



TC.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İZMİR ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ
EĞİTİM SORUMLUSU: Prof. Dr. Fulya ÇAKALAĞAOĞLU

FEOKROMASİTOMALARDA HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELER VE KI-67
PROLİFERASYON İNDEKSİ İLE PROGNOZ KORELASYONU
VE
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRLEYİCİLERİN
TANISAL DEĞERİ

Dr. İRFAN ÖCAL

UZMANLIK TEZİ

2012- İZMİR



TC.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İZMİR ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ
EĞİTİM SORUMLUSU: Prof. Dr. Fulya ÇAKALAĞAOĞLU

FEOKROMASİTOMALARDA HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELER VE KI-67
PROLİFERASYON İNDEKSİ İLE PROGNOZ KORELASYONU
VE
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRLEYİCİLERİN
TANISAL DEĞERİ

Dr. İRFAN ÖCAL
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: Uzm. Dr. ARZU AVCI

2012 - İZMİR

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve bana her konuda destek olan eğitim sorumlusu Prof. Dr. Fulya Çakalağaoğlu'na, eğitim görevlisi Doç. Dr. Mine Tunakan'a, eğitim görevlisi Uzm. Dr. Neşe Ekinci'ye, tez danışmanım Uzm. Dr. Arzu Avcı'ya, eğitimimdeki katkılarından dolayı bölümümüz başasistan ve uzman doktorlarına, asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarıma, laboratuvarımızda görev yapan tüm teknisyen ve sekreterlere, benden sevgi ve desteklerini esirgemeyip hayatım boyunca hep yanımda olan aileme ve eşime teşekkür ederim.

Şubat 2012

Dr. İrfan ÖCAL

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Önsöz.....	I
İçindekiler.....	II
Kısaltmalar.....	III
1. Giriş ve Amaç.....	1-3
2. Genel Bilgiler.....	4-27
3. Gereç ve Yöntem.....	28-32
4. Bulgular.....	33-49
5. Tartışma ve Sonuç.....	50-54
6. Özet.....	55
7. Summary.....	56
8. Kaynaklar	57-70

KISALTMALAR

PASS: Pheochromocytoma İn Adrenal Gland Scalled Score

BBA: Büyük Büyütme Alanı

ACTH: Adrenokortikotropik Hormon

VCI: Vena kava inferior

A: Arter

DHEA: Dehidroepiandrosteron

CRH: Kortikotropin Salgılatıcı Hormon

DOPA: Di Hidro Fenilalanin

MAO: Monoaminoksidaz

COMT: Katekol O-Metiltransferaz

VMA: Vanil Mandelik Asit

VHL: Von Hippel Lindau

NF-1: Nörofibromatozis Tip 1

BT: Bilgisayarlı Tomografi

MR: Manyetik Rezonans

MIBG: Meta-İodobenzil-Guanidine

PAS: Periodik Asit Schiff

OD: Otozomal Dominant

Rb: Retinoblastom geni

HE: Hematoksilen-Eozin

EMA: Epitelyal Membran Antijen

WHO: World Health Organization

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Etiyolojisi tam olarak açıklığa kavuşturulamamış bir neoplazi olan feokromositoma genellikle katekolamin ve bazı durumlarda peptid hormonları sentezleyen, nöral krestten köken alan adrenal medulladaki kromafin hücreler olarak da bilinen, sempatogonialardan gelişen feokromatoblastlardan gelişen feokromatositlerden köken almaktadır. Bu gelişim diferansiyasyonun her aşamasında meydana gelebilmektedir (1, 2, 3).

Feokromositoma ilk kez 1886'da Frankel tarafından tanımlanmıştır (4). Feokromositoma için adrenalectomi, ilk kez 1926'da, ABD'de Charles Mayo ve İsviçre'de Roux tarafından gerçekleştirilmiştir (5).

Nadir görülen tümörlerden olan feokromositomaların 2/3'ünden fazlası fonksiyonel ve semptomatik olan, genellikle hipertansif krizlerle kendini gösteren, %80-90 oranında benign gidişli, çoğunlukla iyi yapılmış total cerrahi ile tam iyileşme sağlanan tümörlerdir (6, 7).

Feokromositomaların geliştiği kromafin hücreler, fetal hayatta tüm vücutta yaygın olarak görülür. Feokromositoma adrenal medullanın sempatik paraganglioması olarak adlandırılabilir (1, 3, 7). Bununla beraber feokromositoma, paraganglioma ailesinin en iyi bilinen ve daha sık görülen üyesidir. Ekstraadrenal feokromositoma terimi geleneksel olarak mesanede ve Zuckerkandl organında gelişenler gibi fonksiyonel olan ve/veya ortosempatik (parasempatik yerine) sistemle bağlantılı olan extraadrenal paragangliomalar için kullanılmaktadır. Bazı otörler, günümüzde, bu terimleri kullanmaktan kaçınmanın faydalı olacağı görüşünde olup, adrenal medullada gelişenlerin feokromositoma, adrenal medulla dışındaki ganglionlardan gelişen tümörlerin ise paraganglioma olarak isimlendirilmesini benimsemektedir (7).

Bu tümörlerin klinik özellikleri (salgıladıkları hormanlara bağlı olarak) ve patolojik görünümleri benzer özelliktedir. Feokromositomaların 2/3'ünden fazlası fonksiyonel ve semptomatiktir (6). Semptomlar genellikle dolaşımdaki katekolaminlerin (özellikle baskın olarak epinefrin) salınımlarına ve bunların alfa ve beta-adrenerjik reseptörleri ile uyarılmalarına bağlıdır. Baskın klinik özellik hipertansiyondur. Klasik olarak epizodik periyotlar halinde ani başlayan zonklama şeklinde baş ağrısı, terleme, çarpıntı, anksiyete gibi semptomlar ile birlikte ani ve hızlı yükselen kan basıncı şeklindedir. Bu bulgulara göğüs ağrısı, abdominal ağrı, bulantı

ve kusma eşlik edebilir. Bazı kaynaklarda terleme atakları, taşikardi ve başağrısı triadı feokromositoma için hemen hemen tanı koydurucu triad olarak kabul edilir (7).

Tarihsel feokromositoma (Yunanca phaios: Koyu ve chroma: Renkli tümör) terimi tümörün kromat tuzları (kromafin reaksiyonu) ile ya da diğer zayıf oksidan ajanlar ile temasından sonra renginin koyulaşmasından gelmektedir (3, 8).

ABD'de feokromositoma görülme sıklığı yılda 8/1.000.000'dur (9). Feokromositoma bazen otopsi esnasında da bulunabilir: Son 50 yılda yapılan 40078 otopsinin 41 tanesinde hiçbir klinik şüphe olmayan feokromositoma bulunmuştur. Feokromositoma, klinik olarak şüphe edilmeyen bu tümör nedeniyle görülen ölüm olgularının muhtemelen %75'inden sorumlu olabilir (10, 11).

