenokarsinomada

tipik olarak gözlenir (1). Daha ileri lenfatik metastazda ise çöliak trunkus ve paraaortik lenf nodları tutulur (1). Pankreas kuyruk ve gövdede gelişen duktal adenokarsinomalar ise dalak, mide kolon, ince bağırsak, adrenal gland, gerato fasiyası, perirenal yağ doku, böbrek hilusu veya böbrek parankimini infiltre edebilir. (12). Bu bölgeden köken alan tümörler ise gövde ve kuyruk çevresi lenf nodları yanı sıra splenik hiler lenf nodlarına, plevra ve akciğer lenfatiklerine metastaz gösterebilir (1). Duktal adenokarsinomalar hematojen olarak ise azalan oranda karaciğer, akciğer, kemikler ve adrenale metastaz yapabilir (1).

Mikroskopik olarak PDAK belirgin desmoplastik bir stroma içinde, pankreas parankimi içine infiltratif gland veya duktus benzeri yapılar oluşturan epitelyal bir tümördür (1,12). Tümörde alcian blue ve PAS pozitif müsin üretimi mevcuttur (1). Tümöral glandların, pankreasın lobüler arşitektüründen bağımsız rastgele bir düzenlenim göstermesi, pankreas kanserini reaktif glandüler yapılardan ayırt etmede önemli bir bulgudur (12).

İyi diferansiye PDAK rastgele düzenlenim gösteren duktus benzeri yapılar ve orta büyüklükte neoplastik glandlar içerir. Duktus benzeri yapıların kenarları açılı ve irregülerdir. Perinöral invasyon, vasküler invazyon ve rüptüre veya inkomplet duktuslar (bir alanda epitelin yokluğu ve yerine sellüler stromal dokunun varlığı) invazyonun önemli göstergeleridir.

Orta derece diferansiye PDAK büyüme paterni ve davranış açısından iyi diferansiye adenokarsinoma benzer niteliktedir. İyi diferansiye duktal adenokarsinomadan farklı olarak orta derece diferansiye tümörlerde duktus benzeri yapılar ve inkomplet veya kribriform patern gösterebilen değişik boyut ve şekilde tübüloglandüler yapılar mevcuttur. Bu tümörlerde ayrıca mitoz sayısı daha fazla ve müsin üretimi daha azdır (Tablo 2.1).

Az differansiye PDAK küçük irrregüler glandlar, solid tabakalar ve yuvalanmalar ve infiltratif tek hücrelerin karışımından oluşur. Tümöral hücrelerde nükleer pleomorfizm belirgindir. Tümörde desmoplastik stromal reaksiyon minimal olabilir. Tümör nekroz ve kanama odakları içerebilir. İğsi hücreli değişiklikler,

skuamöz metaplazi görülebilir. Tümörde müsin üretimi çok az veya hiç yoktur ve mitotik aktivite belirgindir. (1)

PDAK derecelemesi sitolojik ve histolojik görünümler yanısıra mitoz sayısıda göz önünde bulundurularak yapılır. Tümör içerisinde heterojen bir diferansiyasyon var ise, patoloji raporunda en yüksek derece verilmelidir. (1) (Tablo 2.2)

Tablo 2.2. DSÖ'ye Göre PDAK Derecelemesi

Tümör derecesi	**Glandüler diferensiyasyon**	**Müsin üretimi**	**Mitoz (10BBA)**	**Nükleer görünüm**
Grade 1	İyi diferansiye	Yoğun	5	Hafif polimorfizm
Grade 2	İyi diferansiye duktus benzeri yapılar ve tübüler glandlar	Düzensiz	6-10	Orta düzeyde pleomorfizm
Grade 3	Az diferansiyeglandlar, abortif mukoepidermoid ve pleomorfik yapılar	Abortif	>10	Belirgin pleomorfizm ve artmış boyut

PDAK patolojik evrelemesi TNM sınıflamasına dayanır. Çevre doku invazyonun olup olmaması ve tümörün çapı evre için en önemli belirleyicidir. (Tablo 2.3)

Tablo 2.3. PDAK TNM Evrelemesi

T: Primer tümör			
TX	Primer tümör değerlendirilemedi		
TO	Primer tümöre dair kanıt yok		
Tis	PanIN-3'ü içeren karsinoma in situ		
T1	Tümör pankreasa sınırlı, en büyük tümör çapı 2 cm		
T2	Tümör pankreasa sınırlı, tümör çapı 2 cm'den büyük		
T3	Tümör pankreas dışına yayılmış		
T4	Çöliak pleksus veya superior mezenterik arterde tümör tutulumu		
N: bölgesel lenf nodları			
NX	Bölgesel lenf nodları değerlendirlemedi		
N1	Bölgesel lenf nodu metastazı yok		
N2	Bölgesel lenf nodu metastazı var		
M: Uzak metastaz			
MO	Uzak metastaz yok		
M1	Uzak metastaz var		
Evre gruplandırması			
EVRE	**T**	**N**	**M**
EVRE 0	Tis	NO	MO
EVRE 1A	T1	NO	MO
EVRE 1B	T2	NO	MO
EVRE 2A	T3	NO	MO
EVRE 2B	T1, T2, T3	N1	MO
EVRE 3	T4	Herhangi bir N	MO
EVRE 4	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

Normal pankreatik epitelde pozitif olan keratinler (keratin 7, 8, 18, 19), PDAK'da pozitiftir (1). PDAK'ların yarısından fazlası keratin 4 pozitif iken, keratin 20 sıklıkla negatiftir (63). PDAK genellikle MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC pozitif, MUC2 negatiftir (64,65). Glikoprotein tümör antijeni olan CEA, B72.3, CA125, ve CA19-9 ile de PDAK pozitif boyanma gözlenir (1). SMAD4/DPC4 proteini ile duktal adenokarsinomaların %55'inde kayıp mevcut iken, p53 tümörlerin çoğunda pozitiftir (15).

Epidermal büyüme faktörü ve reseptörü, c-erbB-2, transforming büyüme faktörü α ve β, platellet derive büyüme faktörü A ve B, vasküler endotelyal büyüme faktörü ve reseptörü, metallotiyonin ve CD44v6 gibi büyüme faktörleri ve adezyon molekülleri de PDAK'da overekspresе olabilir (1, 66). Mezotelin, prostat kök hücre antijeni, claudin 4 ve 18, anneksin A8, ADAM9, KOC, S100A4, S100A6 ve S100P son zamanlarda pankreas duktal adenokarsinomunda çalışılan diğer antikorlardır (1).

2.4.9. Çalışmada Kullanılan İmmünohistokimyasal Belirteçler

2.4.9.1. IMP3

İnsülin benzeri büyüme faktörü II mRNA bağlama proteini (IMP3) ailesinden onkofetal bir proteindir (67). IMP3 embriyogenezin erken dönemlerinde hücre büyümesi, hücre göçü, RNA gidiş-gelişi ve stabilizasyonunda önemli role sahiptir (68). IMP3 kromozom 7p11.2'de lokalize olup, KOC (kanserde fazla eksprese olan protein, KH alanı) proteini ile aynı proetindir (69). Erken embriyogenezde epitel, kas ve plasentada eksprese olurken, erişkinde düşük seviyelerdedir veya hiç yoktur (68,71). Mide, kolon, pankreas, akciğer, böbrek, karaciğer kanseri gibi malign tümörlerde belirgin IMP3 ekspresyonu mevcuttur (70-74). Endometrial seröz karsinoma ve prekürsörler lezyonlarında IMP3 immün pozitivitesi vardır (75). IMP3 tümör hücresinin büyümesi, invasyonu ve metastazında önemli bir role sahiptir

(74,76,77). Renal hücreli karsinomalar, ürotelyal karsinomalar, hepatosellüler karsinomalar ve safra duktus karsinomalarında IMP3 bağımsız bir prognostik faktördür (73,74,78,79,80).

2.4.9.2. pVHL

pVHL kromozom 3p25-p26'da lokalize bir tümör baskılayıcı gendir (81). Herediter ve sporodik renal hücreli kanserlerin çoğunda, mutasyon, delesyon veya hipermetilasyon ile pVHL kaybı vardır (82,83). Renal tübüller yanı sıra ekzokrin pankreas ve intrahepatik safra duktuslarında pVHL diffüz ve güçlü pozitiftir. Normal dokulardan meme, akciğer, kolon, ince bağırsak, uterus, over, prostat, lenf nodu ve tiroid dokusunda pVHL ile boyanma gözlenmez. Literatürde pVHL ekspresyon durumu birçok tümör tipinde araştırılmıştır. Primer böbrek tümörlerinin tamamına yakınında, over ve uterus berrak hücreli karsinomalarının çoğunda, pVHL'nin pozitif olduğu saptanmıştır (83). pVHL pankreatik adenokarsinoma, hemanjioblastoma, feokromositoma, akciğer, meme, tiroid, mesane, prostat kanserlerinde ise negatiftir (83).

2.4.9.3. S100P

S100 kalsiyum bağlayıcı protein ailesinden 95 aminoasitlik bir proteindir. (84). Hücre proliferasyon, diferansiyasyon ve metabolizmasını kontrol eden sinyal iletim yolaklarında görev alır (85). İlk defa plasentadan elde edilmiştir. Pankreatik duktal adenokarsinomada S100P yaygın ekspresyonu bir çok çalışmada saptanmıştır (86-90). Pankreatik intraepitelyal lezyondan invaziv adenokarsinoma ilerlemede, S100P'nin pozitiflik oranı artmaktadır (91). Pankreas duktal adenokarsinomunda, S100P geninin hipometilasyonunun, bu proteinin yaygın pozitifliğinden sorumlu olduğu ileri sürülmektedir (92). Arumugam ve arkadaşlarının yaptığı invitro çalışmada, S100P'nin pankreas kanser hücrelerinde proliferasyon, sağ kalım,

hareketliliği artırdığı gözlenmiştir (93). S100P pankreas dışı kanserlerde de çalışılmıştır. Meme, akciğer, kolon, prostat kanseri bunlardan bazılarıdır (94-97). Ancak S100P mesane, mide, safra kesesi normal epitelinde de pozitiftir (90).

Pankreas adenokarsinomunda nükleer veya nükleer + sitoplazmik boyanma pozitif kabul edilir. Normal veya reaktif duktal epitel hücresinde S100P sitoplazmik boyanma gösterebilir. EUS eşliğinde yapılan biyopsilerde, kontamine mide epitelinde de S100P ile sitoplazmik ve mebranöz boyanma gözlenir. Kontamine intestinal epitelde ise boyanma yoktur. Ancak benign hücrelerde nükleer veya nükleer ve sitoplazmik boyanma izlenmez (98). Bu nedenle S100P değerlendiriken nükleer veya nükleer ve sitoplazmik olmayan boyanmalar malignite lehine anlamlı kabul edilmez.

2.4.9.4. Maspin

Maspin (mammary serine protease inhibitor), proteaz inhibitörleri olan serpin ailesinin bir üyesi, Serpin5 olarak da bilinen bir tümör supresör gendir. Kromozom 18q21.3'te lokalize olan bu protein, anjiyogenez, tümör oluşumu ve metastazı inhibe eder (99). Maspinin hücre içi/dışı yerleşimine göre, hücrede oluşturduğu etki değişir. Ekstrasellüler maspin hücre adezyonunu artırıp, invazyonu azaltırken, sitoplazmik maspin hücresel stres durumunda apopitozu uyarır. Nükleer maspin ise tümör büyümesi, metastaz ve anjiyogenezi inhibe eder (99).

Maspin meme, prostat, plasenta, ince bağırsak, uterus, böbrek, timus, testis, deri ve kornea gibi normal epitelyal dokularda bulunmaktadır (100,101). Maspin ekspresyonu tiroid, gastrik, kolerektal kanserler gibi bir çok kanser tipinde görülebilir (102). Maspin ekspresyonu akciğer adenokarsinomu, oral skuamöz hücreli karsinomunda iyi prognoz ile ilişkili iken, mesane kanserlerinde kötü prognostik bir belirteç olduğu saptanmıştır (103).

2.4.10. Pankreas Sitolojisi

Pankreas tümörleri sitolojisi BT veya USG eşliğinde ince iğne aspirasyon biyopsisi (İİAB) ile, EUS eşliğinde İİAB ile veya pankreatikobilier duktus fırçalaması ile elde edilen örneklerden oluşur (2).

Pankreas İİAB'si, kronik pankreatit ve pankreas duktal adenokarsinomu ayırımında klinik, cerrahi ve histolojik (intraoperatif frozen inceleme) incelemeden daha değerli olabilmektedir. Pankreas İİAB'si basit, güvenilir ve yeterli örneklemeye izin veren bir yöntemdir (2). Günümüzde pankreas İİAB'sinin duyarlılığı %80-90'lara, özgüllüğü de %100'lere ulaşmıştır (2).

Pankreas İİAB'sini değerlendirirken yanlış pozitif tanılar reaktif/dejeneratif değişikliklerin malign olarak değerlendirilmesine bağlı oluşabilmektedir. Yanlış negatif tanı koyma oranı %5-15 arasında değişmektedir. Lezyonun küçük, fibrotik, nekrotik, kistik natürde olması veya tümör diferansiyasyonun iyi olması, yaymaların kalitesinin kötü olması yanlış negatif tanıya neden olabilir. Lezyonun örneklenememiş olması da yanlış negatif tanının bir diğer sebebidir. Değerlendiren kişinin deneyiminin artması, İİAB sırasında birden fazla örneklemenin yapılması (104,105) ve biyopsi esnasında hasta başı değerlendirmenin yapılması tanı yeterliliğini artıracaktır (2, 105-107).

Pankreas İİAB'si sonrası akut pankreatit, kanama, infeksiyon, perforasyon gibi komplikasyonlar görülebilir. Ancak doku biyopsisine kıyasla bu komplikasyonlar çok nadir oluşur (2).

Güvenirliği ve tanısal özelliğinin belirgin olması nedeniyle pankreas İİAB standart pankreas biyopsi tekniği haline gelmiştir.

2.4.10.1. Normal Pankreas dokusunun sitolojisinde görülen hücreler:

2.4.10.1.1. Ekzokrin hücreler:

Asiner hücre: Asiner hücreler normal pankreasın %80'den fazlasını oluşturur. Yaymalarda genellikle koheziv kümeler nadir olarak da tek hücreler şeklinde gözlenir. İki boyutlu mikroasiner yapılar veya üç boyutlu üzüm salkımı şeklinde kümeler normal pankreatik asinin yaymalardaki genel görünümüdür. Asiner hücreler piramidal veya poligonal şekilli olup, hücre sınırları belirgin değildir. Hücrelerin nükleusu eksantrik yerleşimli olup, yuvarlak şekilli ve uniform görünümdedir. Kontürleri düzgün olan nükleusun boyutu yaklaşık bir eritrosit büyüklüğündedir. Nükleer kromatin granüler nitelikte ve nükleus içinde homojen dağılmıştır (2).

Asiner hücrenin geniş, PAP boyasında mavi-yeşil, Romanowsky boyalarında pembe renkli bir sitoplazması vardır. Belirgin sitoplazmik granülerite, asiner hücrenin en önemli özelliğidir. Sitoplazmik granülerite tripsin, elastaz, lipaz gibi zimojen granüller nedeniyle oluşur. Yaymalarda degranülasyon nedeniyle sitoplazma berrak veya vakuollü görünebilir (2).

Asiner hücrelerin glandüler yapı oluşturması, nükleusların üst üste binmesi ve belirgin nükleol içerebilmesi nedeniyle, asiner hücreler adenokarsinoma ile karıştırılabilir (2).

Duktal hücreler: Benign duktal hücreler endoservikal hücrelere benzer görünümde, nükleusların birbirinin üstüne binmediği, düzenli yerleşim gösterdiği balpeteği tabakalar oluşturur. Duktal hücre nükleusu yuvarlak, uniform görünümlü olup, hücrenin bazaline yerleşir. Nükleer membran düzgündür. Nükleer kromatin ince ve düzenli dağılım gösterir ve küçük belirgin olmayan nükleolü vardır. sitoplazması küçük vakuollü olup müsin içerebilir (2).

2.4.10.1.2. Endokrin Hücre:

Endokrin hücreler asiner hücrelere benzer görünümde olup, sitolojik ayırt edilmeleri oldukça zordur. Yuvarlak-oval şekilli, nöroendokrin kromatin (tuz-biber kromatin paterni) paterninde nükleusa sahip hücreler şeklinde gözlenir. Bu hücreler gevşek küçük kümeler oluşturur veya izole tek hücreler şeklinde izlenir (2).

2.4.10.2. Reaktif/dejeneratif Atipik Hücreler:

Reaktif/dejeneratif değişiklikler duktal hücrelerde belirgin bir sitolojik atipi oluşturabilir. Reaktif hücrelerde nükleus büyür, orta düzeyde atipi gösterir ve belirgin nükleol içerebilir. Ancak nükleer membran düzgündür. Binükleasyon görülebilir ancak multinükleasyon malignite yönünde kuşkulu bir bulgudur (2).

Reaktif değişiklikte duktal hücreler kohezyonlarını korur. Hücrelerde minimal bir üst üste binme gözlense de, hücreler birbirine mesafesini ve düzenli dağılımını korumuştur. Tek tek düşen reaktif hücreler gözlenmez yada çok nadirdir (2).

2.4.10.3.Duktal Adenokarsinoma Sitolojisi:

Pankreas duktal adenokarsinomunda İİAB yaymaları genellikle sellüler olmakla birlikte, yaygın stromal fibrozis nedeniyle hiposellüler de olabilir (2)

Yaymalarda genellikle asiner hücreler ve adacık hücreleri yoktur veya nadir görülür. Tümör grupları tabakalar, kümeler veya üç boyutlu solid adalar oluşturur.