Genel olarak feokromositomalar üzerindeki çalışmalar mutasyonlar, proliferasyon markerları ve son zamanlarda malignite açısından faydalı olabilecek histolojik parametreler ve bu parametrelerin değişik kombinasyonları, bu kombinasyonların malignite ile korelasyonu üzerine yoğunlaşmaktadır. Bu nedenle bu tümörlerin mutasyonları belirlenmeye ve bu mutasyonların tümörün tanısı açısından önemi ortaya koymaya çalışılmakta, bunun yanı sıra histolojik parametrelerin standart bir kombinasyon altında birleştirilmesine çalışılmaktadır. Bu bağlamda Pheochromocytoma In Adrenal Gland Scalled Score (PASS) adı altında bazı histolojik parametreler belirlenmiştir (17)(Tablo 2). Bunlar:

- 1) Kapsül invazyonu
- 2) Vasküler invazyon
- 3) Periadrenal yağ dokuya uzanım
- 4) Genişlemiş ve birbirleri ile birleşen yuvalar
- 5) Diffüz büyüme
- 6) Nekroz
- 7) Artmış hücresellik
- 8) Tümör hücrelerinde içsileşme
- 9) Pleomorfizm
- 10) Hücresel monotonlaşma (küçük ve yüksek nükleositoplazmik oranı olan hücreli)
- 11) Nükleer hiperkromazi
- 12) Makronükleol
- 13) Artmış mitotik figür

- 14) Herhangi atipik mitotik figür
- 15) Hyalin globül yokluğu

olarak belirlenmiştir.

Burada vasküler invazyon, kapsül invazyonu, nükleer pleomorfizm ve hiperkromazi gibi histolojik parametrelere skorlamada 1 puan verilmiş olup bu parametreler dışında kalan; peridrenal yağ dokuya invazyon, geniş yuvalar ya da diffüz büyüme, fokal ya da konfluent nekroz, artmış hücresellik, tümör hücrelerinde içsileşme, hücresel monotonluk, artmış mitotik figür (>3/10 Büyük Büyütme Alanı (BBA)), atipik mitotik figür gibi parametrelere ise skorlama sisteminde 2 puan verilmiştir. PASS sisteminin, tümörün agresif davranma potansiyeli (PASS>yada=4) veya benign davranma potansiyeli (PASS<4) açısından yardımcı olacağı yönünde çalışmalar yapılmıştır (12, 13, 14, 15).

Yine bazı çalışmalarda Ki-67 (MIB-1) gibi proliferasyon markerlarının prognoz ile ilişkisi yer bulmuştur. Bu çalışmalar MIB-1 değerlendirmesinin malign gidişi belirlemede faydasını desteklemiştir. Değerlendirme için yapılan çalışmalarda en yoğun hücre alanında 3 eşik değer verilmiştir: >%2 (16), >%10 (17) ve >20 hücre/200 büyütme alanında (18). İki çalışmada eşik değeri %2 ve %3 olan yüksek değerler sadece %50 sensitivite ile maligniteleri kanıtlanmış tümör tanımlanmıştır (19, 20).

Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmada, 2006 ile 2011 yılları arasında hastanemizde opere edilen toplam 22 feokromositoma olgusunda tanısal ve prognostik önemi olan histopatolojik parametrelerin, PASS skorlama sisteminin, bunun yanı sıra Ki-67 proliferasyon indeksinin prognoz açısından yol gösterici olabilme özelliğini incelemeyi planladık.

2. GENEL BİLGİLER

Tarihçe

1563'te ilk defa Bartolomeo Eusthachia tarafından, daha sonra 1713'de Lancisi tarafından, sürrenal bezlerden bahsedildiği bildirilmiştir (21, 22). Sürrenal bezler, ölümden sonra hızlı şekilde otoliz olarak otopside kapsül şeklinde kalmasından dolayı 17-19. yüzyılda suprarenal kapsül olarak adlandırılmıştır (23). Bugün kullanılan suprarenal veya adrenal bez isimleri, bezlerin anatomik yerleşimini tanımlamaktadır. 1805 yılında Cuvier tarafından adrenal bezler anatomik olarak korteks ve medulla diye iki anatomik bölgeye ayrılmıştır (24). Thomas Addison'un 1855'te yayınladığı destrüksiyon olmuş adrenal bezlerdeki gözlemlerine kadar, adrenal bezlerin fonksiyonları ve hayat için esansiyel olduğu bilinmemekteydi (25). Bundan sonra bu organın önemi kavranmış ve tüm dünyada fonksiyonlarının araştırılmasına dikkat çekilmiştir. Birçok hayvan türlerinde adrenaletomi yapan Brown-Sequard'ın 1856'daki deneysel çalışmaları ile sürrenal bezin hayat için gerekli olduğu ortaya konmuştur (22).

Feokromositoma terimi (Yunanca phaios: Koyu ve chroma: Renk) ilk kez 1886'da Frankel tarafından kullanılmıştır (24). 1894 yılında Pawlik tarafından sürrenal kist için ilk ameliyat gerçekleştirilmiştir. 1889'da Knowsley-Thornton tarafından büyük bir adrenal tümörün çıkarılması ile ilk başarılı adrenaletomi gerçekleştirilmiştir (23). İlk kez feokromositoma için adrenaletomi, 1926'da, ABD'de Charles Mayo tarafından, İsviçre'de Roux tarafından gerçekleştirilmiştir (26). 1895'de George Oliver ve Edward Sharpey-Schafer isimli 2 İngiliz fizyolog adrenal medullada adrenalini adını verdikleri, köpeklerde kan basıncını yükselten maddeyi göstermiştir. İki yıl sonra John Abel bu maddeyi saflaştırdıktan sonra aktif bölümüne epinefrin adını vermiştir (27).

1913'de Turney ve 1926'da Parkes-Weber tarafından bir adrenal tümörün sebep olduğu Cushing sendromu bildirilmiştir. 1932'de Harvey Cushing bilateral adrenal kortikal hiperplazili hastalarda, glukokortikoid fazlalığı sendromunu tanımlamıştır (22). 1926 yılında Vaquez ve Donzolet tarafından feokromositomanın ilk klinik tanısı yapılmıştır. 1929'da Pincoffs, sürrenal tümörü olan bir hastada ameliyat öncesi feokromositomanın tanısını doğru olarak saptamış ve bu hastanın ameliyatını Shipley, başarıyla uygulamıştır (28). 1908-1940 yılları arasındaki araştırmalarda sürrenal korteksin metabolizmada düzenleyici rolü olduğu ve glukokortikoid fonksiyonunun yaşam için gerekli olduğu vurgulanmıştır (22, 29).

1937'de Ingle ve Kendall hipofiz üzerinde sürrenal hormonların negatif feed-back etkisi olduğunu göstermişlerdir (22). Bundan kısa bir süre sonra adrenokortikotropik hormon (ACTH) tanımlanmış ve 1943'de saf olarak elde edilmiştir (22). "Kortizon" terimini ilk defa Kendall kullanmıştır (29). 1950'de Deming ve Luetscher insan idrarında sodyum iyonunu tutan bir faktör saptamışlardır. Daha sonra aldosteron adını verdikleri bu faktör, 1952'de Simpson ve arkadaşları tarafından izole edilip gösterilmiştir. 1955 yılında Conn, halsizlik ve hipertansiyonu olan bir hastada, kanda potasyum iyonunun düşük ve sodyum iyonunun yüksek olduğunu tespit etmiştir. Bunun üzerine hastada aldosteron salgılayan tümör olduğu düşünülerek ameliyat edilmiş ve sağ sürrenal bezde tümör olduğu saptanmıştır. Ameliyat sonrası hastanın kliniği tamamen düzelmiştir. Conn, bu sendroma "primer hiperaldosteronizm" adını vermiştir (30).

Adrenal Bezin Embriyolojisi

Sürrenal bezlerin % 90'ını korteks, % 10'unu medulla oluşturur (31). Sürrenal korteks ve medullanın orijini farklıdır. Adrenal korteks mezoderm orijinlidir. 14 ve 15. gestasyonel haftadan itibaren mezenter kök ve ürogenital çıkıntı arasındaki mezenkimal hücrelerden gelişir. Korteks iki parçadan oluşur. Kalın fetal korteks, daha sonra adult korteksini oluşturacak olan ince fetal korteks hücre tabakası tarafından sarılmıştır. Sürrenal korteks gestasyonel hayatın 4-6. haftalarında çöлом epitelinden gelişir. Bu hücreler suprarenal bölgede çoğalırlar. Yedinci haftada nöral tüpten kaynaklanan ektodermal hücreler (feokromoblastlar) paravertebral, paraaortik ve aortik bifurkasyon hizasında çoğalırlar. Bu hücrelerin bir kısmı suprarenal bölgeye göç ederler.

Doğumdan sonra fetal korteks hızla dejenere olur ve yetişkin korteks prolifer olmaya başlar. Fetal korteks yaşamın ilk yılında tamamen kaybolurken, adult korteks 12 yılda tamamen değişir. Ektopik adrenokortikal doku adrenal bezlere yakın yerleşimli veya ürogenital çıkıntı ile alakalı olarak yenidoğan infantlarda yaygındır. Bu doku hayatın birkaç haftasında atrofiye uğrayarak kaybolur fakat adrenogenital sendrom veya herhangi ACTH stimülasyonunda devamlılığını sürdürür (26). Adrenal medulladaki kromafin hücreler nöroektodermden köken alır.

Gestasyonun 2. ayında nöral krest hücreleri fetal kortekse göç ederek istila ederler. Medullayı oluşturacak ektodermal hücrelerin etrafı, korteksi oluşturacak

mezodermal hücreler tarafından sarılır. Fetal hayatın 4. ayında adrenal bezler böbreklerin 3-4 katı boyutlarındadır. Bu tarihten sonra küçülmeye başlarlar ve küçülme doğumdan sonra bir yaşına kadar sürer (28, 31, 32).

Korteks ve medulla, hücrelerin göçü esnasında bazen ayrı ayrı birçok yerde aksesuar hücre toplulukları oluşturur. Bu hücre toplulukları özellikle böbrek hizasındaki paraaortik ganglionlarda, aortun inferior kısmında, mediastende, mesanede, vajinal bölgede görülür. Adrenokortikal kalıntılara ise en sık olarak sürrenal bezler çevresinde, böbrek içinde, overde, over pedikülünde ve testisde rastlanır.

i. Anormal lokalizasyonlu sürrenal korteksin metastatik karsinom veya Cushing sendromunda yapılan adrenaektomiden sonra bu kaynaklardan sürrenal aktivitenin devam edebilmesi,

ii. Anormal lokalizasyonlu normal bezlerin nefrektomi sırasında çıkarılmasıyla sürrenal yetmezlik gelişebilmesi,

iii. Aksesuar ve heterotopik sürrenal dokuda neoplastik oluşumlar ortaya çıkabilmesi, klinik olarak önemli prezentasyonlardır.

Boyun, toraks, abdomen ve pelvisteki sempatik pleksus ve zincirler, baş ve boyundaki kranial sinirler ve arteriyel damarlara komşu olarak göç eden sempatik nöronlar aynı prekürsörden köken alırlar (34). Abdominal preaortik sempatik pleksus ve paravertebral sempatik zincirdeki bazı hücreler, primitif adrenal medüller hücreleri oluşturmak için farklılaşırlar. Bunların birçoğu doğumdan sonra dejenere olur, fakat bu durum kromafin cisim veya paraganglia olarak nitelendirilen ektopik medüller doku için geçerli değildir (35). Zuckerkandl organları; inferior mezenterik arter kökü ve aortik bifurkasyondaki küçük medüller dokulardır. Bu tabaka, doğumda belirgindir ve doğumdan sonraki 3. yılda, dejenere olmadan önce büyür. Feokromositomaların %10-20'si en sık ektopik bölgelerden Zuckerkandl organından gelişir. Bu nöral krest orijinli hücrelerden, aynı zamanda malign nöroblastomlar veya angionöroblastomlar (kısmen diferensiyel nöroblastomlar) ve benign ganglionöroblastomlar da gelişir. Tüm bu nöral krest orijinli tümörlerin insidansı çocuklarda yetişkinlere göre daha sıktır.

Histoloji

Sürrenal bez; korteks ve medulla olarak isimlendirilen 2 kısımdan oluşmaktadır. Korteks ve medulla, anatomik, embriyolojik, histolojik ve fonksiyonel özellik olarak birbirinden farklıdır. Sürrenal bezin kesitinde, dış tarafta korteks, iç tarafta medulla vardır. Korteksi fibröz bir kapsül örter ve bu kapsülü damarlar delip geçtiği için kapsül bezden ayrılamaz (28).

Normal sürrenal korteks, bol miktarda lipokrom pigmenti ve bazı yerlerinde serbest kolesterol, kolesterol esterleri, trigliseridler ve fosfolipidler gibi steroid prekürsörleri içerdiğinden sarı-kahve renklidir (36).