Tümör grupları çok kalabalık veya gevşek bir görüntüye sahiptir. İzole diskoheziv hücreler de artmış sayıda izlenir (2).

İyi diferansiye adenokarsinomalarda sitolojik tanı koymak daha zordur. Hücreselliğin fazla olması, çok sayıda büyük duktal epitelyum hücre tabakaları yanı sıra çıplak nükleusların varlığı önemlidir. Tümöral hücreler ya çok kalabalık ve üst üste binmiş tabakalar olarak izlenir, yada gevşek "drunken honeycomb" denilen tabakalar oluşturur. Benign duktal epitel hücrelerinin oluşturduğu bal peteği tabakalarında hücreler uniform görünümde olup, nükleuslar birbirine eşit mesafede olacak şekilde dizilenirler. Tümöral "drunken honeycomb" tabakalarda ise hücreler arasında düzensiz mesafeler olacak şekilde rastgele bir dağılım vardır (2,3).

Pankreas duktal adenokarsinomunda nükleus 2-3 kattan fazla olacak şekilde büyür. Ancak benign epitel nükleusu da 2 kata kadar büyüyebilir. Duktal adenokarsinoma da gruplar içersindeki nükluslarda boyut farkı gözlenir. Çoğu zaman nükleus-sitoplazma oranı artmış izole hücreler, gruplar içerisinde dikkat çeker. Tümöral nükleusların kromatini kaba, nükleolü belirgindir. Nükleer membranda katlantılar ve yarıklanmayı içeren düzensizlikler benign duktal epitelde nadir iken (%10'dan az), pankreatik karsinomaların %90'dan fazlasında gözlenir (2). Reperatif değişiklikler içermeyen sitolojik örneklerde mitotik figürler malignite yönünde kuşku uyandırır. Atipik mitoz ise sıklıkla malignitede gözlenir (2).

Orta-az diferansiye adenokarsinomlarda tanı koymak daha kolaydır. Sitolojik malignite kriterleri aşikar olarak gözlenir. Bu tümörlerde hücresellik belirgin artmış olup, tümöral gruplar irregüler agregatlar ve izole atipik hücreler halinde izlenir. Hücrelerde nükleer büyüme ve pleomorfizm belirgindir. Tümöral hücreler belirgin nükleole ve artmış nükleus-sitoplazma oranına sahiptir (2).

İyi diferansiye duktal adenokarsinoma hücrelerinin sitoplazmasında sıklıkla müsin bulunur. Müsin içereği, müsin fagosite etmiş bir makrofajdan malign hücreyi ayırt etmeyi güçleştirecek düzeyde belirgin olabilir. Sitoplazmik vakuolizasyon benign hücrelerde beklenmez iken maliginite de sıklıkla gözlenir. Bazı pankreatik adenokarsinoma olgularında belirgin ekstrasellüler müsin gözlenebilir (2).

2.4.11. Pankreas Karsinomunda Prognoz ve Prediktif Faktörler:

Pankreas duktal adenokarsinomu ölümcül bir hastalıktır. Tedavi edilmeyen hastalarda ortalama yaşam süresi 3-5 ay iken, cerrahi rezeksiyon sonrası bu süre 10-20 aydır (108). Tanı sırasında karsinomaların ancak %10-20'si opere edilebilir niteliktedir (108). Pankreas gövde ve kuyrukta lokalize tümörler, pankreas başında lokalize olanlara göre daha ileri evrelerde saptanırlar (109).

Prognozun en önemli belirleyicisi tümörün rezeke edilebilirliğidir. Karsinomaların tümü göz önüne alındığında 5 yıllık sağ kalım %3-5 iken, küratif rezeksiyon ile tedavi edilen hastalarda bu oran %15-25'lere çıkar (110). Ancak küratif rezeksiyon sonrası %70-90 olguda karsinoma tekrar oluşur (111).

Pankreasa sınırlı ve çapı 3 cm'den az olan karsinomaların sağ kalımı, pankreas dışına uzanan ve çapı 3 cm'den büyük olanlara göre daha iyidir (112). Cerrahi olarak tedavi edilen ve rezidue tümörü kalmayan hastalar en iyi prognoza sahiptir (112). Bu da peripankreatik yağ doku uzanımı ve retroperitoneal cerrahi sınırın durumunun prognozu belirlemede önemini göstermektedir (113).

Lenf nodu metastazı varlığı prognozu belirgin olarak kötüleştirmektedir (114). Metastatik lenf nodu sayısının toplam lenf nodu sayısına oranı, postoperatif sağ kalımın en iyi belirteçlerinden biridir (114).

Tümörün derecesi, mitoz sayısı, hücresel atipinin derecesi, postoperatif sağkalım üzerine etkili olmakla birlikte, bu histolojik görünümlerin etkisi evre kadar belirgin değildir (115). Vasküler invazyon ve perinöral invazyon da prognostik belirleyicilerdir (116).

Moleküler prognostik belirteçlerin hiçbiri rutin klinik pratikte kullanılmamaktadır. SMAD4 ekspresyon kaybı kötü prognoz ile ilişkilidir (117). E-kaderin down-regülasyonu ve disaderin up-regülasyonu belirgin kötü prognoz ile ilişkili diğer belirteçlerdir (118).

3.GEREÇ YÖNTEM

3.1. Olgu Seçimi:

Ocak 2007-Haziran 2011 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Sitopatoloji arşivi taranarak Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyodiagnostik Ana Bilim Dalı'nda ultrasonografi altında ve sitopatolog eşliğinde aspirasyon biyopsisi yapılan ve hücre bloğu elde edilen, pankreatik duktal adenokarsinoma tanısı konulan 40 olgu çalışmaya dahil edildi. Olguların sitolojik yaymaları, hematoksilen eosin (H&E) boyalı hücre bloğu kesitleri ve var ise immünhistokimyasal inceleme bulguları tekrar gözden geçirildi. Olguların hücre bloklarının immünhistokimyasal inceleme için yeterli doku içerip içermedikleri değerlendirildi. Altı olgu hücre bloğunda yeterli doku içermemesi sebebiyle çalışma dışı bırakıldı. İmmünhistokimyasal boyama sonrası kesitlerde doku tükenen bir olgu da daha sonra çalışmadan çıkartıldı.

Kontrol grubu olarak kronik pankreatit, pankreatik duktal adenokarsinoma veya müsinöz kistik neoplazi nedeniyle aynı tarihler arasında opere edilmiş, pankreas rezeksiyon materyali bulunan 50 olgunun tüm preperatları gözden geçirildi. Tümör içermeyen, normal pankreas veya kronik pankreatit içeren 34 olgunun parafin doku blokları belirlendi ve kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Seçilen doku blokların hematoksilen eosin kesitlerinde en uygun alanlar işaretlendi. Bu alanların parafin bloklarda karşılığı belirlendi ve cam kalemi ile işaretlendi. Beş mm çaplı dermatolojik "punch" biyopsi iğnesi ile "donor parafin bloklardan" belirlenen alanlara ait doku silindirleri çıkartıldı. Çıkarılan silindirler numaralandırıldı. Her bir silindir, daha önceden hazırlanmış "alıcı blok haritasina" göre (her bir blok 11 silindir içerecek şekilde) yeniden bloklandı. Oluşturulan "alıcı bloklardan" immünhistokimyasal inceleme için kesit alımı işlemi esnasında H&E boyamak için de boş kesitler alındı ve H&E ile boyandı.

Sonuç olarak çalışma, pankreatik duktal adenokarsinoma içeren hücre bloğu materyali olan 33 olgu ve tümör içermeyen, kronik pankreatit veya normal pankreas dokusu içeren rezeksiyon materyaline sahip 34 olgu ile çalışma gerçekleştirildi.

3.2.Sitolojik İnceleme

Tüm olguların MGG ve Diff-Quik boyalı yaymaları ile olgulara ait H&E boyalı hücre bloğu kesitleri ve varsa yapılan immünhistokimyasal inceleme sonuçları yeniden gözden geçirildi. Olguların sitopatoloji ve patoloji raporlarından yaş, cinsiyet, materyallerin alınma yerleri kayıt altına alındı.

3.3. İmmünhistokimyasal Değerlendirme

Çalışmada kullanılan antikorların kullanım kılavuzunda yer alan ve literatürde bildirilen dilüsyon oranları ve inkübasyon süreleri göz önüne alınarak uygun pozitif kontroller eşliğinde optimizasyon amacı ile denemeler yapıldı. Optimal dilüsyon oranları ve inkübasyon süreleri belirlendi. Kullanılan antikorların klon isimleri, dilüsyonları ve ticari isimleri tablo 3.1'de belirtildi.

Tablo 3.1. Kullanılan Antikorların İsimleri, Klonları, Dilüsyonlar ve Ticari İsimleri

ANTİKOR	KLON	DİLÜSYON	TİCARİ İSİM
IMP3	69.1	1/100	DAKO
Maspin	G167-70	1/200	Becton Dickinson
S100P	Clone-16	1/50	Becton Dickinson
pVHL	FL-181	1/50	Santa-Cruz

Primer antikor olarak maspin, S100P, IMP3 ve pVHL antikorları kullanıldı. Ventana Benchmark XT immünhistokimya otomatik boyama sistemi ve Ventana Ultraview Dab Detection Kit kullanılarak uygun pozitif kontroller eşliğinde boyama yapıldı.

Değerlendirmeler, Olympus Bx50 ışık mikroskobunda, 400x (40x objektif lens, 10x oküler lens, 0,151 mm2) büyütmede yapıldı.

S100P ve maspin için nükleer veya nükleer + sitoplazmik boyanmalar, pVHL için membranöz + sitoplazmik boyanmalar ve IMP3 için ise sitoplazmik boyanmalar pozitif boyanma olarak kabul edildi. S100P ve maspin için sadece sitoplazmik boyanmalar negatif olarak değerlendirildi. Her bir antikor için boyanan hücre yaygınlığı %5'in altında ise negatif, %5-25 arasında ise +1, %26-50 arasında ise +2, %51-75 arasında ise +3, %75'in üzerinde ise +4 olarak skorlandı. İstatistiksel değerlendirmede % 5'in altı boyanma negatif, %5 ve üstü (+1 ve üzeri boyanmalar) boyanma pozitif olarak değerlendirildi. Boyanma şiddeti ise semikantitatif olarak zayıf ve şiddetli olarak skorlandı.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Antikorların test performansları hem duyarlılık hemde seçicilik açısından değerlendirildi. En yüksek ayrım gücüne sahip antikorların kombine kullanımdaki performansları ayrıca ölçüldü. Ayrıca her bir antikorun test performansı PDAK saptanması bakımından ayrı ayrı hesaplandı. Kategorik veriler için Ki-kare ve Fisher Exact testi kullanıldı. Antikorların boyanma yüzdelerinin ortanca değerlerinin PDAK-normal/kronik pankreatit ayırımına katkısını değerlendirmek için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Antikorların birbirleri ile uyumunun hesaplanması için kappa katsayısı hesaplandı. Tüm istatistiksel analiz ve hesaplamalar için SPSS for Win. Ver. 11.5 paket programı kullanıldı. İstatistiksek olarak $p \leq 0.05$ değeri anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

4.1.Genel Bulgular

Çalışmada 15 (%45.5) kadın ve 18 (%54.5) erkek hastadan alınan toplam 33 pankreas İİAB hücre bloğu ve 13 (%38.2) kadın ve 21 (%61.8) erkek hastadan alınan pankreas ameliyat materyali kullanılmıştır. PDAK'lı hastaların en genci 47 yaşında iken en yaşlı hasta 86 yaşındadır. Olguların ortalama yaşı 64.4 olarak hesaplanmıştır (tablo 4.1). Kontrol grubunda yer alan olguların 8'i (%23) kronik pankreatit, 3'ü müsinöz kistik neoplazi (%9), 23'ü (%68) PDAK nedeniyle opere olmuş hastaların ameliyat materyallerinden oluşmaktadır (tablo 4.1). PDAK olguları ile kontrol grubu arasında cinsiyet dağılımı ve yaş ortalaması açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 4.1: PDAK Olguların Yaş Özellikleri

Ortalama	En az	En çok	Standart sapma
64.4	47	86	9.8

Tablo 4.2: PDAK Olguların Cinsiyet Dağılımı

	Sayı	Yüzde (%)
Erkek	18	54.5
Kadın	15	44.5

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

PDAK olgularının hücre bloğu kesitlerine ve kontrol grubu olarak seçilen olguların parafin bloklarından hazırlanan "doku array bloklarının" kesitlerine IMP3, S100P, maspin ve pVHL antikorları immünohistokimyasal olarak uygulandı. Normal/kronik pankreatit olgularında ve PDAK olgularında immünhistokimya sonuçlarının dökümü tablo 4.3 ve 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Normal/kronik Pankreatitlerde İmmünhistokimyasal Boyama Sonuçları

Antikor	Negatif Sayı (%)	+1 Sayı (%)	+2 Sayı (%)	+3 Sayı (%)	+4 Sayı (%)	Toplam pozitif olgu Sayı (%)
IMP3	34 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
S1OOP	34 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Maspin	34 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
pVHL	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2.9)	33 (97.1)	34 (100)

Tablo 4.4. PDAK'larda İmmünhistokimyasal Boyama Sonuçları

Antikor	Negatif Sayı (%)	+1 Sayı (%)	+2 Sayı (%)	+3 Sayı (%)	+4 Sayı (%)	Toplam pozitif olgu Sayı (%)
IMP3	5 (15.2)	1 (3)	2 (6.1)	1 (3)	24 (72.7)	28 (84.8)
S1OOP	3 (9.1)	2 (6.1)	1 (3)	4 (12.1)	23 (69.7)	30 (90.9)
Maspin	3 (9.4)	1 (3.1)	5 (15.6)	5 (15.6)	18 (56.2)	29 (90.6)
pVHL	20 (60.6)	7 (21.2)	5 (15.2)	0 (0)	1 (3)	13 (39.4)

IMP3'ün median değeri tümör grubunda +4 (%75 ve üzeri tümör hücresinde pozitif boyanma) olarak hesaplandı. 33 PDAK olgusunun 28'inde (%84.8) IMP3 ile pozitif boyanma izlendi. IMP3 ile pozitif boyanan PDAK olgularının 26'sında (%92.9) güçlü pozitif boyanma tespit edildi. IMP3 pozitif PDAK olgularının 25'inde (%89.3) boyanma +3 ve üzeri, 27'sinde (%96.4) +2 ve üzeri olacak şekilde yaygın olarak izlendi (Tablo 4-5).

Tablo 4.5. IMP3 Pozitif Boyanan PDAK Olgularının Boyanma Şiddeti ve Yaygınlığı

	Boyanma yaygınlığı		
	Fokal (+1ve +2) Sayı (%)	**Yaygın (+3 ve +4) Sayı (%)**	**Toplam Sayı (%)**
IMP3 pozitif olgu sayısı (%)	3 (10.7)	25 (89.3)	28 (100)
	Boyanma şiddeti		
	Zayıf Sayı (%)	**Şiddetli Sayı (%)**	**Toplam Sayı (%)**
IMP3 pozitif olgu sayısı (%)	2 (7.1)	26 (92.9)	28 (100)

S100P'nin median değeri tümör grubunda +4 (%75 ve üzeri tümör hücresinde pozitif boyanma) olarak hesaplandı. 33 PDAK olgusunun 30'unda (%90.9) S100P pozitif saptandı. S100P ile pozitif boyanan PDAK olgularının 28'sinde (%93.3) güçlü pozitif boyanma tespit edildi. S100P pozitif PDAK olgularının 27'sinde (%90) boyanma +3 ve üzeri, 28'inde (%93.3) +2 ve üzeri olacak şekilde yaygın pozitif olarak izlendi.

Tablo 4.6. S100P Pozitif Boyanan PDAK Olgularının Boyanma Şiddeti ve Yaygınlığı

	Boyanma yaygınlığı		
	Fokal (+1ve +2) Sayı (%)	**Yaygın (+3 ve +4) Sayı (%)**	**Toplam Sayı (%)**
S100P pozitif olgu sayısı (%)	3 (10)	27 (90)	30 (100)
	Boyanma şiddeti		
	Zayıf Sayı (%)	**Şiddetli Sayı (%)**	**Toplam Sayı (%)**
S100P pozitif olgu sayısı (%)	2 (6.7)	28 (93.3)	30 (100)

Maspin antikoru uygulanan 33 PDAK olgularından birinin immünhistokimya boyalı kesitinde doku tükendiği için değerlendirme yapılamadı ve istatistiksel değerlendirme dışı bırakıldı. Değerlendirilen 32 PDAK olgusunun 29'unda (%90.6) maspin pozitif saptandı. Maspin'in median değeri tümör grubunda +4 (%75 ve üzeri tümör hücresinde pozitif boyanma) olarak hesaplandı. Maspin ile pozitif boyanan PDAK olgularının tamamında (%100) güçlü pozitif boyanma tespit edildi. Maspin pozitif PDAK olgularının 23'ünde (%79.3) boyanma +3 ve üzeri, 28'inde (%96.6) +2 ve üzeri olacak şekilde yaygın pozitif olarak izlendi.