Korteks

3 ayrı bölümden oluşur:

i. Zona glomeruloza: Korteksin yaklaşık %10-15'ini oluşturur. Zona glomerulozada pake yapmış gruplar ve kümeler halinde kübik ve silendirik hücreler bulunur. Bu hücrelerin çekirdekleri koyu renkte boyanır ve sitoplazmalarında birkaç lipid damlacığı bulunur. Ultrastrüktürel olarak en belirgin özelliği ise düz endoplazmik retikulumun ağ şeklindeki yapısıdır. Mitokondri ise iplikli yapıda olup, diğer organlardaki gibi lamelsi kristallere sahiptir (36).

ii. Zona Fasikülata: Korteksin %80'ini oluşturur. Zona glomerulozadaki hücrelerden biraz daha büyük, merkezi koyu boyanan çekirdeklere ve ince vakuollerle dolu sitoplazmaya sahip, çok kenarlı hücreler içeren kordonlardan oluşmuştur. Vakuoller içindeki lipidler daha çok kolesterol ve kolesterol esterleridir. Bunlar parafin kesitlerinde erirler. Bu hücreler, bazıları tarafından "berrak hücre" (clear cell) olarak adlandırılmıştır. Zona fasikülata hücrelerinde, çok ince düz endoplazmik retikulum, yığınlar halinde granüler endoplazmik retikulum ve golgi cisimciği mevcuttur. Buradaki mitokondrilerin sayıları az olup, boyutları ve şekilleri değişkendir.

Kolesterolün fazla miktarda depolanması, steroid hormonlarının biyosentezine hazırlık olarak yorumlanmıştır. Stres altında olmayan bireyde, fasikülata hücreleri lipidden zengindir. Stres altında olanlarda ise lipid miktarında azalma vardır (36).

iii. Zona Retikularis: Korteksin %5'ini oluşturur. Zona retikulariste birbirine paralel kordonlar ve medullaya dayanan düzensiz yığınlar vardır. Bu hücreler temel olarak fasikülataadaki hücrelere benzerdir. Asidofiliktir ve hipokrom pigmentini fazlaca

içermelerine rağmen sitoplazmalarında vakuol yoktur. Bundan dolayı bu hücelere kompakt veya koyu (compact veya dark) hücreler denir. Bu hücelerde düz endoplazmik retikulum sayısı çöktür (36). Zona fasikülata ve zona retikularis, glukokortikoid ve seks steroidlerini sentez ederek salgılayan tek bir fonksiyonel birimdir.

Medulla

Bağ dokusu, geniş kan sinüsleri ve bunların arasındaki kalın hücre kordonlarından oluşmuştur. Vücudun en büyük epinefrin kaynağıdır.

Embriyolojik olarak kromafin hücreler (feokromositler), otonomik ganglion hücrelerine ve sürrenal dışı paraganglionik hücelere dönüşebilen primitif nöroektodermal hücelerden kaynaklanır (36). Kromafin hücre, kahverengi intrasitoplazmik granüllerle karakterizedir. Bu granüller içinde katekolaminler depo edilmiştir. Başlıca katekolamin epinefrin olmakla beraber norepinefrin 1/5 veya 1/6 oranında bulunur (31, 36).

Anatomi

Sürrenal bezler, retroperitoneal olarak, böbreklerin üst iç yanında bulunurlar (29, 31, 37). Kolumna vertebralisin her iki yanında 11. torasik ve 1. lomber vertebranın laterallerinde, perirenal fasya ve perirenal yağ dokusu ile çevrilmiş olarak yerleşirler (31, 38).

Her bezin ortalama ağırlığı 4-6 gr, eni 2-3 cm ve uzunluğu 4-6 cm'dir (39). Stres sonrası, ACTH sekresyonu nedeniyle sürrenal bezlerin bu boyutlarında değişim gözlenebilir (29).

Sağ sürrenal bez, sola göre daha yüksekte ve daha dış tarafta lokalizedir. Vena cava inferiora (VCI) yakın yerleşimli ve karaciğerin çıplak alanı ile daha sıkı temas halinde olup, şekil olarak üçgene benzer. Sol sürrenal bez ise, sağ sürrenal beze göre biraz daha uzun ve geniş olup, şekil olarak yarım aya benzer ve abdominal aortaya çok yakındır (29, 31, 32).

Sürrenal bezler nodüler yapıda olup perirenal dokudan daha sert kıvamdadırlar (29). Sürrenal bezler korteks ve medulla olmak üzere iki kısımdan oluşur. Korteks parlak sarı renkte olup medulla kırmızı-kahve renklidir. Sürrenal bezin bir fibröz kapsülü ve bunun çevresinde areolar doku mevcuttur ve solunumla yer

değiştirmezler. Mikroskopik incelemede, kalın kapsül ve 3 konsantrik katmandan (zona glomeruloza, zona fasikulata ve zona retikularis) oluşan korteks ve iyi damarlanmış medulla görülebilir (29).

Komşuluklar:

Ön Yüz: Bu yüzde bezin eksenine uygun olarak eğik durumda hilus adını alan bir oluk bulunur; bu olukta sürrenal bezin damarları vardır. Bundan dolayı sağda ve solda komşuluğu farklıdır. Sağda VCI, duodenumun birinci ve ikinci parçası, karaciğerin alt yüzü; solda ise pankreas kuyruğu, dalak damarları ve midenin ön yüzü ile komşuluk gösterir. Genellikle karaciğerin arkasında bulunan anterior yüzeyin lateral kısmı, bazen periton ile sarılmıştır. Posterior yüzey diafragma ve sağ böbreğin üst ucu ile temastadır (40, 41). Anterior yüzey, bursa omentalisin peritonu tarafından sarılmıştır.

Arka yüz: Arka yüz diyafragmaya dayalıdır. Diyafragma, arka yüzü, 11-12. torasik ve 1. lomber vertebrayı frenikokostal sinüsten ayırır.

İç kenar: Pleksus solarisin yanısıra, solda aort, aşağıda VCI ile komşudur.

Medial sınır: Sol çölyak ganglion, sol inferior frenik arter ve sol gastrik artere doğru uzanır.

Dış kenar: Böbreğin üst ucunun iki kenarı ile komşuluk gösterir.

Alt uç: Böbrek damarları ile komşudur.

Üst uç: Diyafragma ile komşudur.

Damarlar

Arterler

Kanlanması, değişik yerlerden çıkan 3 grup arter ile olur.

i. Superior Adrenal Arter: A. frenika inferiordan çıkar. Yaklaşık 7 dalı olup bezin üst ve iç kısmında dağılır.

2. Medial Adrenal Arter: Aorttan çıkar. 1-2 dalı olup bezin orta bölümünün kanlanmasını sağlar.

3. Inferior Adrenal Arter: Renal arterden çıkar ve bezin alt tarafını besler (29, 32).

Ayrıca interkostal arterlerden, sol ovaryan veya sol internal spermatic arterlerden küçük dallar gelebilir. Bu küçük dallar medullayı direk olarak besler fakat

damarların birçoğu kortekste sinuzoidal kapiller ağ oluşturur ve medüller venleri oluşturmak için medullayı kısa venler ile geçer (40, 41). Arterlerin anatomik değişiklikleri çok sıktır.

Venler

Sürrenallerin bütün kanı santral vende toplanarak sürrenal bezin ön yüzünden çıkar. Hilustan ayrılan tek suprarenal ven, venöz drenajda ağırlıklı olarak yer alır.

Hilus, sol tarafta bezin medial alt köşesinde yer alırken, sağ tarafta medial sınırında yer alır.

i. Sağ adrenal ven sadece 5 mm uzunlukta olup direk olarak VCI'a dökülür.

ii. Sol adrenal ven, v. frenika inferior ile birleşerek, sol renal vene dökülür.

Venlerin de anatomik değişiklikleri sıktır. Küçük aksesuar venler nadir değildir ve bu venler inferior frenik, renal ve portal venlere drene olurlar.

Lenfatikler

Lenfatikler daha çok kapsülü drene ederler. Kortikal ve meduller parankimde lenfatik yoktur. Lenfatik drenaj, bölgesel lenf nodülleri aracılığıyla duktus torasikusa veya direkt olarak sisterna şiliye olur. Lenfatik drenaj esas olarak paraaortik ve lomber, gövde ve göğüs kanalındaki parakaval lenf düğümlerine doğrudur.

Sinirler

Sürrenal bezlerin innervasyonu otonom sinir sistemi yoluyla. Sempatik preganglionik lifler aşağı torasik ve üst lomber hücrelerin aksonlarından oluşurlar.

Parasempatik lifler ise arka vagal trunkusun çölyak dalından gelirler (17).

Sürrenal bezlerin sempatik sinirden beslenmesi zengindir. Bunlar omurgada T3 ve L3 arasından köken alırlar ve hilumdan adrenal medullaya girerler. Bu preganglionik sempatik lifler feokromasitlerdeki sinaptik bağlantıyı keserler ve epinefrin salınımını kontrol ederler. Vagal sinir, parasempatik sinirler olarak çölyak ganglion aracılığıyla medulladan girer.

Adrenal korteksin ise sadece vazomotor sinir beslenmesi vardır.

Adrenal Fizyoloji

Sürrenal korteks, salgıladığı hormonlar nedeniyle organizma için çok gerekli bir dokudur. Korteksin yokluğunda ölüm doğal bir sonuçtur.

Adrenal korteks; plazma kolesterolünden glukokortikoidler, mineralokortikoidler ve seks steroidleri olmak üzere 3 tip steroid hormon sentezler.

- i. Zona glomerülozadan aldosteron,
- ii. Zona fasikulatadan glukokortikoidler,
- iii. Zona retikularisten androjenik steroidler salgılanır.

Glukokortikoidlerin karbonhidrat, protein ve yağ metabolizması üzerine geniş etkileri vardır. Mineralokortikoidler sodyum dengesinde ve ekstrasellüler sıvı hacminin devamlılığında gereklidir. Seks steroidleri normal bireylerde sadece küçük etkileri vardır ve steroidogenezisin yan ürünü olarak kabul edilebilir.

İki tane yapısal tip adrenokortikal steroid vardır. C21 steroidleri; siklopentanoperhidropentren çekirdeğinin 17. ve 19. karbonuna bağlanmış 2 karbon yan zincirinden, C19 steroidleri ise C17 pozisyonuna bağlanan keto veya hidroksi grubundan oluşur. C19 steroidlerinin androjen aktivitesi bulunmakta iken C21 steroidlerinin hem glukokortikoid hem de mineralokortikoid aktivitesi vardır. C21 steroidleri etki tiplerine göre glukokortikoidler veya mineralokortikoidler olarak sınıflandırılır. Glukokortikoidlerden kortizol ve kortikosteron, mineralokortikoidlerden ise aldosteron, androjen ve dehidroepiandrosteron (DHEA) fizyolojik olarak önemli miktarda salgılanan hormonlardır.

Steroid sentezi mitokondri ve endoplazmik retikulumda gerçekleşir. Steroid sentezinde ilk basamak kolesterolün pregnenolona dönüşümüdür. Pregnenolon, daha sonra 3 ana yol ile aldosteron, kortizon ve DHEA'a dönüşür. Kortizon salgılandıktan sonra yüksek afinite ile kortikosteroid bağlayan globuline bağlanır. Aldosteron genellikle serbest form şeklinde salgılanır. Zayıf androjen DHEA başlıca DHEA-sulfat şeklinde salgılanır ve periferik dokularda testesteron ve östrojenlere dönüşür (Şekil 1) (42).

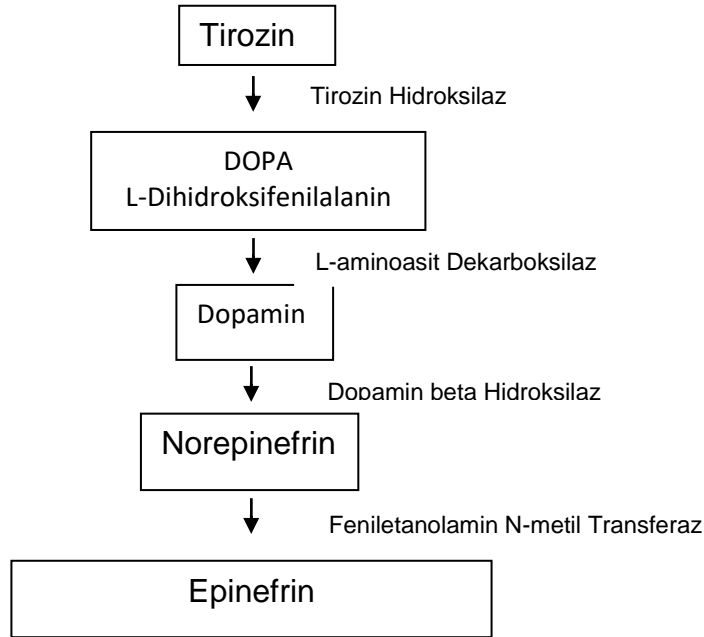
Glukokortikoid salınımı başlıca hipotalamus, hipofiz ve adrenal bezlerin hormonal etkileşimleri ile düzenlenir. Hipotalamik nöronlardan strese yanıt olarak sinirsel uyarın ile kortikotropin-salgiyatıcı hormon (CRH) ve diğere ajanların salınımı gerçekleşir. Salınan CRH, hipofiz bezinden ACTH salınımını uyarır. ACTH adrenal

Fizyoloji

Sürrenal medullasından adrenalinin bir amini olan noradrenalin de salgılanır. Katekolaminlerden adrenalın yalnızca sürrenal bezde bulunmasına karşılık, noradrenalin organizmada daha yaygın bulunur. Adrenal medulla, direkt santral sinir sisteminin etkisi altındadır ve katekolaminleri sempatik sinir sistemi boyunca sentezlerler.