Tablo 4.7 Maspin Pozitif Boyanan PDAK Olgularının Boyanma Şiddeti ve Yaygınlığı

	Boyanma yaygınlığı		
	Fokal (+1ve +2) **Sayı (%)**	**Yaygın (+3 ve +4)** **Sayı (%)**	**Toplam** **Sayı (%)**
Maspin pozitif olgu sayısı (%)	6 (20.7)	23 (79.3)	29 (100)
	Boyanma şiddeti		
	Zayıf **Sayı (%)**	**Şiddetli** **Sayı (%)**	**Toplam** **Sayı (%)**
Maspin pozitif olgu sayısı (%)	0 (0)	29 (100)	29 (100)

33 PDAK olgusunun 13'ünde (%27.7), normal/kronik pankreatit olgularının ise tamamında (%100) pVHL pozitif saptandı. pVHL ile pozitif boyanan 13 PDAK olgusunun 10'ununda (76.9) boyanma zayıf şiddette iken, 3 (%23.1) olguda güçlü immün pozitivite saptandı. PDAK grubunun pVHL median değeri 0 (%5'in altında pozitif boyanma) olarak hesaplandı. pVHL pozitif PDAK olgularının 12'sinde (%92.3) fokal immün boyanma (+2 ve altı), 1'inde (%7.7) ise yaygın immün boyanma gözlendi (şekil 5). pVHL ile pozitif boyanan 34 (%100) normal/kronik pankreatit olgusunda ise boyanma yaygın ve güçlü şiddette (%100) olduğu tespit edildi. Bu grupta pVHL'nin median değeri 4 (%75 ve üzeri hücrede pozitif boyanma) olarak hesaplandı.

Tablo 4.8 PVHL Pozitif Boyanan PDAK Olgularının Boyanma Şiddeti ve Yaygınlığı

	Boyanma yaygınlığı		
	Fokal (+1ve +2) Sayı (%)	**Yaygın (+3 ve +4) Sayı (%)**	**Toplam Sayı (%)**
pVHL pozitif olgu sayısı (%)	12 (92.3)	1 (7.7)	13 (100)
	Boyanma şiddeti		
	Zayıf Sayı (%)	**Şiddetli Sayı (%)**	**Toplam Sayı (%)**
pVHL pozitif olgu sayısı (%)	10 (76.9)	3 (23.1)	13 (100)

Maspin, S100P ve IMP3 ile normal/kronik pankreatit grubunda boyanma saptanmaz iken, PDAK grubunda yüksek pozitiflik oranı saptandı. PDAK'da bu 3 antikordan S100P'nin en yüksek pozitiflik oranına (%90.9) sahip olduğu gözlendi. Bu 3 antikorun PDAK grubunu normal/kronik pankreatit grubundan ayırt etmede istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (her üçünün $p<0.001$).

pVHL ise bu üç antikordan farklı olarak, normal/kronik pankreatit grubunda, PDAK grubuna göre daha yüksek oranda immün pozitivite gösterdi ($p<0.001$) (Tablo 4.9). PDAK grubunda pVHL pozitifliği daha çok fokal (%92.4) ve zayıf (%76.9) olarak izlenirken, normal/kronik pankreatit grubunda güçlü (%100) ve yaygın (%100) pozitif olarak gözlendi. İki grup arasında pVHL boyanma şiddeti ve yaygınlığının istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu saptandı ($p<0.001$).

IMP3, S100P ve maspinin PDAK grubu için duyarlılık (sırası ile %87.2, %91.9, %91.9) ve özgüllüğü (her üçü için %100) oldukça yüksek bulundu. pVHL'nin normal/kronik pankreatit grubu için duyarlılığı oldukça yüksek (%100), ancak özgüllüğü (%60.6) düşük saptandı. IMP3, S100P ve maspinin PDAK için, pVHL'nin normal/kronik pankreatit için duyarlılık, özgüllük, doğruluk, pozitif tahmin değeri ve negatif tahmin değeri tablo 4.10'da verildi.

Tablo 4.9. PDAK ve Normal/Kronik Pankreatitte İmmünhistokimyasal Sonuçlar

Antikor	PDAK Sayı (%)		Normal pankreas/kronik pankreatit Sayı (%)		PDAK-normal pankreas/kronik pankreatit ayırımında p değeri
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif	
IMP3	28 (84.8)	5 (15.2)	0 (0)	34 (100)	p< .001
S1OOP	30 (90.9)	3 (9.1)	0 (0)	34 (100)	p< .001
Maspin	29 (90.6)	3 (9.4)	0 (0)	34 (100)	p< .001
pVHL	13 (39.4)	20 (60.6)	34 (100)	0 (0)	p< .001

Tablo 4.10. IMP3, S100P, Maspin ve pVHL'nin Duyarlılık, Özgüllük, Pozitif Belirleyici Değeri, Negatif Belirleyici Değeri ve Doğruluğu

Antikor	Duyarlılık %	Özgüllük %	Doğruluk %	Pozitif tahmin değeri %	Negatif tahmin değeri %
IMP3	84.8	100	92.5	100	87.2
S100P	90.9	100	95.5	100	91.9
Maspin	90.6	100	95.4	100	91.9
pVHL	100	66.6	80	72.3	100

Mevcut antikorların kombine test performansları da değerlendirildi. Öncelikle normal/kronik pankreatit grubunda boyanmayan S100P, maspin ve IMP3'ün ikili ve üçlü kombine pozitiflikleri incelendi (Tablo 4.11 ve 4.12). Bu kombinasyonlardan PDAK'da S100P ve maspinin her ikisinin pozitifliğinin en yüksek oranda (%84.4) olduğu saptandı. PDAK olguları S100P, IMP3 ve maspinden en az ikisi ile pozitif oranı ise %93.9 olarak gözlendi. Olgular pVHL negatif, diğer antikorlar ile pozitifliklerine göre de gruplandırıldı. Bu şekilde gruplama yapıldığında (pVHL negatif diğer antikorların en az biri ile olan pozitif) duyarlılıklarda belirgin azalma gözlenlendi (Tablo 4.13 ve 4.14) .

Tablo 4.11. PDAK'da S100P, IMP3 ve Maspinin Kombine Kullanımında Pozitiflik Oranları

	Pozitif Sayı (%)
S100P+/ IMP3+	25/33 (75.8)
S100P+/ Maspin+	27/32 (84.4)
IMP3+/Maspin+	25/32 (78.1)
IMP3+/ Maspin+/S100P+	23/32 (71.9)
Herhangi ikisi veya üçü ile pozitif	31/33 (%93.9)

Tablo 4.12. PDAK'da S100P, IMP3 ve Maspinin Kombine Kullanımının Duyarlılık, Özgüllük, Doğruluk, Pozitif Tahmin Değeri ve Negatif Tahmin Değeri

	Duyarlılık %	Özgüllük %	Doğruluk %	Pozitif Tahmin Değeri %	Negatif Tahmin Değeri %
S100P+/ IMP3+	%75.8	%100	%88	%100	%81
S100P+/ Maspin+	%84.4	%100	%92.4	%100	%87.2
IMP3+/Maspin+	%78.1	%100	%89	%100	%82.9
IMP3+/Maspin+/S 100P+	%71.9	%100	%86.3	%100	%79.1
Herhangi ikisi veya üçü ile pozitif	%93.9	%100	%97	%100	%94.4

Tablo 4.13. PDAK'da pVHL, S100P, IMP3 ve Maspinin Kombine Kullanımında Pozitiflik Oranları

	Pozitif Sayı (%)
pVHL-/S100P+/ IMP3+	16/33 (48.5)
pVHL-/S100P+/ Maspin+	15/32 (46.9)
pVHL-/IMP3+/Maspin+	17/32 (53.1)
pVHL-/IMP3+/ Maspin+/S100P+	16/32 (48.5)
pVHL-/S100P+	18/33 (54.5)
pVHL-/IMP3+	18/33 (54.5)
pVHL-/maspin+	17/32 (53.1)
pVHL-/diğerlerinden iki veya üçü +	19/33 (57.6)

Tablo 4.14. PDAK'da pVHL, S100P, IMP3 ve Maspinin Kombine Kullanımının Duyarlılık, Özgüllük Doğruluk, Pozitif Tahmin Değeri ve Negatif Tahmin Değeri

	Duyarlılık %	Özgüllük %	Doğruluk %	Pozitif Tahmin Değeri %	Negatif Tahmin Değeri %
pVHL-/S100P+/ IMP3+	%48.5	%100	%74.6	%100	%66.7
pVHL-/S100P+/ Maspin+	%46.9	%100	%74.2	%100	%66.7
pVHL- /IMP3+/Maspin+	%53.1	%100	%77	%100	%69.4
pVHL- /IMP3+/Maspin+/S100 P+	%48.5	%100	%74.6	%100	%66.7
pVHL-/S100P+	%54.%	%100	%77.6	%100	%69.4
pVHL-/IMP3+	%54.5	%100	%77.6	%100	%69.4
pVHL-/maspin+	%53.1	%100	%77.2	%100	%69.4
pVHL-/diğerlerinden iki veya üçü +	%57.6	%100	%93	%100	%70.8

PDAK grubunda antikorların birbirleriyle boyanma şiddeti ve boyanma yüzdeleri açısından uyumu değerlendirildi. Antikorların birbirleriyle uyumu istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ($p>0.05$). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte en yüksek uyum oranı S100P ve maspin ile saptandı ($K=0.26$ ve 0.11). PDAK grubu antikor boyanma yüzdeleri açısından negatif (%5'in altında boyanma), fokal pozitif (+1 "%5-25" ve +2 "%25-50"), yaygın pozitif (+3 "%51-75"

ve +4 “%75-100”) olarak gruplanarak antikorların uyumu tekrar değerlendirildi. S100P ve maspin arasında bu grupta istatistiksel anlamlı bir uyum saptandı (K=0.33, $p<0.05$). Gruplama sonrası diğer antikorların arasında anlamlı bir uyum saptanmadı.

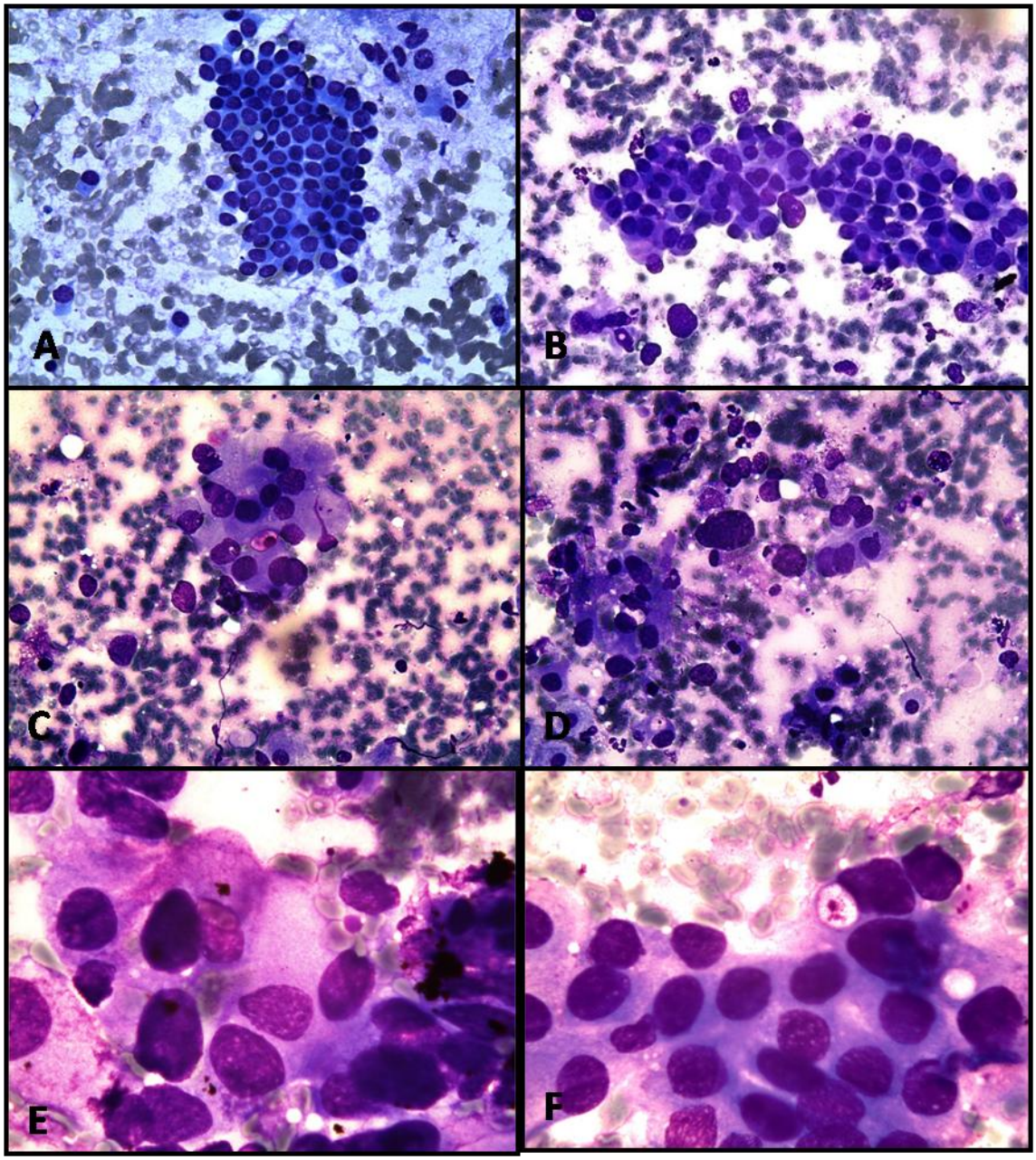
Tablo 4.15. Antikorların PDAK grubunda boyanma şiddeti ve boyanma yüzdeleri açısından uyumu

	Boyanma şiddeti	**Boyanma yüzdesi**
	K	**K**
IMP3-S100P	-0.18	-0.09
IMP3-maspin	0.08	-0.06
IMP3-pVHL	-0.06	-0.04
S100P-maspin	0.26	0.11
S100P-pVHL	0.03	-0.03
Maspin-pVHL	0.04	-0.12

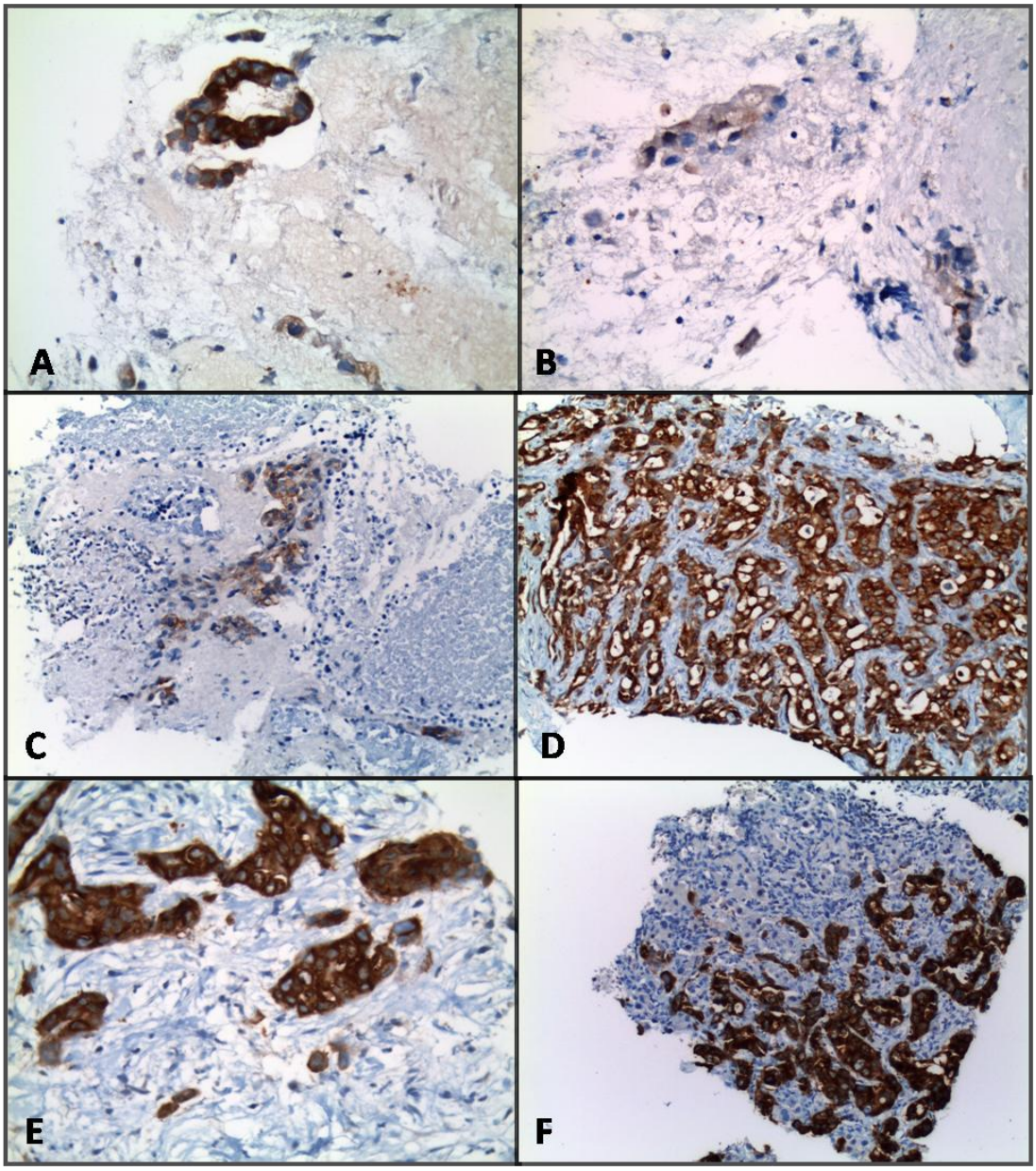
pVHL pozitif 13 olgunun PDAK’larda diğer üç antikor ile olan boyanmaları değerlendirildi. pVHL pozitif 13 olgunun maspin ile 12’sinde (%92.3), S100P ile 12’sinde (%92.3), IMP3 ile ise 10’unda (%76.9) boyanma saptandı. pVHL pozitif 13 olgunun 9’u (%69.2) diğer 3 antikorun üçü ile, 3’ü (%23.1) ikisi ile, 1 tanesi ise (%7.7) bir antikor ile pozitif boyanma sergiledi. pVHL pozitif 13 olgunun hiçbirinde diğer 3 antikor ile negatiflik gözlenmedi (Tablo 4.13).