Sempatoadrenal sistemde katekolaminler tirozinden sentez edilirler. Tirozinin, tirozin hidroksilaz ile 3,4-dihidroksifenilalanine hidroksilasyonu sentez aşamasının hız sınırlayıcı basamağıdır. DOPA daha sonra dopamine, bu da norepinefrine dönüşür. Bu sentez aşamaları sempatoadrenal sistem boyunca gelişir (Şekil 2). Adrenal medullada norepinefrin daha sonra feniletanolamin n-metiltransferaz ile epinefrine dönüşür. Bu enzim glukokortikoidler ile indükte olur ki epinefrinin ana kaynağı, glukokortikoidlerin yüksek konsantrasyonda bulunduğu kromafin hücreleridir (42, 44).

Preganglionik sempatik sinirlerden çıkan asetilkolin granüllerinden katekolamin salınmasını başlatır. Adrenal medulladan kana verilen katekolaminlerin %80'i epinefrin, %20'si norepinefrindir. Dolaşımdaki epinefrin ve norepinefrini inaktive eden başlıca enzimler monoaminoksidaz (MAO) ve katekol O-metiltransferazdır (COMT). Her iki enzim birçok dokuda bulunmakla beraber en yüksek miktarlar karaciğer ve böbrekte saptanır.



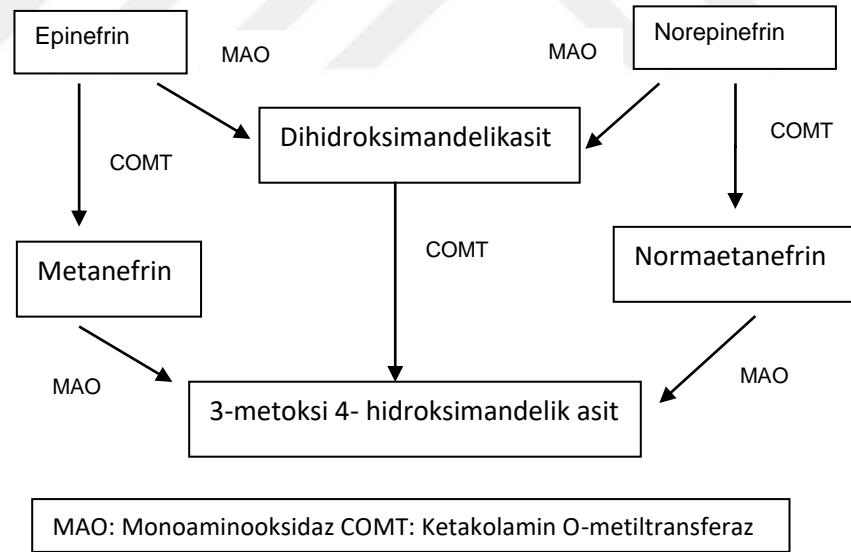
Şekil 2. Katekolaminlerin sentez aşaması

Dolaşımdaki epinefrin ve norepinefrinin büyük kısmı COMT tarafından başlangıçta metanefrin ve normetanefrine metillenir. Daha sonra MAO bu maddeleri major atılım ürünü olan 3-metoksi-4-hidroksi-mandelik aside metabolize eder. İnsanlarda idrarda atılan katekolamin metabolitlerinin %60'nı 3-metoksi-4-hidroksimandelik asit oluşturur (Şekil 3).

Sempatoadrenal sistem, birçok değişik fizyolojik uyaran ile etkilenen farklı sistemler ve SSS ile regüle olur. Bazen sempatik sinir sistemi süprese olmuşken, adrenal medulla stimule olabilir. Bu da dolaşımdaki ve lokal salınan katekolaminlerin değişik fonksiyonları olduğunu göstermektedir.

Katekolaminler etkilerini; α - ve β -adrenerjik ve dopaminerjik reseptörler ile gösterir. Başlıca etkileri arasında;

- i. Kardiyovasküler (kardiyak output ve vasküler direnci etkiler),
- ii. Visseral (vejetatif etkiler)
- iii. Metabolik etkiler (depolardan enerji rezervlerinin mobilizasyonu, oksijen alımının düzenlenmesi, hücre dışı sıvının devamlılığının sağlanması) sayılabilir (44).



Şekil 3. Katekolamin hormonlarının metabolizması

BENİGN FEOKROMASİTOMA

Tanım

Feokromositomalar genellikle katekolamin ve bazı durumlarda peptid hormonları sentezleyen adrenal medulladaki kromafin hücrelerin tümörüdür (2, 3).

Sinonimler

Paraganglioma, kromafinoma (3)

Feokromositoma adrenal medullanın sempatik paraganglioması olarak adlandırılabilir (3, 7).

Bununla beraber feokromositoma, paraganglioma ailesinin en iyi bilinen ve daha sık görülen üyesidir. Ekstraadrenal feokromositoma terimi geleneksel olarak mesanede ve Zuckerkandl organında gelişenler gibi fonksiyonel olan ve/veya ortosepatik sistemle bağlantılı olan ekstraadrenal paragangliomalar için kullanılmaktadır. Bu terimleri tamamen kullanmaktan kaçınmak muhtemelen daha iyi olacaktır (7).

Tarihsel Feokromositoma (koyu esmer renkli tümör) terimi tümörün kromat tuzları (kromafin reaksiyonu) ile ya da diğer zayıf oksidan ajanlar ile temasından sonra renginin koyulaşmasından gelmektedir (3).

Epidemiyoloji

Popülasyon çalışmalarında yıllık insidans 1 000 000'da 0.4– 9.5 olarak raporlanmıştır (45,46). Olguların büyük çoğunluğu sporadik olsa da %10'u klasik olarak bazı sendromlar ile ilişkilidir. Günümüzde ailesel olguların dikkate alınacak kadar yüksek sayıda olduğu yönünde deliller vardır(3, 47).

Feokromositoma her yaşta görülse de en sık 4. ve 5. dekatlarda görülür. Ailesel olgularda bu yaş daha düşük yaşlara iner (3, 47, 48, 49). Çocuk yaşta malignite ihtimali daha düşük olmakla beraber bilateralite oranı daha yüksektir ya da MEN ile ilişkilidir (50, 51).