Tablo 4.16. pVHL Pozitif PDAK Olgularında Maspin, IMP3 ve S100P'nin Boyanma Özelliği

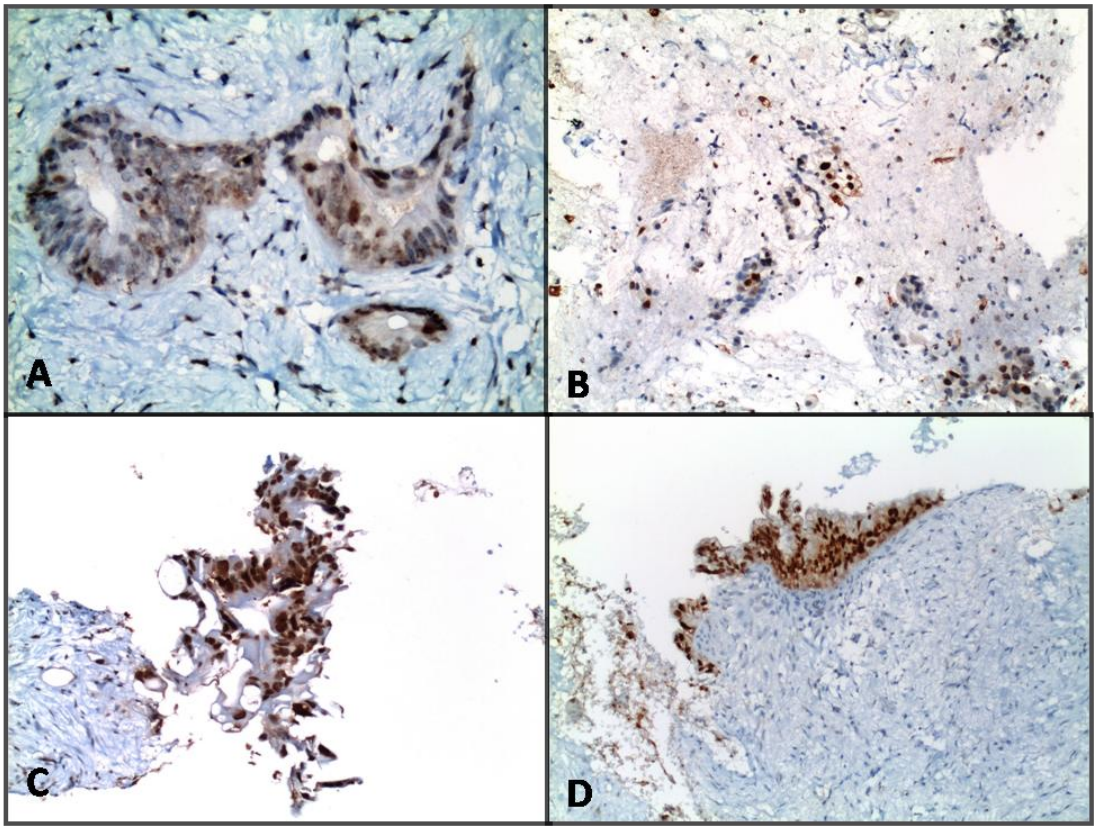
Olgu No	pVHL	Maspin	IMP3	S100P
1	+1	+3	+4	+4
2	+1	+4	negatif	+3
3	+2	Negatif	+4	Negatif
4	+1	+2	+4	+4
5	+1	+4	+4	+4
6	+2	+4	+4	+4
7	+1	+4	+4	+4
8	+1	+4	+4	+4
9	+2	+4	+4	+4
10	+4	+4	+4	+4
11	+1	+4	Negatif	+4
12	+2	+4	+3	+4
13	+2	+4	Negatif	+4



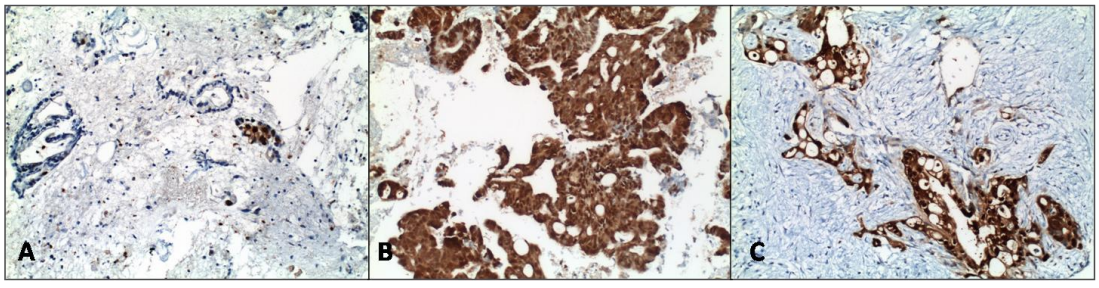
Resim 1: **A**: Balpeteği görünümümde normal pankreas duktal hücreleri **B-F:** PDAK olguları



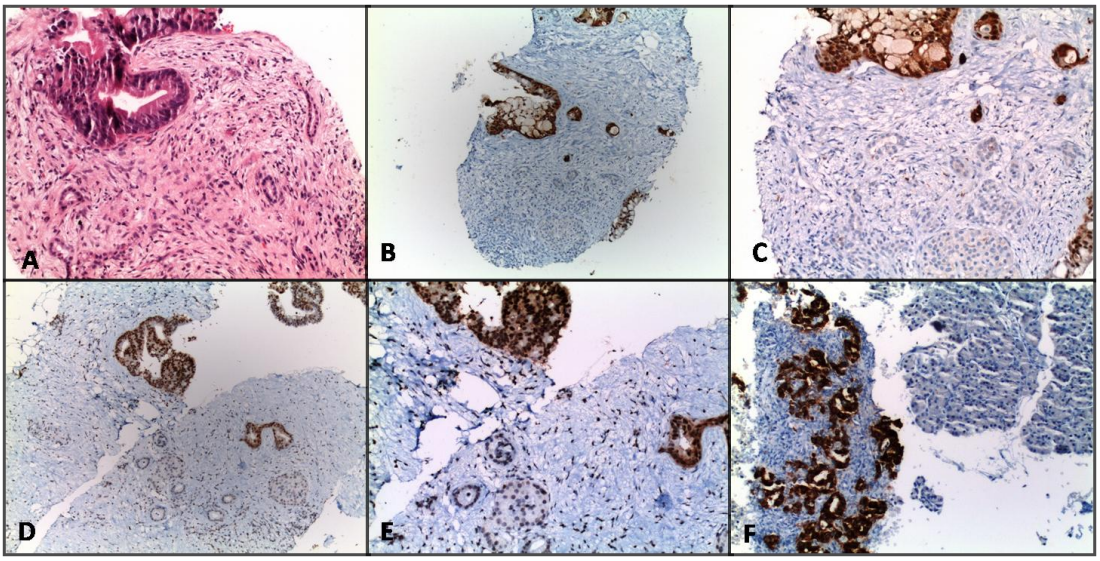
Resim 2: IMP3 ile **A-B:** fokal güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu, **C**: fokal zayıf immün pozitivite gösteren PDAK olgusu, **D,E,F**: yaygın güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olguları



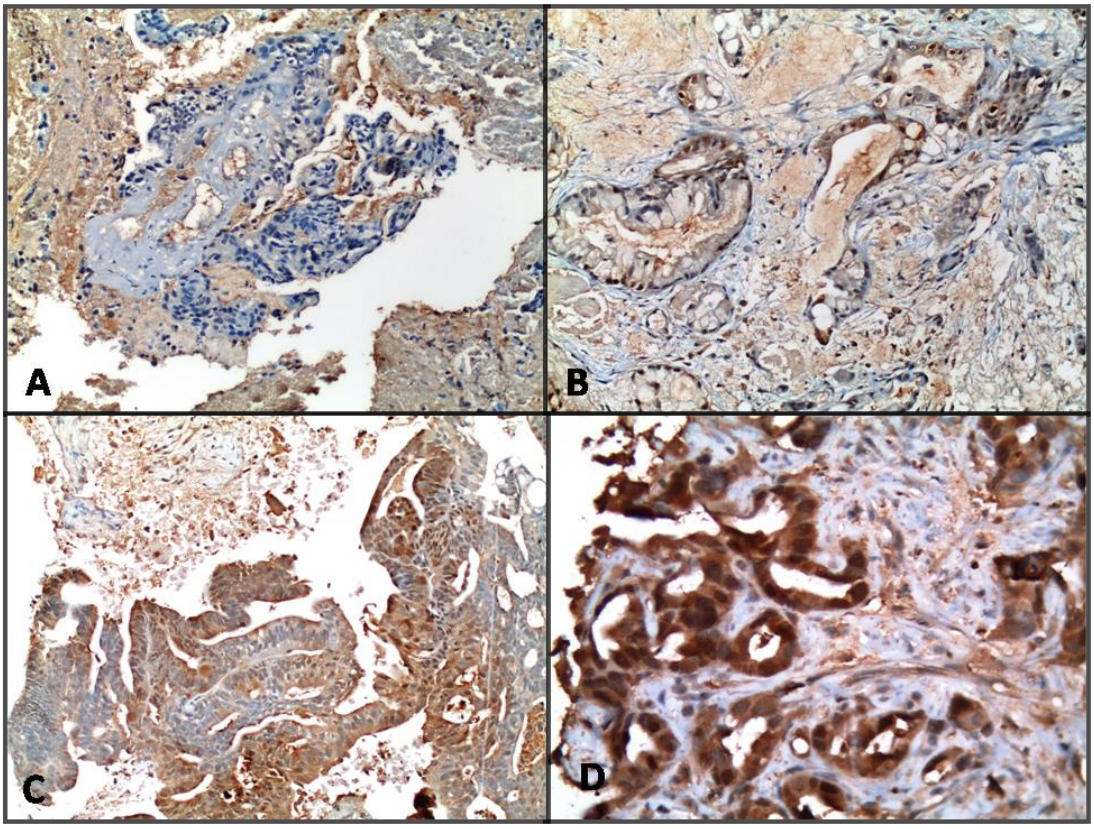
Resim 3: S100P ile **A:** fokal zayıf immün poztivite gösteren PDAK olgusu **B:** fokal güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu **C-D:** yaygın güçlü immünpozitivite gösteren PDAK olguları



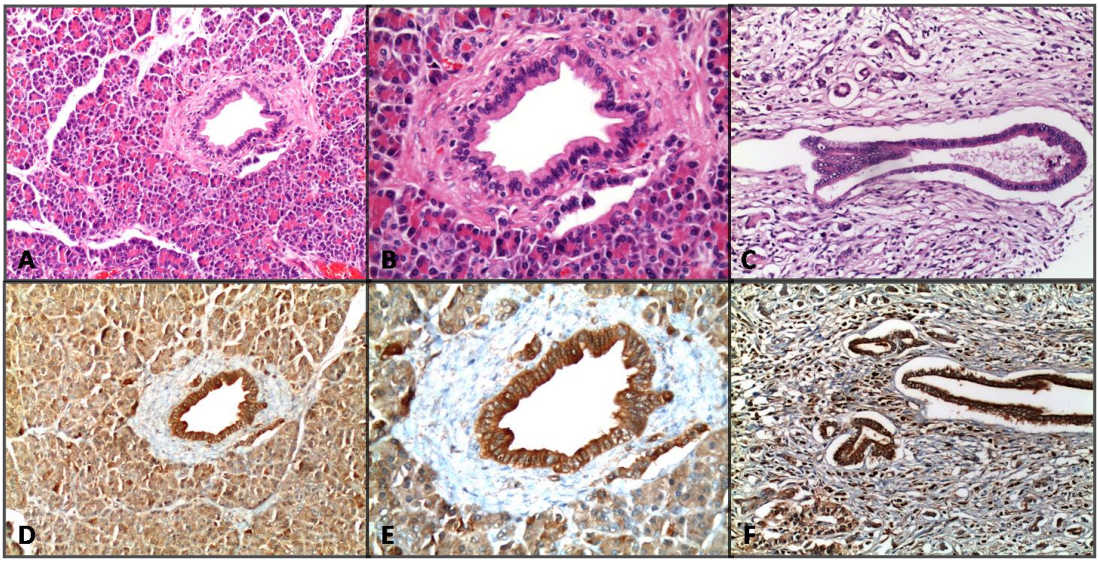
Resim 4: Maspin ile **A:** fokal güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu **B-C:** yaygın güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu



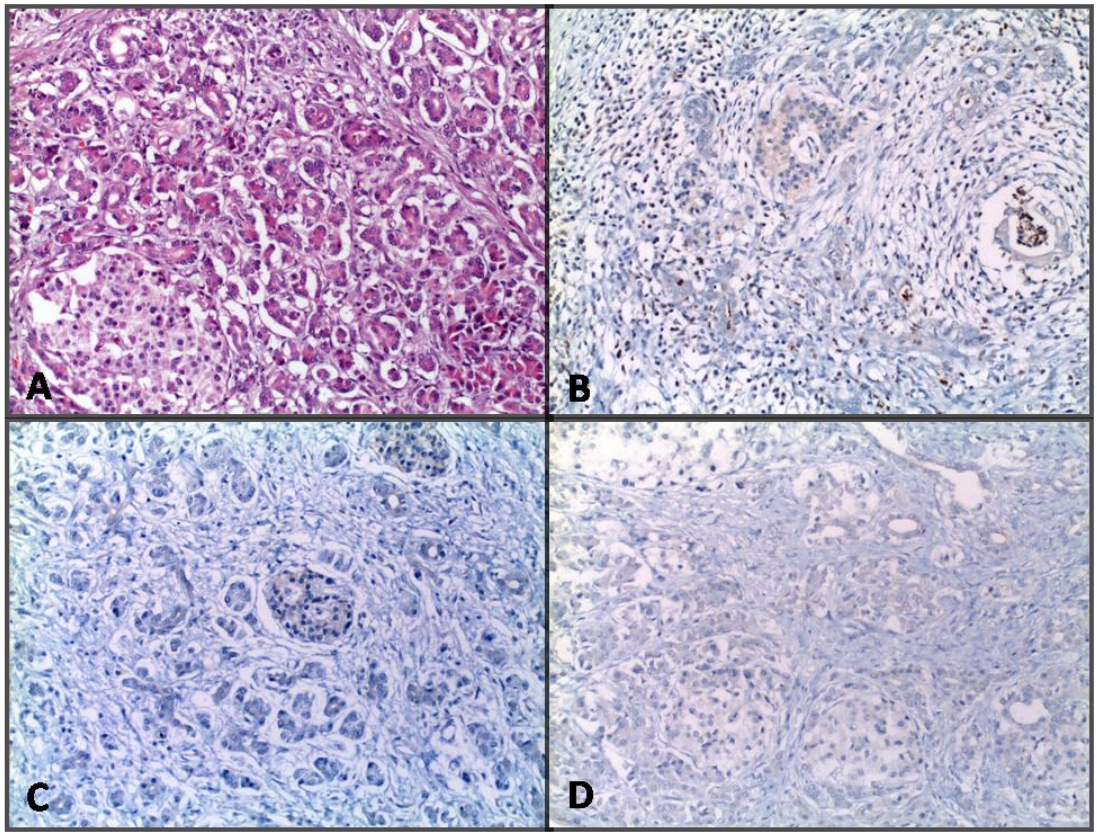
Resim 5: A: PDAK olgularından tümör-nontümöral pankreas parankimini bir arada izlendiği bir olgunun H&E kesiti **B-C:** aynı olgunun maspin ile tümörde pozitif immün boyanma ve normal pankreasta negatiflik **D-E:** S100P ile tümörde pozitif immün boyanma ve normal pankreasta negatiflik **F:** IMP3 ile tümörde pozitif immün boyanma ve normal pankreasta negatiflik



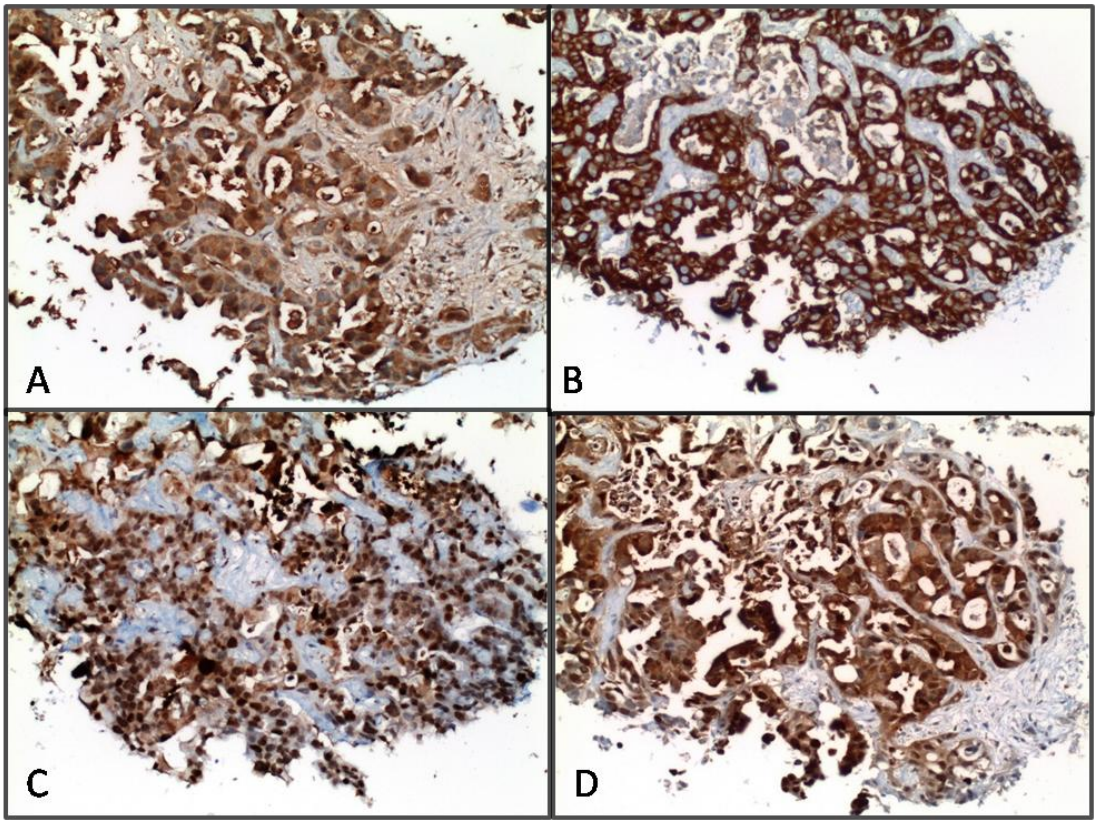
Resim 6: pVHL ile **A:** boyanma göstermeyen PDAK olgusu **B:** fokal-zayıf immün boyanma gösteren PDAK olgusu **C:** fokal-güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu **D:** yaygın-güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu



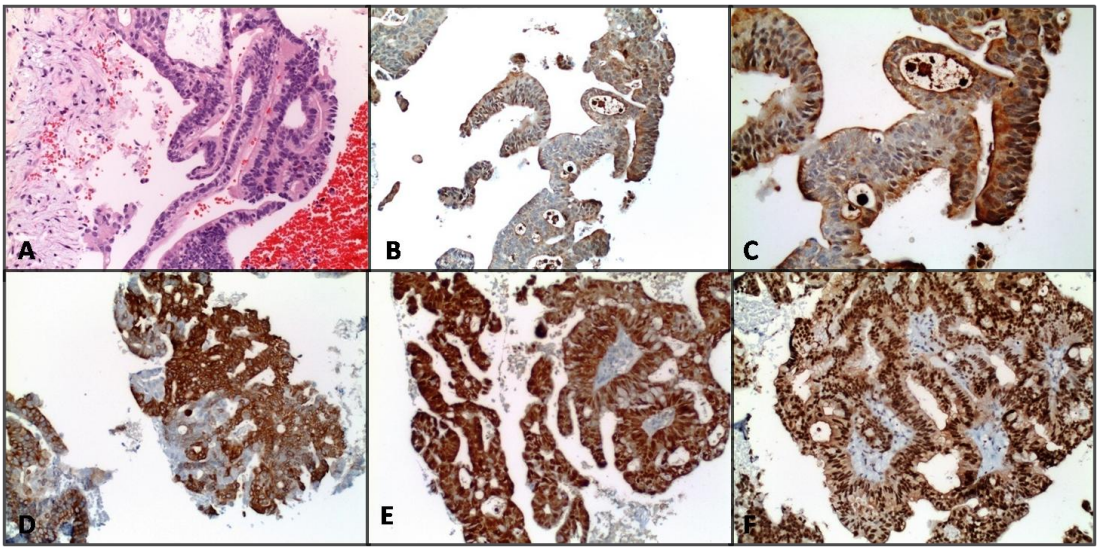
Resim 7: A-C: Normal/kronik pankreatit olgularının H&E kesitleri **D-F:** Bu olgularda pVHL ile yaygın-güçlü immün pozitivite



Resim 8: A: Normal/kronik pankreatit olgularından birinin H&E kesiti **B:** maspin **C:** IMP3 **D:** S100P ile negatif immün boyanma



Resim 9: A: PDAK ile yaygın-güçlü immün pozitivite gösteren PDAK olgusu, aynı olgunun **B:** IMP3 ile yaygın-güçlü immün pozitivitesi **C:** S100P ile yaygın-güçlü immün pozitivitesi **D:** maspin ile yaygın-güçlü immün pozitivitesi



Resim 10: A: pVHL ile fokal-güçlü immün pozitivite gösteren olgunun H&E kesiti, aynı olgunun **B-C:** pVHL ile fokal güçlü immün pozititivitesi **D:** IMP3 ile yaygın-güçlü immün pozitivitesi **E:** maspin ile yaygın-güçlü immün pozitiviteisi **F:** S100P ile yaygın-güçlü immün pozitivitesi

5.TARTIŞMA

Pankreas kanserleri dünyada kanser ölümleri içerisinde 4. sırada yer almaktadır (18). PDAK %85-90'lık oranla pankreasın en sık görülen malign tümörüdür (1). Türkiye'de Sağlık Bakanlığı 2005 yılı kanser istatistiklerine göre PDAK 100.000 kişide 1,6-2 arasında görülmektedir. En sık görülen kanser türleri içerisinde pankreas kanseri 12. sırada, kanser ölümleri içerisinde ise 11. sıradadır (119). Hastaların çoğu 60-80 yaş aralığında olup, 40 yaşından önce nadir görülür (1).

Sağ kalımı oldukça az olan bu tümörlerin çoğu tanı anında opere edilemeyecek evreye ilerlemiştir. Bu nedenle pankreasta bir kitle varlığında tanı cerrahi rezeksiyon materyalinden çok İİAB veya trucut biyopsi gibi sınırlı dokunun incelendiği örnekler ile konmak zorundadır (2).

Hızlı, güvenilir, komplikasyon oranının az olması nedeniyle son yıllarda pankreas İİAB'si, pankreas kitlelerinin tanısında altın standart haline gelmiştir (2). İİAB'nin BT ve USG eşliğinde yapılması, biyopsi yapılacak alanın direkt gözlenmesine izin vermesi nedeniyle tanısal yeterlilik oranlarını artırmaktadır. İİAB'nin tanısal yeterliliği BT eşliğinde yapıldığında %86, USG eşliğinde yapıldığında %95'tir (120). Yöntemin duyarlılığı %85-90 ve özgüllüğü %100'lerdedir (2).

İyi diferansiye bir pankreatik duktal adenokarsinomayı, nonneoplastik pankreas dokusundan ayırt etmek, cerrahi rezeksiyon materyallerinde dahi zor olabilmektedir. Bu durum küçük trucut biyopsi materyallerinde, ince iğne aspirasyonu ile elde edilen hücre bloğu materyallerinde daha sıklıkla karşımıza çıkmaktadır (4). Yanlış negatif oranı ve atipik veya kuşkulu tanı kategorisi, özellikle deneyimsiz ellerde oldukça yüksek olabilmektedir (121,122).

Pankreatik duktal adenokarsinomayı benign duktal epitelden ayırt etmek için literatürde sitolojik kriterlerin değerini çalışan çeşitli çalışmalar mevcuttur. Cohen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada adenokarsinomu benign duktal epitelden ayırt etmede en önemli kriter olarak anizonükleoz, nükleer kontür düzensizliği ve büyük nükleol varlığını saptamışlardır. Tümör tabakalarının düzensizliği, artmış nükleus-

sitoplazma oranı, nükleer yarıklar, nükleer üst üste binme, büyük vakuoller, nekroz ve soluk nükleus varlığını diğer tanıya katkı sağlayan kriterler olarak belirlemişlerdir. Aynı çalışmada hücreler arasında 3 kattan fazla boyut farkı bulunmasını adenokarsinomlarda %98 oranında, benign yaymalarda ise %3 oranında görüldüğünü rapor etmişlerdir (5).

Robin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada benign duktal epiteli adenokarsinomdan ayırt etmek için majör ve minör kriterler belirlemiştir. Nükleer kalabalıklaşma, irregüler kromatin dağılımı, irregüler nükleer kontür varlığı majör kriter, nükleer büyüme, izole tek malign hücre varlığı, nekroz ve mitotik figürleri minör kriter olarak tanımlanmıştır. İki veya daha fazla majör veya 1 majör ve 3 minör kriter varlığının adenokarsinoma tanısı koymada duyarlılık ve özgüllüğünü %100 saptamışlardır (6).

Pankreas İİAB'lerinde duyarlılık ve özgüllüğü artırmak için pankreatik duktal adenokarsinomalarda çeşitli tümör belirteçleri çalışılmıştır. Sitokeratin 7, MUC1, DPC4, mezotelin, prostat stem hücre antijeni, claudin-4, KOC bunlardan bazılarıdır (7-11).

Çalışmamızda S100P, IMP3, maspin ve pVHL'nin PDAK-normal/kronik pankreatit ayırımına katkısı araştırıldı. S100P, IMP3 ve maspinin PDAK'ların (sırası ile %90.9, %84.8, %90.6) büyük bir kısmında yaygın ve güçlü pozitif boyanma sergilediğini saptandı. Normal kronik pankreatit grubunda ise bu üç antikordan hiçbiri ile boyanma gözlenmedi. Bu üç antikorun her biri ile PDAK normal/kronik pankreatit ayırımında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi.

PDAK ve normal/kronik pankreatitte S100P, IMP3 ve maspin ile gözlenen bu çarpıcı boyanma farkı pVHL ile izlenmedi. Normal/kronik pankreatit olgularının tamamında (%100) pVHL ile immün boyanma (%100 yaygın, %97.1 güçlü) gözlendi. Diğer üç antikorun aksine PDAK'ların 13'ünde (%39.4) pVHL pozitif immün boyanma saptandı. Ancak bu boyanmaların çoğu zayıf (%76.9) ve fokal (%92.3) olarak izlendi.

Daha sonra pVHL pozitif 13 olgunun PDAK'larda yüksek oranda pozitif olan diğer üç antikor ile olan boyanmaları değerlendirildi. pVHL pozitif 13 olgunun maspin ile 12'sinde (%92.3), S100P ile 12'sinde (%92.3), IMP3 ile ise 10'unda (%76.9) boyanma saptandı. pVHL pozitif 13 olgunun 9'unda (%69.2) diğer 3 antikorun üçü ile, 3'ünde (%23.1) ikisi ile, 1'inde ise (%7.7) bir antikor ile pozitif boyanma gözlendi. pVHL'nin yaygın (+4) ve güçlü boyanma sergilediği olguda, diğer üç antikor ile de yaygın (+4) ve güçlü immün boyanma izlendi. pVHL pozitif 13 olgunun hiçbirinde diğer 3 antikor ile negatiflik saptanmadı.

Çalışmamızda PDAK'da literatüre benzer şekilde yüksek oranda S100P, maspin, IMP3 pozitifliği, pVHL negatifliği saptandı. Ancak PDAK'ların çoğunda pozitiflik gösteren S100P, maspin ve IMP3'ün, negatif boyanma sergilediği olgular da gözlendi. Benzer şekilde pVHL pozitif PDAK olguları da ayrıca izlendi.

Liu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada pankreatik duktal adenokarsinoma ve normal pankreas ayırımında 26 ayrı antikorun yararlılığını değerlendirmiştir. Hem cerrahi materyallerde hem de hücre bloğu örneklerinde pVHL, maspin, S100P ve IMP3'ün ayırıma katkısının bu 26 antikor içerisinde en değerlileri olduğu sonucuna ulaşmıştır (4).

Shi ve arkadaşları pVHL, S100P, IMP3 ve maspin antikorlarını safra kesesi adenokarsinomu ve normal/reaktif (kronik kolesistit, aktif kronik kolesistit) safra kesesinde çalışmıştır. Bu çalışmada pVHL-/IMP3+/S100P+/maspin+ immün profilin, safra kesesi adenokarsinomu ve normal/reaktif safra kesesinden ayırt etmede oldukça değerli olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada maspin ve S100P'nin reaktif durumlarda, gastrik veya intestinal metaplazide pozitif boyanabilmesi nedeni ile tek başlarına kullanılmaları önerilmemiştir (123).

Çalışmamızda İİAB materyallerinin tamamının transabdominal örnekleme ile elde edilmesi nedeniyle, yaymalarda veya hücre bloğu kesitlerinde kontamine gastrik ve intestinal epitel izlenmedi. Ancak S100P ile lenfositlerde nonspesifik nükleer boyanmalar gözlendi. Yanlış antikor değerlendirmelerinin önüne geçmek için, bu durum da akılda tutulmalıdır.

Deng ve arkadaşları 58 hastaya ait 40 hücre bloğu ve 36 alkol ile fikse yayma preperatlarda S100P'nin varlığını değerlendirmiştir (98). Bu çalışmada pankreatik duktal adenokarsinoma olgularının tamamında S100P pozitif saptanmıştır. Adenokarsinoma yanı sıra, benign/reaktif pankreatik duktal epitelin, pankreatik endokrin tümörlerin ve atipik/şüpheli tanıya sahip olgularında değerlendirildiği çalışmada, endokrin tümörlerde S100P ile pozitiflik saptanmamıştır. Atipik/şüpheli tanı kategorisindeki 6 olgunun tamamında S100P ile yaygın güçlü pozitiflik saptanmıştır. Bu 6 olgunun cerrahi operasyon materyallerinin hepsinde tümör varlığı kanıtlanmıştır. Sitolojik materyallerde S100P'nin ilk çalışıldığı bu çalışmada, S100P'nin duyarlılığı %100, özgüllüğü %92.8 saptanmıştır (98). Bu çalışmada saptadıkları S100P duyarlılık ve özgüllüğü bizim çalışmamızda saptadığımız değerler (%90.9-%100) ile benzerdir.

EUS eşliğinde yapılan İİAB'lerde gastrointestinal ve mide epiteli kontaminasyonu, iyi diferansiye adenokarsinoma kuşkusu varlığında ayırıcı tanı sorunu yaratabilmektedir. S100P'nin PDAK'da nükleer veya nükleer ve sitoplazmik boyanması pozitif immünreaksiyon olarak değerlendirilirken, mide epitelinde sitoplazmik ve mebranöz boyanma paterni sergiler ve intestinal epitelde ise negatiftir. Bu durum kontamine intestinal/mide epiteli-PDAK ayırımına katkı sağlayabilir. İİAB yaymalarında veya hücre bloğunda, kuşkulu hücrelerde S100P'nin nükleer pozitif saptanması iyi diferansiye adenokarsinoma lehine değerlendirmeye yardımcı olacaktır (98).

Lin ve arkadaşları pankreatik duktal adenokarsinoma, ampullar adenokarsinoma ve kolanjiyosellüler karsinomadan oluşan olgularda S100P ve pVHL'nin ekspresyon durumunu değerlendirmiştir. Bu çalışmada pankreatik duktal adenokarsinomada S100P ile %100 pozitiflik, pVHL ile ise %100 negatiflik saptanmıştır. Ancak ampullar adenokarsinoma ve kolanjiosellüler karsinomada bu oranlar daha düşük bulunmuştur. Ampullar adenokarsinomada pVHL ile %25, S100P ile %80 pozitif boyanma, kolanjiosellüler karsinomada pVHL ile %21.4, S100P ile %61 pozitiflik gözlenmiştir. Ampullar adenokarsinoma ve kolanjiyosellüler adenokarsinomda daha düşük olmakla birlikte, her üç kanser tipinde de yüksek

oranda pozitif olması nedeniyle, söz konusu çalışmada S100P'nin bu üç kanseri birbirinden ayırt etmede yararlı olmayacağı kanaatine varılmıştır (124).

Aynı çalışmada pankreatik adenokarsinomaları öncüsü olan PanIN'lerde de söz konusu antikorlar çalışılmıştır. PanIN-1A'larda %7 pVHL pozitivitesi gözlenirken, PanIN-1B'den itibaren daha yüksek dereceli PanIN'lerde pVHL negatif saptanmıştır. S100P ile ise PanIN'lerin derecesi ile doğru orantılı olacak şekilde artan yüksek pozitiflik oranı (PanIN-1A: %83, PanIN-1B: %93.3, PanIN-2: %100, PanIN-3: %100) saptanmıştır. Pankreatik duktal adenokarsinomaya benzer şekilde PanIN'lerin erken lezyonlarından itibaren S100P ile yüksek pozitiflik ve pVHL kaybı gözlenmesi, bu iki belirteçin pankreas kanseri gelişimindeki erken moleküler belirteçler ile ilişkili olduğunu göstermektedir (124).

S100P ve pVHL'nin pankreatik adenokarsinomlarda çalışıldığı bir çalışmada, kronik pankreatitte S100P ile normal pankreatik duktus ve reaktif duktuslarda hafif-orta şiddette sitoplazmik boyanma saptandığı bildirilmiştir (124). Bizim çalışmamızda normal veya reaktif pankreatik duktuslarda S100P ile boyanma gözlenmemiştir. Bu farklılık iki çalışma arasında kullanılan antijen açığa çıkartma yöntemlerinin farklılığından kaynaklanabilir. Bizim çalışmamızda S100P için antijen açığa çıkartma için EDTA kullanılırken, Lin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise proteinaz K ile antijen açığa çıkartma yapılmıştır. Pankreatik duktal adenokarsinoma ve normal/reaktif pankreatik duktal epitel ayırımı yapılmak istenen olgularda, S100P'de yanlış pozitif değerlendirmelerin önüne geçmek için, EDTA ile antijen açığa çıkartma yapıldığı bir yöntemle immünhistokimyasal boyamanın uygulanması daha doğru olacaktır.

Gandou ve arkadaşları kolanjiokarsinoma, kombine hepatosellüler kolanjokarsinoma, intrahepatik kolanjiokarsinoma (İHK) ve pankreatik duktal adenokarsinomayı içeren olgularda S100P'yi de içeren bir antikor panelinde ekspresyon farkı olup olmadığını değerlendirmiştir. S100P ekspresyonu pankreatik duktal adenokarsinoma ve hiler kolanjiokarsinoma olgularında yüksek oranda (%100 ve %92) pozitif saptanmıştır. İntrahepatik kolanjiokarsinoma ve kombine hepatosellüler karsinoma-kolanjiokarsinoma olgularında ise daha düşük bir pozitiflik (%48 ve %25) gözlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı fark yaratan bu durum, hiler

kolanjiokarsinomaların klinikopatolojik özellikler yönünden olduğu gibi, moleküler özellikler yönünden de pankreatik duktal adenokarsinomaya benzerliğinin, intrahepatik kolanjiokarsinomaya benzerliğinden fazla olduğunu göstermektedir (125).