Cinsiyet dağılımı hemen hemen eşit olsa da hafif bir kadın baskınlığı vardır. Ailesel olgularda ise kuvvetli erkek ağırlıklı geçiş vardır (2).

Geçmişte olguların 2/3'ü ancak otopsilerde tanı almakta idi (52, 53). Ama daha güncel olarak feokromositomaların %15-18'i adrenal insidentaloma olarak başka bir intraabdominal hastalık nedeniyle yapılan taramalar sırasında saptanmaktadır (54, 55).

Feokromositoma %10'ların tümörü olarak bilinir:

- i. Ailesel olmayan olgular yaklaşık olarak %10 bilateraldir (ailesel olgularda bu oran %70'e kadar çıkmaktadır).

- ii. %10 extraadrenaldır (Zuckermandl organı ve karotid cismi gibi bölgelerde oluşurlar ki bunlar kromafin içermediklerinden dolayı feokromositomalardan ayırt etmek için paraganglioma olarak adlandırılır).
- iii. %10'u çocuklukta ortaya çıkar (3, 7, 47).
- iv. %10'u maligndir (2, 7). Benign lezyonlarda bile birlikte görülebilen bir hipertansiyon ciddi ve potansiyel olarak ölümcül komplikasyonlar oluşturur.
- v. %10'u çeşitli ailesel sendromlarla birlikte ortaya çıkar. Bunlar arasında MEN-2A ve MEN-2B sendromları, tip 1 Nörofibromatozis, von Hippel Lindau ve Sturge Weber sendromu vardır (2).

Feokromositomalar tip 1 nörofibromatozis ile, renal arter displazisi sonucu gelişen renal arter stenozu ile, diğer bölgelerin paragangliomaları ile, adrenal kortikal tümörler ile ya da von Hippel Lindau hastalığı ile ilişkili olabilir (51, 56, 57, 58, 59, 60).

Tanımlanan çoğu ailesel olguların sporadik olgular ile karşılaştırıldığında daha erken yaşlarda görülme eğiliminde olduğu, daha sıklıkla bilateral ve daha sıklıkla da diğer primer neoplazmlar ile ilişkili oldukları belirtilmiştir (61, 62).

Ailesel olgular MEN-2A'nın (Sipple sendromu) veya MEN-2B'nin (3; Gorlin sendromu) bir komponenti olarak ortaya çıkabilir (63).

Lokalizasyon

Sporadik lezyonlar genelde soliterdir. Bunun tersine ailesel olgular çoğunlukla bilateraldir ve bunlar genellikle extraadrenal paragangliomalar ile birlikte (64).

Klinik özellikler

Feokromositomaların 2/3'ünden fazlası fonksiyonel ve semptomatiktir (6). Semptomlar genellikle dolaşımdaki katekolaminlerin (özellikle baskın olarak epinefrin) salınımlarına ve bunların alfa ve beta adrenerjik reseptörleri uyarmalarına bağlıdır. Baskın klinik özellik hipertansiyondur. Klasik olarak epizodik periyotlar halinde ani başlayan zonklama şeklinde baş ağrısı, terleme, çarpıntı, anksiyete gibi semptomlar ile birlikte ani ve hızlı yükselen kan basıncı şeklindedir. Bu bulgulara göğüs ağrısı, abdominal ağrı, bulantı ve kusma eşlik edebilir. Bazı kaynaklarca terleme atakları,

taşikardi ve başağrısı triadı feokromositoma için hemen hemen tanı koydurucu triad olarak kabul edilir (7).

Uygulamada hastaların yarısından azında tek başına paroksizmal hipertansiyon atakları meydana gelir. Dalgalı bir hipertansiyon da görülmekle birlikte hastaların üçte ikisinde hipertansiyon, kan basıncının sürekli yüksek olduğu kronik biçimdedir. Bu bulgular değişken olmakla beraber kendiliğinden başlayabilecekleri gibi, postural değişiklikler, egzersiz, anksiyete, abdominal basıncı arttıran manevralar ya da tümör bölgesinin palpasyonu ile başlayabilir (2, 7, 65).

Semptomlar 10-60 dakika sürebileceği gibi, günler ve hatta haftalarca da sürebilir. Klinik olarak hipertansiyon (paroksizmal ya da aralıksız), ortostatik hipotansiyon, pallor, retinopati, tremor ve ateş ek olarak hastalar salgılanan peptid hormonlara bağlı olarak sekonder diabet ya da paraneoplastik sendromlar ile gelebilirler.

Ketokolaminlerin aniden salınmasının oluşturduğu kan basıncı artışı, akut konjestif kalp yetmezliği, akciğer ödemi, myokard infarktı, ventrikül fibrilasyonu ve serebrovasküler olaylara yol açabilir. Kalple ilgili komplikasyonlar ketokolamin kardiomyopatisine veya katekolaminlerin neden olduğu myokard instabilitesine ve ventriküler aritmilere bağlıdır. Nekroz odakları, mononükleer infiltrasyon, interstisyel fibrozis gibi nonspesifik myokard değişiklikleri, ketokolaminlerin neden olduğu myokard dolaşımındaki vazomotor kontraksiyon veya ketokolaminlerin direkt toksik etkisine bağlanmıştır (2).

Bazı olgularda feokromositoma ACTH ve somatostatin gibi başka hormonlar da salgılar. Bu yüzden bu hormonların veya diğer peptid hormonların salgılanmasına bağlı klinik özellikler ile birlikte görülebilir (2).

Feokromositomaların laboratuvar tanısı, serbest ketokolaminlerin ve vanil mandelik asit (VMA) ve metanefrinler gibi yıkım ürünlerinin idrarla atılımlarındaki yükselmenin gösterilmesine dayanır. İzole benign tümörler ameliyat öncesinde ve ameliyat sırasında hipertansif krizi önlemek amacıyla hastalara tıbbi tedavi uygulandıktan sonra cerrahi olarak çıkarılarak tedavi edilir. Multifokal lezyonlar hipertansiyon için uzun süreli tedavi gerektir (2).

Genetik Yatkınlığın Teşhisi

MEN-2, Von Hippel Lindau (VHL) ve Nörofibromatozis-1(NF-1)'li olgularda risk artmıştır. Spesifik fizik muayene yöntemleri feokromositomaları ortaya koyabilir.

Örneğin; marfanoid vücut yapısı, mukozal nörinoma varlığı yüksek oranda şüphe uyandırıcıdır. Eğer bu sayılan bulgular MEN-2B tanısı için diagnostik özellikte değil ise geniş café au lait lekeleri ve/veya subkutanöz nörinomlar NF-1 şüphesi uyandırır. Ancak şu unutulmamalıdır ki feokromositoma bazı ailevi sendromlar için ilk bulgu olabileceği gibi VHL-2C için de tek bulgu olabilir.