Reiner ve arkadaşları bilier epitelde benzer bir çalışmayı IMP3 ile yapmıştır (80). İntrahepatik kolanjiyokarsinoma, ekstrahepatik kolanjiyokarsinoma (EHK) ve safra kesesi karsinomunda (SKK) IMP3 ekspresyonunun değerlendirildiği çalışmada IMP3 pozitiflik oranları bu üç grup arasında istatistiksel farklı (sırası ile %36.8, %50, %81.6) saptanmıştır. Aynı çalışmada ekstrahepatik safra yollarında yüksek dereceli displazide de IMP3 pozitifliği yüksek oranda tespit edilmiştir (80).

Bilier fırçalama sitolojisinde IMP3'ün değerlendirildiği bir çalışmada 20 PDAK ve 4 kolanjiyokarsinomadan oluşan tümörlerin 22'sinde (%92) IMP3 ile pozitif boyanma saptanmıştır (126). EUS eşliğinde İİAB materyallerinde IMP3'ün çalışıldığı bir çalışmada ise PDAK'ların büyük bir kısmında (%81) orta-güçlü şiddette olacak şekilde %92 pozitif immün boyanma gözlenmiştir (127). Zhao ve arkadaşları da EUS eşliğinde İİAB materyallerinde yaptıkları IMP3 değerlendirmesinde PDAK'da benzer yüksek pozitiflik oranı (%88) saptamıştır (128).

40 malign safra duktusunun (34 kolanjiyokarsinoma ve 6 PDAK) S100P, pVHL ve IMP3 ekspresyon durumu yönünden değerlendirildiği bir başka çalışmada adenokarsinomaların %77.5'inde IMP3 ile, %90'ında S100P ile pozitif boyanma saptanmıştır. Her iki antikor ile olan yüksek pozitiflik oranları bizim çalışmamız ile benzer niteliktedir. Bu çalışmada S100P ile pozitif boyanmanın çoğunun (%75) diffüz ve güçlü (%90) nitelikte olması da bizim çalışmamıza benzemektedir. Ancak IMP3 pozitif olguların %48.4'ü diffüz, %22.5'i güçlü boyanma göstermesi bizim çalışmamızdan belirgin farklılık göstermektedir (129). IMP3 boyanmasının daha çok fokal ve zayıf olması, olguların çoğunun kolanjiyokarsinoma olması ile açıklanabilir. Bu çalışmada pVHL ile ise 40 malign biyopsinin 37'sinde (%92.5) kayıp tespit edilmiştir. Bu oran bizim çalışmamızdaki pVHL ekspresyon kaybına (% 60.6) göre daha belirgindir.

Çalışmamızda maspin ekspresyonu PDAK olgularında yüksek oranda (%90.6) pozitif bulunmuştur. Pankreas neoplazmlarında maspin antikoru ilk defa 2002'de Oh ve arkadaşları tarafından çalışılmıştır. Bu çalışmada PDAK'ların tamamında maspin pozitifliği saptanırken, nonneoplastik pankreas parankimi ve kronik pankreatitte boyanma gözlenmemiştir (130).

Tümör baskılayıcı bir gen olan maspin ile ilgili Ohike ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, maspin pozitif 57 PDAK olgusunun 51'inde (%90) ekspresyon yüksek oranda saptanmıştır. Maspini yüksek oranda eksprese eden bu tümör grubunun derecesi değerlendirlidiğinde, çoğunun düşük histolojik dereceye sahip olduğu gözlenmiştir. Bu da maspinin pankreas kanseri gelişiminde ve diferansiyasyonunda rol oynadığını göstermektedir (131).

Cao ve arkadaşları maspin ekspresyonunu araştırdıkları çalışmada, PDAK'da maspini yüksek oranda (%94) ve yaygın pozitif (%75) saptamışlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızdaki sonuçlara (pozitiflik oranı %90.6, pozitif hücrelerin yaygın olması: %79.3) oldukça benzer niteliktedir. Postoperatif sağkalımın maspin ile ilişkisinin de değerlendirildiği bu çalışmada, maspin pozitifliğinin bağımsız kötü prognostik faktör olduğu tespit edilmiştir (132).

Çalışmamızda tek başına kullanımda duyarlılık ve özgüllükleri oldukça yüksek olan bu antikorların kombine kullanımı da ayrıca değerlendirildi. Tek başına kullanımda her bir antikor için %90'lar da olan duyarlılığın (S100P: %90.9, IMP3: %84.8 ve Maspin: %90.6) S100P, IMP3 ve maspinin kombine kullanımında azaldığı gözlendi (S100P+/Maspin+: %84.4, IMP3+/maspin+: %78.1, IMP3+/S100P+: %%75.8, IMP3+/S100P+/maspin+: %71.9). Olgular pVHL negatif/diğer antikorlar ile pozitifliklerine göre gruplandırıldığında ise duyarlılık daha da azaldı (pVHL-/S100P+: %54.5, pVHL-/IMP3+: %54.5, pVHL-/maspin+: %53.1, pVHL-/IMP3+/S100P+: %48.5, pVHL-/IMP3+/maspin+: %53.1, pVHL-/IMP3+/maspin+/S100P+: %48.5, pVHL-/S100P4/IMP3+/maspin+: %46.9, pVHL-/herhangi 2 veya üç antikor ile +: %57.6)). Antikorların kombine kullanımında özgüllükte ise değişiklik saptanmadı (%100). S100P, IMP3 ve maspinden herhangi ikisi veya üçü ile pozitiflik oranları değerlendirildiğinde, duyarlılığın ve doğruluğun en yüksek değere ulaştığı saptandı (duyarlılık: %93.9 doğruluk %97).

Literatürde bu antikorların kombine kullanımını değerlendiren tek bir çalışma mevcuttur (123). Safra kesesi adenokarsinomunda pVHL, S100P, IMP3 ve maspinin değerlendirildiği bu çalışmada, pVHL negatif, diğer antikorlardan 2'si veya 3'ü ile pozitif boyanma oranı bizim çalışmamızdan yüksek saptanmıştır (bizim çalışmamızda %57.6, bu çalışmada %90.3) (123). Bu farklılık tümörde pVHL pozitif boyanma oranının bizim çalışmamızda daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır (bizim çalışmamızda %39.4, bu çalışmada %6).

Başka bir çalışmada, PDAK ve nontümöral pankreas parankimi içeren 10 doku kor biyopsi örneğinde S100P ve pVHL ile çift immün boyama uygulanmıştır (124). Bu olguların %50'den fazlasında PDAK'da S100P ile, nontümöral pankreas parankiminde pVHL ile boyama gözlenmiştir (124).

Çalışmamızda PDAK'da literatüre benzer şekilde yüksek oranda S100P, maspin, IMP3 pozitifliği, pVHL negatifliği saptandı. Çalışmamızın sonuçlarına göre, genellikle oldukça zor olabilen PDAK-normal/kronik pankreatit ayrımında, morfolojik parametrelerin yanı sıra S100P, IMP3, maspin ve pVHL antikorlarının immünsitokimyasal kullanımı ayırıcı tanıya katkı sağlayacaktır. Pozitif boyanmaları PDAK tanısına katkı sağlayan S100P, maspin ve IMP3'ün, çalışmamızda negatif boyanma sergilediği olgularda gözlendi. PDAK olgularında bu üç antikordan en az ikisi ile pozitif boyanmanın, duyarlılık (%93.9), özgüllük (%100) ve doğruluk (%97) oranları oldukça yüksek saptandı . Bu nedenle bu çalışmada araştırılan antikorlardan S100P, IMP3 ve maspin birlikteliğinin, PDAK ayırıcı tanısında en iyi kombinasyon olduğu kanaatine varıldı.

6. SONUÇLAR

1. PDAK olgularında IMP3'ün duyarlılığı %84.8, özgüllüğü %100, doğruluğu %92.5'tir. PDAK'yı normal/kronik pankreatitten ayırt etmede IMP3 faydalıdır.

2. PDAK olgularında S100P'nin duyarlılığı %90.9, özgüllüğü %100, doğruluğu %95.5'tir. PDAK'yı normal/kronik pankreatitten ayırt etmede S100P faydalıdır.

3. PDAK olgularında maspin'in duyarlılığı %90.6, özgüllüğü %100, doğruluğu %95.4'tür. PDAK'yı normal/kronik pankreatitten ayırt etmede maspin faydalıdır.

4. Normal/kronik pankreatit olgularında pVHL'nin duyarlılığı %100, özgüllüğü %66.6, doğruluğu %80'dir. PDAK'yı normal/kronik pankreatitten ayırt etmede pVHL faydalıdır.

5. PDAK olgularında S100P, IMP3 ve maspinin kombine kullanımında herhangi ikisi veya üçünün duyarlılığı %93.9, özgüllüğü %100, doğruluğu %97'dir. PDAK'yı normal/kronik pankreatitten ayırt etmede S100P, IMP3 ve maspin kombine kullanımı en uygun antikor panelidir.

6. Çalışmamızda literatüre benzer şekilde PDAK'da yüksek oranda S100P, maspin, IMP3 pozitifi, pVHL negatifliği saptandı. Ancak pozitif boyanmaları PDAK tanısına katkı sağlayan S100P, maspin ve IMP3'ün negatif boyanma sergilediği olgularda gözlendi. Benzer şekilde pVHL pozitif PDAK olguları da ayrıca izlendi. S100P, maspin ve IMP3 negatif, pVHL pozitif olguların varlığı nedeniyle, PDAK-normal/kronik pankreatit ayırımında güçlük yaşanan olgularda, bu antikorların panel halinde kullanımı daha yararlıdır. Kombine kullanımda en yüksek duyarlılık, özgüllük ve doğruluk oranı S100P, IMP3 ve maspin kombinasyonu iledir.

7. ÖZET

İnce İğne Aspirasyon Biyopsi Materyellerinde Pankreatik Duktal Adenokarsinoma Tanısında IMP3, S100P, pVHL ve Maspin İmmünhistokimya Antikorlarının Tanısal Değeri

AMAÇ: Pankreatik duktal adenokarsinoma (PDAK) pankreasın en sık görülen malign tümörüdür. Sağ kalımı oldukça az olan bu tümörlerin çoğu tanı anında opere edilemeyecek evreye ilerlemiştir. Bu nedenle pankreasta bir kitle varlığında tanı cerrahi rezeksiyon materyalinden çok İİAB veya trucut biyopsi gibi sınırlı dokunun incelendiği örnekler ile konmak zorundadır. İyi diferansiye bir pankreatik duktal adenokarsinomayı, nonneoplastik pankreas dokusundan ayırt etmek, cerrahi rezeksiyon materyallerinde dahi zor olabilmektedir. Bu durum küçük trucut biyopsi materyallerinde, ince iğne aspirasyonu (İİAB) ile elde edilen hücre bloğu materyallerinde daha sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Hızlı, güvenilir, komplikasyon oranının az olması nedeniyle son yıllarda pankreas İİAB'si, pankreas kitlelerinin tanısında altın standart haline gelmiştir. Literatürde PDAK tanısında pankreas İİAB'lerinin hassasiyet ve özgüllüğünü artırmak için sitolojik kriterlerin değerlendirildiği çeşitli çalışmalar mevcuttur. Aynı zaman literatürde çeşitli tümör belirteçlerinin PDAK tanısına katkısı da incelenmiştir. Bu çalışmanın amacı S100P, IMP3, maspin ve pVHL antikorlarının PDAK-normal/kronik pankreatit ayırımında yararlılığının araştırılmasıdır.

GEREÇ-YÖNTEM: Ocak 2007 ile Haziran 2011 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Sitoloji Bilim Dalına gelen İİAB yaymaları ve hücre bloğu materyallerinden PDAK tanısı almış 33 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak kronik pankreatit, pankreatik duktal adenokarsinoma veya müsinöz kistik neoplazi nedeniyle aynı tarihler arasında opere edilmiş, pankreas rezeksiyon materyali bulunan 34 olgunun normal/kronik pankreatitli blokları kullanılmıştır. PDAK olgularının hücre bloklarından ve kontrol grubunun normal/kronik pankreatit içeren bloklarının kesitlerine immünhistokimyasal olarak S100P, maspin, IMP3 ve pVHL antikorları uygulanmıştır.

SONUÇLAR: Çalışmada S100P, IMP3 ve maspin ile PDAK'ların (sırası ile duyarlılık %90.9, %84.8, %90.6, özgüllük her üç antikor için %100) büyük bir kısmında yaygın ve güçlü pozitif boyanma saptanırken, normal/kronik pankreatit grubunda ise bu üç antikordan hiçbiri ile boyanma gözlenmemiştir. Sensitivite ve spesifiteleri oldukça yüksek olan bu üç antikorun her birinin PDAK-normal/kronik pankreatit ayırımına katkısının ististiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir.

Normal/kronik pankreatit olgularının tamamında (%100) pVHL ile immün boyanma (%100 yaygın, %97.1 güçlü) gözlenmiştir. PDAK'ların ise 13'ünde

(%39.4) pVHL pozitif immün boyanma saptanmıştır. Ancak bu boyanmaların çoğunu zayıf (%76.9) ve fokal (%92.3) olduğu izlenmiştir. Diğer antikorlar da olduğu gibi pVHL boyanması da PDAK-normal/kronik pankreatit olgularında istatistiksel olarak anlamlıdır.

Antikorların kombine kullanımda ise en yüksek duyarlılık (%93.9), özgüllük (%100) ve doğruluk (%97) oranının S100P, IMP3 ve maspin herhangi ikisi veya üçünün kombinasyonu ile olduğu saptanmıştır.

YORUM: Bu çalışmada PDAK-normal/kronik pankreatit ayırımda, S100P, maspin, IMP3'ün pozitifliği ve pVHL'nin negatifliği PDAK'yı destekleyecek şekilde değerli bulunuştur.

Anahtar kelimeler: İnce iğne aspirasyon biyopsisi, pancreaatik duktal adenokarsinoma, S100P, IMP3, maspin, pVHL

8. SUMMARY

Diagnostic Value of S100P, IMP3, Maspin and pVHL in the Differantial Diagnosis of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma and Normal/chronic pancreatitis in Fine Needle Aspiration Biopsy

AIM: Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is the most common malign neoplasm of the pancreas. The survival is very short for these cancers and most of them are unresectable at the time of diagnosis. Fine needle aspiration biopsy (FNAB) or trucut biopsy are the most prefered techniques rather than an operation material, when a tumor is suspected in the pancreas. Differantiation PDAC from nonneoplastic pancreatic tissue should be problematic even in the resected operation materials. This problem is prominent with small trucut biopsies and cell blocks. In recent years, FNAB which is rapid, safe and have low complication rate, has become the gold standart in the diagnosis of the pancreatic masses. There are several reports which evaluates the cytologic features to increase the sensitivity and spesifity of the FNAB of the pancreas in the diagnosis of the PDAC. There are also papers that evaluates usefulness of some antibodies in the diagnosis of PDAC. The aim of this study is to evaluate reliability of S100P, IMP3, maspin and pVHL antibodies on differantial diagnosis of the PDAC and normal/chronic pancreatitis.

MATERIAL AND METHODS: A total of 33 PDAC cell blocks and 34 normal/chronic pancreatitis operation materials were included in the study. An immunocytochemistry panel including S100P, IMP3, maspin and pVHL were applied to parafin section of cell blocks and operation materials. Test performance of each antibody and combined use of antibodies were evaluated.

RESULTS: In the current study we found very high sensitivity and specificity rates with S100P, IMP3 and maspin antibodies in the differantial diagnosis of the PDAC and normal/chronic pancreatitis (sensitivities are %90.9- %84.8- %90.6, specificity is %100 for each antibody). All normal/chronic pancreatitis were diffuselly positive for pVHL, and 39.4% PDAC were positive for pVHL. Most of the pVHL positive PDAC cases showed weak (%76.9) and focal (%92.3) positive results. pVHL was useful in differantial diagnosis of PDAC and normal/chronic pancreatitis, whose negativity should be used to diagnose PDAC.

Combination of the antibodies are also evaluated. This study demonstrates that the positive immunostaining profile of 2 or 3 of these markers (IMP3, S100P, maspin) is the most useful in the distinction of PDAC from normal/chronic pancreatitis.

CONCLUSION: S100P, maspin, pVHL and IMP3 were useful in the differential diagnosis of the PDAC and normal/chronic pancreatitis. While S100P, IMP3 and

maspin positivity supports the PDAC diagnosis, pVHL positivity support the benign lesions such as normal/chronic pancreatitis.

Key Words: Fine needle aspiration biopsy, pancreatic ductal adenocarcinoma, S100P, IMP3, maspin, pVHL

9. KAYNAKLAR

1. Hruban RH, Boffetta P, Hiraoka N, Iacobuzio-Donahue C, Kato Y, Kern SE, Klimstra DS, Klöpper G, Maitra A, Offerhaus GJA, Pitman MB. Ductal adenocarcinoma of the pancreas. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND eds. WHO classification of the digestive system. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2010: 279-291.

2. Demay RM. Pancreas. In: Demay RM, eds. *The Art and Science of Cytopathology.* 2nd Edition. Chicago: ASCP Pres, 2012:1297-1343.

3. Layfield LJ, Jaboe EA. Cytopathology of the pancreas: neoplastic and nonneoplastic entities. Annals of Diagnostic Pathology. 2010; 14: 140-151.

4. Liu H, Shi J, Anandan V, Wang HL, Diehl D, Blansfield J, Gerhard G, Lin F. Reeavluation and identification of the best immunohistochemical panel (pVHL, maspin, S100P, IMP3) for ductal adenocarcinoma of the pancreas. Archives of Pathology and Laboratory Medicine. 2012; 136: 601-609.

5. Cohen MB, Egerter DP, Holly EA, Ahn DK, Miller TR. Pancreatic adenocarcinoma: regression analysis to identify improved cytologic criteria. Diagnostic Cytopathology. 1991; 7: 341-345.

6. Robin DB, Katz RL, Evans DB, Atkinson EN, Green L. Fine needle aspiration of the pancreas. In quest of accuracy. Acta Cytologica 1995; 39: 1-10.

7. Van Heek T, Rader AE, Offerhaus GJ, McCarthy DM, Goggins M, Hruban RH, Wilentz RE. K-ras, p53 and DPC4(MAD4) alterations in fine-needle aspirates of the pancreas: a molecular panel correlates with and supplements pancreas cytolgic diagnosis. American Journal of Clinical Pathology 2002; 117: 755-765.

8. Nichols LS, Ashfag R, Lacobuzio-Donahue CA. Claudin 4 protein expression in primary and metastatic pancreatic cancer: support for use as a therapeutic target. American Journal of Clinical Pathology 2004; 121: 226-230.

9. McCarthy DM, Maitra A, Argani P, Rader AE, Faigel DO, Van Heek NT, Hruban RH, Wilentz RE. Novel markers of pancreatic adenocarcinoma in fine-needle aspiration: mesothelin and prostate stem cell antigen labeling increases accuracy in

cytologically borderline cases Appl Immunohistochemistry Molecular Morphology. 2003; 11: 238-243.

10. Chhieng DC, Benson E, Eltoum I, Eloubeidi MA, Jhala N, Jhala D, Siegal GP, Grizzle WE, Manne U. MUC1 and MUC2 expression in pancreatic ductal carcinoma obtained by fine-needle aspiration. Cancer. 2003; 99: 365-371.

11. Yantiss RK, Woda BA, Fanger GRalos M, Whalen GF, Tada H, Anderson DK, Rock KL, Dresser K. KOC (K homology domain containing protein overexpressed in cancer): a novel molecular marker that distinguishes between benign and malignant lesions of the pancreas. American Journal of Surgical Pathology. 2005; 29: 188-195.

12. Campbell F, Verbeke CS. *Pathology of the pancreas: a practical aproach*. London Springer, 2013.

13. Klimstra DS, Hruban RH, Pitman MB. Pancreas. Mills SE eds. *Histology for pathologists.* 3. Edition. USA, Lippincott Williams and Wilkins, 2007; 723-760.

14. Ceyhan GO, Michalski CW, Demir İE, Müler MW, Friess H. Pancreatic pain. Best Practice and Research Clinical Gastroenterology. 2008; 22: 31-44.

15. Hruban RH, Pitman MB, Klimstra DS. *Tumors of the pancreas.* Washington DC: Armed Forces Institude of Pathology, 2007.

16. Goldfarb WB, Bennett D, Monafo W. Carcinoma in heterotopic gastric pancreas. Annals of Surgery. 1963; 158: 56-58.

17. Tanimura A, Yamamoto H, Shibata H, Sano E. Carcinoma in heterotopic gastric pancreas. Acta Pathologica Japonica. 1979; 29: 251-257.

18. Yadav D, Lowenfels A. The epidemiology of pancreatitis and pancreatic cancer. Gastroenterology. 2013; 144: 1252-1261.

19. Raimondi S, Maisonneuve P, Lowens AB. Epidemiology of pancreatic cancer: an overwiev. Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology. 2009; 6: 699-708.

20. Alıcı S, İzmirli M, Doğan E. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tibbi Onkoloji Bilim Dalı'na başvuran kanser hastalarının epidemiyolojik değerlendirilmesi. Türk Onkoloji Dergisi. 2006; 21: 87-97.

21. Iodice S, Gandini S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Tobacco and the risk of pancreatic cancer: a review and meta-analysis. Langensbeck's Archives of Surgery. 2008; 393: 535-545.

22. Arslan AA, Helzlsouer KJ, Kooperberg C, Shu XO, Steplowski E, Bueno-de-Mesquita HB ve ark. Anthropometric measures, body mass index, and pancreatic cancer: a pooled analysis from the Pancreatic Cancer Cohort Consortium (PanScan). Archives of Internal Medicine. 2010; 170: 791-802.

23. Lowenfels AB, Maisonneuve P, DiMagno EP, Elitsur Y, Gates LK Jr, Perrault J, Whitcomb DC. Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis Study Group. Journal of the National Cancer Institute 1997; 89: 442-446.

24. Holly EA, Chaliha I, Bracci PM, Gautam M. Signs and symptoms of pancreatic cancer: a population-based case-control study in the San Francisco Bay area. Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2004; 2: 510-517.

25. Chari ST, Leibson CL, Rabe KG, Ransom J, de Andrade M, Petersen GM. Probability of pancreatic cancer following diabetes: a population-based study. Gastroenterology. 2005; 129: 504-11.

26. Greenber RE, Bank S, Stark B. Adenocarcinoma of the pancreas producing pancratitis and pancreatic abscess. Pancreas. 1990; 5: 108-113.

27. Khorana AA, Fine Rl. Pancreatic cancer and thromboembolic disease. The Lancet oncology 2004; 5: 655-663.

28. Monno S, Nagata A, Homma T, Oguchi H, Kawa S, Kaji R, Fruto S. Exocrine pancreatic cancer with humoral hypercalcemia. American Journal of Gastroenterology. 1984; 79: 128-132.

29. Bluemke DA, Cameron JL, Hruban RH, Pitt Ha, Siegelman SS, Soyer P, Fishman EK. Potentially resectable pancreatic adenocarcinoma: spiral CT assessment with surgical and pathologic correlation. Radiology. 1995; 197: 381-385.

30. Kala Z, Valek H, Hlavsa J, Hana K, Vanova A. The role of CT and endoscopic ultrasound in pre-operative staging of pancreatic cancer. European Journal of Radiology. 2007; 62: 166-169.

31. Shani DV, Shah ZK, Catalano CA, Boland GW, Brugge WR. Radiology of pancreatic adenocarcinoma: a current status of imaging. Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2008; 23: 23-33.

32. Gangi S, Fletcher JG, Nathan MA, Christensen JA, Harmsen WS, Crownhart BS, Chari ST. Time interval between abnormalities seen on CT and the clinical diagnosis of pancreatic cancer: retrospective review of CT scans obtained before diagnosis. American Journal of Roentgenology. 2004; 182: 897-903.

33. Sendler A, Avril N, Helmberger H, Stollfuss J, Weber W, Bengel F, Schwaiger M, Roder JD, Siewert JR. Preoperative evaluation of pancreatic masses with positron emission tomography using 18F-fluorodeoxyglucose: diagnostic limitations. World Journal of Surgery. 2000; 24: 1121-9.

34. Lynch HT, Fusaro L, Smryk TC, Watson P, Lanspa S, Lynch JF. Medical genetic study of eight pancreatic cancer-prone families. Cancer İnvestigation. 1995; 13: 141-149.

35. Hruban RH, Petersen GM, Ha PK, Kem SE. Genetics of pancreatic cancer: from genes to families. Surgical Oncology Clinics of North America. 1998; 7: 1-23.

36. Amundadottir LT, Thorvaldsson S, Gudbjartsson DF, Sulem P, Kristjansson K, Arnason S, Gulcher JR, Bjornsson J, Kong A, Thorsteinsdottir U, Stefansson K. Cancer as a complex phenotype: pattern of cancer distribution within and beyond the nuclear family. PLoS Medicine. 2004; 1: e65.

37. Klein AP, Brune KA, Petersen GM, Goggins M, Tersmette AC, Offerhaus GJ, Griffin C, Cameron JL, Yeo CJ, Kern S, Hruban RH. Prospective risk of pancreatic cancer in familial pancreatic cancer kindreds. Cancer Research. 2004; 64: 2634-8.

38. Moskaluk CA, Hruban H, Lietman A, Smyrk T, Fusaro L, Fusaro R, Lynch J, Yeo CJ, Jackson CE, Lynch HT, Kern SE. Novel germline p16 (INK4) allele (Asp145Cys) in a family with multiple pancreatic carcinomas. Mutations in brief no. 148. Online. Human Mutatation. 1998; 12: 70.

39. Whelan AJ, Bartsch D, Goodfellow PJ. Brief report: a familial syndrome of pancreatic cancer and melanoma with a mutation in the CDKN2 tumor-suppressor gene. The New England Journal of Medicine. 1995; 333: 975-977.

40. Schutte M, da Costa LT, Hahn SA, Moskaluk C, Hoque AT, Rozenblum E, Weinstein CL, Bittner M, Meltzer PS, Trent JM. Identification by reprezentational difference analysis of a homozygous deletion in pancreatic carcinoma that lies within the BRCA2 region. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1995; 92: 5950-4.

41. Liede A, Karlan BY, Narod SA. Cancer risks for male carriers of germline mutations in BRCA1 or BRCA2: a review of the literature. Journal of Clinical Oncolology. 2004; 22: 735-42.

42. Couch FJ, Johnson MR, Rabe K, Boardman L, McWilliams R, de Andrade M, Petersen G. Germ line Fanconi anemia complementation group C mutations and pancreatic cancer. Cancer Research. 2005; 65: 383-386.

43. van der Heijden MS, Brody JR, Dezentje DA, Gallmeier E, Cunningham SC, Swartz MJ, DeMarzo AM, Offerhaus GJ, Isacoff WH, Hruban RH, Kern SE. In vivo therapeutic responses contingent on Fanconi anemia/BRCA2 status of the tumor. Clinical Cancer Research. 2005; 11: 7508-7515.

44. Jones S, Hruban RH, Kamiyama M, Borges M, Zhang X, Parsons DW, Lin JC, Palmisano E, Brune K, Jaffee EM, Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Parmigiani G, Kern SE, Velculescu VE, Kinzler KW, Vogelstein B, Eshleman JR, Goggins M, Klein AP. Exomic sequencing identifies PALB2 as a pancreatic cancer susceptibility gene. Science. 2009; 324: 217.

45. Giardiello FM, Brensinger JD, Tersmette AC, Goodman SN, Petersen GM, Booker SV, Cruz-Correa M, Offerhaus JA.Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome. Gastroenterology. 2000; 119: 1447-1453.

46. Watson P, Lynch HT. Extracolonic cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Cancer. 1993; 71: 677-685.

47. Leach FS, Nicolaides NC, Papadopoulos N, Liu B, Jen J, Parsons R, Peltomäki Sistonen P, Aaltonen LA, Nyström-Lahti M. Mutations of a mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Cell. 1993; 75: 1215-1225.

48. Brat DJ, Hahn SA, Griffin CA, Yeo CJ, Kem SE, Hruban RH. The structural basis of molecular genetic deletions. An integration of classical cytogenetic and molecular analyses in pancreatic adenocarcinoma. American Journal of Pathology. 1997; 150: 383-391.

49. Gorunova L, Johansson B, Dawiskiba S, Andren-Sandberg A, Jin Y, Mandahl N. Heim S, mitelman F. Massive cytogenetiv heterogeneity in a pancreatic carcinoma: fifty-four karyotypically unrelated clones. Genes Chromosomes Cancer. 1995; 14: 259-266.

50. Jones S, Zhang X, Parsons DW, Lin JC, Leary RJ, Angenentdt P, Mankoo P, Carter H, Kamiyama H, Jimeno A, Hong SM, Fu B, Lin MT, Calhoun ES, Kamiyama M, Walter K, Nikolskaya T, Nikolsky Y, Hartigan J, Smith DR, Hidalgo M, Leach SD, Klein AP, Jaffee EM, Goggins M, Maitra A, Iacobuzio-Donahue C, Eshleman JR, Kern SE, Hruban RH, Karchin R, Papadopoulos N, Parmigiani G, Vogelstein B, Velculescu VE, Kinzler KW. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. Science. 2008; 321: 1801-1806.

51. Seymour AB, Hruban RH, Retston M, Caldas C, Powell SM, Kinzler KW, Yeo CJ, Kern SE. Alletype of pancreatic adenocarcinoma. Cancer Research. 1994; 54: 2761-2764.

52. Schuttle M, Hruban RH, Geradts J, Maynard R, Hilgers W, Rabindran SK, Moskaluk CA, Hahn SA, Schwarte-Waldhoff I, Schmiegel W, Baylin SB, Kern SE,Herman JG. Abrogation of the Rb/p16 tumor suppresive in virtually all pancreatic carcinomas. Cancer Research. 1997; 57: 3126-3130.

53. Wilentz RE, Geradtz J, Maynard R, Offerhaus GJ, Kang M, Goggins M, Yeo CJ, Kern SE, Hruban RH. Inactivation of the p16 (INK4A) tumor-suppressor gene in

pancreatic duct lessions: loss of intranuclear expression. Cancer Research. 1998; 58: 4740-4744.

54. Redston MS, Caldas C, Seymour AB, Hruban RH, da CL, Yeo CJ, Kern SE. P53 mutations in pancreatic carcinoma and evidence of common involvement of homocopolymer tracts in DNA microdeletions. Cancer Research. 1994; 54: 3025-3033.

55. Hahn SA, Schutte, M, Hoque AT, Moskaluk CA, da Costa LT, Rozenblum E, Weinstein CL, Fischer A, Yeo CJ, Hruban RH, Kern SE. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. Science. 1996; 271: 350-353.

56. Wilentz RE, Su GH, Dai JL, Sparks AB, Argani P, Sohn TA, Yeo CJ, Kern SE, Hruban RH. Immnuhistochemical labeling for dpc4 mirrors genetic status in pancreatic adenocarcinomas: a new marker of DPC4 inactivation. American Journal of Pathology. 2000; 156: 37-43.

57. Goggins M, Shekher M, Turnacioğlu K, Yeo CJ, Hruban RH, Kern SE. Genetic alterations of the transforming growth factor beta receptor genes in pancreatic and biliary adenocarcinomas. Cancer Research. 1998; 58: 5329-5332.

58. Su GH, Hilgers W, Shekher MC, Tang DJ, Yeo CJ, Hruban RH, Kern SE. Alterations in pancreatic, biliary and breast carcinomas support MKK4 as a genetically targeted tumor supressor gene. Cancer Research. 1998; 58: 2339-2342.

59. Su GH, Hruban RH, Bansal RK, Bova GS, Tang DJ, Shekher MC, Westerman AM, Entius MM, Goggins M, Yeo CJ, Kern SE. Germline and somatic mutations of the STK11/LKB1 Peutz-Jeghers gene in pancreatic and biliary cancers. American Journal of Pathology. 1999; 154: 1835-1840.

60. Almoguera C, Shibata D, Forrester K, Martin J, Amheim N, Perucho M. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes. Cell. 1988; 53: 549-554.

61. Day DJ, Digiuseppe JA, Yeo C, Lai-Goldman M, Anderson SM, Goodman SN, Kern SE, Hruban RH. Immunohistochemical evaluation of HER-2/neu expression in

pancreatic adenocarcinoma and pancreatic intraepithelial neoplasms. Human Pathology. 1996; 27: 119-124.

62. Lohr, Klöppel G, Maisonneuve P, Lowenfels AB, Luttges J. Freuquency of K-ras mutations in pancreatic intraductal neoplasias associated with pancreatic ductal adenocarcinoma and chronic pancreatitis: a meta-analysis. Neoplasia. 2005; 7: 17-23.

63. Moll R, Lowe A, Laufer WW. Cytokeratin 20 in human carcinomas. A new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies. American journal of Pathology. 1992; 140: 427-447.

64. Nagata K, Horinouchi M, Saitou M, Higashi M, Nomoto M, Goto M, Yonesewa S. Mucin expression profile in pancreatic cancer and the precursor lesions. Journal of Hepatobiliary Pancreatic Surgery. 2007; 14: 243-254.

65. Terada T, Ohta T, Nakanuma Y. Expression of oncogene products, antioncogene products and oncofetal antigens in intraductal papillary-mucinous neoplasm of the pancreas. Histopathology. 1996; 180: 160-165.

66. Takada M, Yamamoto M, Saitoh Y. The significance of CD44 in human pancreatic cancer: II the role of CD44 in human pancreatic adenocarcinoma invasion. Pancreas. 1994; 9: 753-757.

67. Nielsen FC, Nielsen J, Christiansen J. A family of IGH-II mRNA binding proteins (IMP3) involved in RNA trafficking. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation Suppl. 2001; 234: 93-99.

68. Mueller-Pillasch F, Pohl B, Wilda M, Lacher U, Beil M, Wallrapp C, Hameister H, Knöchel W, Adler G, Gress TM. Expression of the highly conserved RNA binding protein KOC in embryogenesis. Mechanisms of Development. 1999; 88: 95-99.

69. Monk D, Bentley L, Beechey C, Hitchins M, Peters J, Preece MA, Stanier P, Moore GE. Characterisation of the growth regulating gene IMP3, a candidate for Silver-Russell syndrome. Journal of Medical Genetics. 2002; 39: 575-581.

70. Nielson J, Christiansen J, Lykke-Andersen J, Johnsen AH, Wewer UM, Nielson FC. A family of insulin-like growth factor II mRNA-binding proteins represses translation in late develeopment. Molecular ans Cellular Biology. 1999; 19: 1262-1270.

71. Mueller-Pillasch F, Lacher U, Wallrapp C, Micha A, Zimmerhackl F, Hameister H, Varga G, Friess H, Büchler M, Beger HG, Vila MR, Adler G, Gress TM. Cloning of a gene highly overexpressed in cancer coding for a novel KH-domain containing protein. Oncogene. 1997; 14: 2729-2733.

72. Yantiss RK, Woda BA, Fanger GR, Kalos M, Whalen GF, Tada H, Andersen DK, Rock KL, Dresser K. KOC (K homology domain containing protein overexpressed in cancer): a novel marker that distinguishes between benign ad malignant lesions of the pancreas. American Journal of Surgical Pathology. 2005; 29: 188-195.

73. Jiang Z, Lohse CM, Chu PG, Wu CL, Woda BA, Rock KL, Kwon ED. Oncofetal protein IMP3:a novel molecular marker that predicts metastases of papillary and chromophobe renal cell carcinomas. Cancer. 2008; 112: 2676-2682.

74. Jeng YM, Chang CC, Hu FC, Chou HY, Kao HL, Wang TH, Hsu HC. RNA-binding protein insülin like growth factor II mRNA-binding protein 3 expression promotes tumor invasion and predicts early recurrence and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. Hepatology. 2008; 1118-1127.

75. Zheng W, Yi X, Fadare O, Liang SX, Martel M, Schwartz PE, Jiang Z. The oncofetal protein IMP3: a novel biomarker for endometrial serous carcinoma. American Journal of Surgical Pathology. 2008; 32: 304-315.

76. Liao B, Hu Y, Herrick DJ, Brewer G. The mRNA-binding protein IMP-3 is a translational activator of insulin-like growth factor II leader-3 mRNA during proliferation of human K562 leukemia cells. The Journal of Biological Chemistry 2005; 280: 18517-18524.

77. Vikesaa J, Hansen TV, Jonson L, Borup R, Wewer UM, Christiansen J, Nielsen FC. RNA-binding IMPs promote cell adhesion and invadopodia formation. EMBO Journal. 2006; 25: 1456-1468.

78. Hoffmann NE, Sheinin Y, lohse CM, Parker AS, Leibovich BC, Jiang Z, Kwon ED. External validaiton of IMP3 expression as an independent prognostic marker for metastatic progression and death for patients with clear cell renal cell carcinoma. Cancer. 2008; 112: 1471-1479.

79. Sitnikova L, Mendese G, Liu Q, Woda BA, Lu D, Dresser K, Mohanty S, Rock KL, Jiang Z. IMP3 predict agressive superficial urotelial carcinoma of the bladder. Clinical Cancer Research. 2008; 14: 1701-1706.

80. Reiner MO, Fritzsche FR, Clavien PA, Pestalozzi BC, Probst-Hensch N, Jochum W, Kristiansen G. IMP3 expression in lesions of the biliary tract: a marker for high-grade dysplasia and an independent prognostic factor in bile duct carcinomas. Human Pathology. 2009; 40: 1377-1383.

81. Seizinger BR, Smith DI, Filling-Katz MR, Neumann H, Green JS, Choyke PL, Anderson KM, Freiman RN, Klauck SM, Whaley J. Genetic flanking markers refine diagnositic criteria and provide insights into the genetics of Von Hippel Lindau disease. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States. 1991; 88:2864-2868.

82. Sudarshan S, Linehan WM. Genetic bases of the cancer of the kidney. Seminers in Oncology. 2006; 33: 544-551.

83. Lin F, Shi J, Liu H, Zhang J, Zhang PL, Wang HL, Yang XJ, Schuerch C. Immunohistochemical detection of the von Hippel-Lindau gene product (pVHL) in human tissues and tumors: A useful marker for metastatic renal cell carcinoma and clear cell carcinoma of the ovary and uterus. Anatomic Pathology. 2008; 129: 592-605.

84. Becker T, Gerke V, Kube E, Weber K. S100P, a novel Ca (2+) binding protein from human placenta: cDNA cloning, recombinant protein expression and Ca2+ binding properties. European Journal of Biochemistry. 1992; 207: 541-547.

85. Parkkila S, Pan PW, Ward A, Gibadulinova A, Oveckova I, Pastorekova S, Pastorek J, Martinez AR, Helin HO, Isola J. The calcium-binding protein S100P in normal and malignant human tissues. BMC Clinical Pathology. 2008; 8: 2.

86. Iacobuzio-Donahue CA, Ashfaq R, Maitra A, Adsay NV, Shen-Ong GL, Berg K, Hollingsworth MA, Cameron JL, Yeo CJ, Kern SE, Goggins M, Hruban RH. Highly expressed genes in pancreatic ductal adenocarcinomas: a comprehensive characterization and comparison of the transcription profiles obtained from three major technologies. Cancer Research. 2003; 63: 8614-8622.

87. Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Shen-Ong GL, van Heek T, Ashfaq R, Meyer R, Walter K, Berg K, Hollingsworth MA, Cameron JL, Yeo CJ, Kern SE, Goggins M,Hruban RH. Discovery of novel tumor markers of pancreatic cancer using global gene expression technology. American Journal of Pathology. 2002; 160: 1239-1249.

88. Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Olsen M, Lowe AW, van Heek NT, Rosty C, Walter K, Sato N, Parker A, Ashfaq R, Jaffee E, Ryu B, Jones J, Eshleman JR, Yeo CJ, Cameron JL, Kern SE, Hruban RH, Brown PO, Goggins M. Exploration of global gene expression patterns in pancreatic adenocarcinoma using cDNA microarrays. American Journal of Pathology. 2003; 162: 1151-1162.

89. Logsdon CD, Simeone DM, Binkley C, Arumugam T, Greenson JK, Giordano TJ, Misek DE, Kuick R, Hanash S. Molecular profiling of pancreatic adenocarcinoma and chronic pancreatitis identifies multiple genes differentially regulated in pancreatic cancer. Cancer Research. 2003; 63: 2649-2657.

90. Crnogorac-Jurcevic T, Missiaglia E, Blaveri E, Gangeswaran R, Jones M, Terris B, Costello E, Neoptolemos JP, Lemoine NR. Molecular alterations in pancreatic carcinoma: expression profiling shows that dysregulated expression of S100 genes is highly prevalent. The Journal of Pathology. 2003; 201: 63-74.

91. Dowen SE, Crnogorac-Jurcevic T, Gangeswaran R, Hansen M, Eloranta JJ, Bhakta V, Brentnall TA, Lüttges J, Klöppel G, Lemoine NR. Expression of S100P and its novel binding partner S100PBPR in early pancreatic cancer. Am J Pathol. 2005; 166: 81-92.

92. Sato N, Fukushima N, Matsubayashi H, Goggins M. Identification of maspin and S100P as novel hypomethylation targets in pancreatic cancer using global gene expression profiling. Oncogene. 2004; 23: 1531-1538.

93. Arumugam T, Simeone DM, Van Golen K, Logsdon CD. S100P promotes pancreatic cancer growth, survival, and invasion. Clinical Cancer Research. 2005; 11: 5356-5364.

94. Guerreiro Da Silva ID, Hu YF, Russo IH, Ao X, Salicioni AM, Yang X, Russo J. S100P calcium-binding protein overexpression is associated with immortalization of human breast epithelial cells in vitro and early stages of breast cancer development in vivo. International Journal of Oncolology. 2000; 16: 231-240.

95. Beer DG, Kardia SL, Huang CC, Giordano TJ, Levin AM, Misek DE, Lin L, Chen G, Gharib TG, Thomas DG, Lizyness ML, Kuick R, Hayasaka S, Taylor JM, Iannettoni MD, Orringer MB, Hanash S. Gene-expression profiles predict survival of patients with lung adenocarcinoma. Nature Medicine. 2002; 8: 816-824.

96. Bertram J, Palfner K, Hiddemann W, Kneba M. Elevated expression of S100P, CAPL and MAGE 3 in doxorubicin-resistant cell lines: comparison of mRNA differential display reverse transcription-polymerase chain reaction and subtractive suppressive hybridization for the analysis of differential gene expression. Anticancer Drugs. 1998; 9: 311-317.

97. Amler LC, Agus DB, LeDuc C, Sapinoso ML, Fox WD, Kern S, Lee D, Wang V, Leysens M, Higgins B, Martin J, Gerald W, Dracopoli N, Cordon-Cardo C, Scher HI, Hampton GM. Dysregulated expression of androgen-responsive and nonresponsive genes in the androgen-independent prostate cancer xenograft model CWR22-R1. Cancer Research. 2000; 60: 6134-6141.

98. Deng, H, Shi J, Wilkerson M, Meschter S, Dupree W, Lin F. Usefulness of S100P in diagnosis of adenocacinoma of pancreas on fine-needle aspiration biopsy specimens. American Journal of Clinical Pathology. 2008; 129: 81-88.

99. Goulet B, Chan G, Chambers AF, Lewis JD. An emerging role for the nuclear localization of maspin in the suppression of tumor progression and metastasis. Biochemistry and Cell Biology. 2012; 90: 22-38.

100. Blacque OE, Worrall DM. Evidence for a direct interaction between the tumor suppressor serpin, maspin, and types I and II collagen. The Journal of Biological Chemistry. 2002; 27: 10783-10788.

101. Ngamkitidechakul C, Warejcka DJ, Burke JM, O'Brien WJ, Twining SS. Sufficiency of the reactive site loop of maspin for induction of cell matrix adhesion and inhibition of cell invasion. The Journal of Biological Chemistry. 2003; 278: 31796-31806.

102. Bodenstine TM, Seftor REB, Khalkhali-Ellis Z, Seftor EA, Pemperton PA, Hendrix MJC. Maspin: molecular mechanisms and therapeutic implications. Cancer and Metastasis Reviews. 2012; 31: 529-551.

103. Sugimoto S, Maass N, Takimoto Y, Sato K, Minei S, Zhang M, Hoshikawa Y, Junemann KP, Jonat W and Nagasaki K. Expression and regulation of tumor suppressor gene maspin in human bladder cancer. Cancer Letters 2004; 203: 209-215.

104. Ferrucci JT Jr, Wittenberg J, Mueller PR, Simeone JF, Harbin WP, Kirkpatrick RH, Taft PD. Diagnosis of abdominal malignancy by radiologic fine-needle aspiration biopsy. AJR American Journal of Roentgenology. 1980; 134: 323-330.

105. LeBlanc JK, Ciaccia D, Al-Assi MT, McGrath K, Imperiale T, Tao LC, Vallery S, DeWitt J, Sherman S, Collins E. Optimal number of EUS-guided fine needle passes needed to obtain a correct diagnosis. Gastrointestinal Endoscopy. 2004; 59: 475-481.

106. Leiman G. My approach to pancreatic fine needle aspiration. Journal of Clinical Pathology. 2007; 60: 43-49.

107. Yun SS, Remotti H, Vazquez MF, Crapanzano JP, Saqi A. Endoscopic ultrasound-guided biopsies of pancreatic masses: comparison between fine needle aspirations and needle core biopsies. Diagnostic Cytopathology. 2007; 35: 276-282.

108. Conlon KC, Klimstra DS, Brennan MF. Long-term survival after curative resection for pancreatic ductal adenocarcinoma. Clinicopathologic analysis of 5-year survivors. Annals of Surgery. 1996; 22: 273-279.
109. Gall FP, Kessler H, Hermanek P. Surgical treatment of ductal pancreatic carcinoma. European Journal of Surgical Oncology. 1991; 17: 173-181.
110. Ferrone CR, Kattan MW, Tomlinson JS, Thayer SP, Brennan MF, Warshaw AL. Validation of a postresection pancreatic adenocarcinoma nomogram for disease-specific survival. Journal of Clinical Oncology. 2005; 23: 7529-7535.

111. Barugola G, Falconi M, Bettini R, Boninsegna L, Casarotto A, Salvia R, Bassi C, Pederzoli P. The determinant factors of recurrence following resection for ductal pancreatic cancer. Journal of Pancreas. 2007; 8: 132-140.
112. Herman JM, Swartz MJ, Hsu CC, Winter J, Pawlik TM, Sugar E, Robinson R, Laheru DA, Jaffee E, Hruban RH, Campbell KA, Wolfgang CL, Asrari F, Donehower R, Hidalgo M, Diaz LA Jr, Yeo C, Cameron JL, Schulick RD, Abrams R. Analysis of fluorouracil-based adjuvant chemotherapy and radiation after pancreaticoduodenectomy for ductal adenocarcinoma of the pancreas: results of a large, prospectively collected database at the Johns Hopkins Hospital. Journal of Clinical Oncology. 2008; 26: 3503-3510.
113. Lüttges J, Vogel I, Menke M, Henne-Bruns D, Kremer B, Klöppel G. The retroperitoneal resection margin and vessel involvement are important factors determining survival after pancreaticoduodenectomy for ductal adenocarcinoma of the head of the pancreas. Virchows Archiv. 1998; 433: 237-242.
114. Trede M, Schwall G, Saeger HD. Survival after pancreatoduodenectomy. 118 consecutive resections without an operative mortality. Annals of Surgury. 1990; 211: 447-458.
115. Lüttges J, Schemm S, Vogel I, Hedderich J, Kremer B, Klöppel G. The grade of pancreatic ductal carcinoma is an independent prognostic factor and is superior to the immunohistochemical assessment of proliferation. Journal of Pathology. 2000; 191: 154-161.

116. Mitsunaga S, Hasebe T, Kinoshita T, Konishi M, Takahashi S, Gotohda N, Nakagohri T, Ochiai A. Detail histologic analysis of nerve plexus invasion in

invasive ductal carcinoma of the pancreas and its prognostic impact. American Journal of Surgical Pathology. 2007; 31: 1636-1644.

117. Tascilar M, Skinner HG, Rosty C, Sohn T, Wilentz RE, Offerhaus GJ, Adsay V, Abrams RA, Cameron JL, Kern SE, Yeo CJ, Hruban RH, Goggins M. The SMAD4 protein and prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma. Clinical Cancer Research. 2001; 7: 4115-4121.

118. Shimamura T, Sakamoto M, Ino Y, Sato Y, Shimada K, Kosuge T, Sekihara H, Hirohashi S. Dysadherin overexpression in pancreatic ductal adenocarcinoma reflects tumor aggressiveness: relationship to e-cadherin expression. Journal of Cliical Oncology. 2003; 21: 659-667.

119. Eser SY, Karakılınç H. Türkiye'de kanser insidansı. Tuncer AM ed. Türkiye'de kanser kontrolü, Koza Matbaacılık, Ankara, 2009; 35-50.

120. Brandt KR, Charboneau JW, Stephens DH, Welch TJ, Goellner JR. CT- and US-guided biopsy of the pancreas. Radiology. 1993; 187: 99-104.

121. Fekete PS, Nunez C, Pitlik DA. Fine-needle aspiration biopsy of the pancreas: a study of 61 cases. Diagn Cytopathol. 1986; 2: 301-306.

122. Giovannini M, Seitz JF, Monges G, Perrier H, Rabbia I. Fine-needle aspiration cytology guided by endoscopic ultrasonography: results in 141 patients. Endoscopy. 1995; 27: 171-177.

123. Shi J, Liu H, Wang HL, Prichard JW, Lin F. Diagnostic utility of von Hippel-Lindau gene product, maspin, IMP3, and S100P in adenocarcinoma of the gallbladder. Human Pathology. 2013; 44: 503-511.

124. Lin F, Shi J, Liu H, Hull ME, Dupree W, Prichard JW, Brown RE, Zhang J, Wang HL, Schuerch C. Diagnostic utility of S100P and von Hippel-Lindau gene product (pVHL) in pancreatic adenocarcinoma-with implication of their roles in early tumorigenesis. American Journal of Surgical Pathology. 2008; 32: 78-91.

125. Gandou C, Harada K, Sato Y, Igarashi S, Sasaki M, Ikeda H, Nakanuma Y. Hilar cholangiocarcinoma and pancreatic ductal adenocarcinoma share similar histopathologies, immunophenotypes, and development-related molecules. Human Pathology. 2013; 44: 811-821.

126. Ligato S, Zhao H, Mandich D, Cartun RW. KOC (K homology domain containing protein overexpressed in cancer) and S100A4-protein immunoreactivity improves the diagnostic sensitivity of biliary brushing cytology for diagnosing pancreaticobiliary malignancies. Diagnostic Cytopathology. 2008; 36: 561-567.
127. Yantiss RK, Cosar E, Fischer AH. Use of IMP3 in identification of carcinoma in fine needle aspiration biopsies of pancreas. Acta Cytologica. 2008; 52: 133-138.
128. Zhao H, Mandich D, Cartun RW, Ligato S. Expression of K homology domain containing protein overexpressed in cancer in pancreatic FNA for diagnosing adenocarcinoma of pancreas. Diagnostic Cytopathology. 2007; 35: 700-704.
129. Levy M, Lin F, Xu H, Dhall D, Spaulding BO, Wang HL.S100P, von Hippel-Lindau gene product, and IMP3 serve as a useful immunohistochemical panel in the diagnosis of adenocarcinoma on endoscopic bile duct biopsy. Human Pathology. 2010; 41: 1210-1219.

130. Oh YL, Song SY, Ahn G. Expression of maspin in pancreatic neoplasms: application of maspin immunohistochemistry to the differential diagnosis. Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology. 2002; 10: 62-66.
131. Ohike N, Maass N, Mundhenke C, Biallek M, Zhang M, Jonat W, Lüttges J, Morohoshi T, Klöppel G, Nagasaki K. Clinicopathological significance and molecular regulation of maspin expression in ductal adenocarcinoma of the pancreas. Cancer Letters. 2003; 199: 193-200.
132. Cao D, Zhang Q, Wu LS, Salaria SN, Winter JW, Hruban RH, Goggins MS, Abbruzzese JL, Maitra A, Ho L. Prognostic significance of maspin in pancreatic ductal adenocarcinoma: tissue microarray analysis of 223 surgically resected cases. Mod Pathol. 2007; 20: 570-578.