Sıklıkla feokromositomalar semptomatik olmadan endokrin sendromlar açısından yapılan genetik taramalar ya da abdominal görüntüleme ile saptanmaktadır (66). Benign sporadik feokromositomaların %10'u insidental olarak abdominal kitle şeklinde tespit edilirler (66).

Katekolamin ve Metanefrin

Tümörün katekolamin sekresyonunu ölçmede yapılan çalışmalarda tümörün katekolamin üretimi, artmış plazma ve idrar katekolamin veya metabolitleri ile belirlenebilir olduğu belirtilmiştir (67, 68). Her ne kadar plazma katekolamin düzeyi sensitif olmasa da, 24 saatlik idrardaki düzeyi, fraksiyone metanefrin düzeyinin intratümöral katekolamin üretiminin katabolizmasının ürünü olduğu görülmekte olup, günümüzde feokromositoma tanısında en sensitif test olarak değerlendirilmektedir (60, 70, 71).

Görüntüleme

Lokalizasyon tesbitinde ilk radyolojik çalışmalar Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve Manyetik Rezonans (MR) olmalıdır (72). Katekolamin üreten tümörlerin yaklaşık olarak %90'ı adrenalde, %98'i abdomende yerleşmektedir.

Eğer abdominal görüntüleme negatif çıkarsa, ya ekstraadrenal katekolamin sekrete eden bir tümör mevcuttur ya da katekolamin kaynağı tümör değildir.

Feokromositomalar genellikle 3 cm ya da daha büyüktür (73). Solitten kompleks ya da pür kistik forma kadar değişen formda, intratümöral nekroz, hemoraji, sıvı birikimi gösterebilir (74).

Olguların küçük bir yüzdesinde BT'de kalsifikasyon görülmektedir. T1 MR'da feokromositoma hipo-hiperintens, T2 MR'da hiperintens (light-bulb) olarak görülür.

Görünüm spesifik olmasa da yerleşim ile beraber tanı koymada ya da başka tümöral oluşumlardan ayırt etmede yardımcı olabilir (75).

Sintigrafi

Radyofarmasötik guanetidin analogları I131 ve I123 meta-iodobenzyl-guanidinin (MIBG) adrenal dokuya belirgin afinitesi vardır. I131 ve I123 (MIBG) ekstra adrenal katekolamin sekrete eden tümörleri de gösterir (3).

Makroskopi (morfoloji)

Feokromositomalar adrenal gland içine yerleşmiş iyi sınırlı ve kapsüllü tümörlerdir. Tipik olarak bu tümörler 3-5 cm'dir. Ancak 10 cm'den büyük boyutlara da ulaşabilirler. Ağırlıkları değişik kaynaklara göre, 5 gr ile 3.5 kg, 1 ile 4000 gr, birkaç gram ile 2000 gr, 2-10 cm arası olabilir (2, 3, 7). Hipertansiyon olan olgularda ağırlık ortalama 100 gr'dır (76).

Kesit yüzü gri-beyaz ile ten rengi arasındadır (daha küçük tümörler sarı-pembe renkler arasında) ve hava ile temastan sonra koyulaşır. Daha büyük tümörlerde fokal kanama odakları, santral dejeneratif değişiklikler, nekroz, kistik değişiklikler ve kalsifikasyon izlenebilir. Normal adrenal doku çoğu olguda izlenir, fakat bazı olgularda basıya uğramış olabilir. Daha büyük tümörler, sıkışmış korteks ve medulla dokusu veya bağ dokusu ile sınırlanmıştır. Damardan zengin fibröz trabeküller tümörün içine doğru girintiler yaparak lobüler bir patern oluşturur. Birçok tümörde yüzeyde sıkışmış ya da bir kutba tutunmuş şekilde adrenal bezin kalıntıları görülebilir (2, 47, 49).

Taze doku potasyum dikromat solüsyonunda bekletilirse depolanmış katekolaminlerin oksidasyonuna bağlı olarak koyu kahverengi renk değişikliği gösterir. Bu nedenle kromafin terimi kullanılır (2).

Feokromositoma içeren bez diseke edilirken diffüz ya da nodüler adrenal hiperplazi ya da ailesel hastalıklar açısından dikkatle incelenmelidir.

Histopatoloji (mikroskopi)

Tümör hücreleri karakteristik olarak amiloid içeren, ince fibrovasküler stroma içinde, iyi tanımlanmış yuvalar (Zelballen paterni) şeklinde düzenlenmiştir. Bu düzenlenim sıklıkla alveoler, trabeküler ya da ikisinin karışımı şeklindedir. Nadiren

solid hücrelerin dizildiği ara sıra iğsi patern, baskın olabilir (47, 49). Hücrelerin pseudopapiller ya da perivasküler dizilimi olabilir fakat bu genelde mekanik manüplasyon ya da vasküler konjesyon ile ilişkilidir (3, 7, 47, 49).

Diffüz ya da solid arşitektür izlenebilir. Bitişik adrenal doku ile feokromositoma arasında sıklıkla gerçek kapsül yoktur. Psödokapsül ile çevrili olabilir ya da tümör adrenal kapsüle uzanmış olabilir (3, 7). Birbirine karışmış tümör ve korteks hücreleri nedeni ile tümör-korteks sınırı düzensiz olabilir.

Tümör hücreleri normal kromafin hücrelere benzer ya da biraz büyük ve belirgin nükleollüdür. Sitoplazmaları bazofilikten amfofiliğe değişen granüler özelliktedir. Nükleuslar yuvarlak ya da ovaldır. Bazen hücresel ve nükleer pleomorfizm baskın olabilir (6, 7, 77). Bazı olgularda derin sitoplazmik invajinasyonlara bağlı inklüzyon benzeri görünüm izlenebilir (7, 77). Olguların %2'sinde iğsi hücreler minör komponent olarak bulunabilir. Ayrıca bu tümörlerin küçük hücreli varyantı tanımlanmıştır. Yaygın olarak intrasitoplazmik hyalin globüller izlenebilir. Bu globüller PAS (+) ve diyastaza dirençlidir. Küçük miktarda melanin (nöromelanin) pigmenti izlenebilir (78). Hemoraji ve hemosiderin depolanması yaygındır. Mitotik figür nadirdir ve klinik olarak benign feokromositomalarda yapılan çalışmalarda mitotik figür 30 büyük büyütme alanında (BBA) 1 olarak bildirilmiştir (79). Nükleer gigantizm ve hiperkromazi yaygın olsa da malignitenin belirtisi değildir (7).

Dağılmış ganglion hücreleri bulunabilir. Bunlar kompozit tümör olarak kabul edilmezler (79). Tümörde görülen bazı hücreler morfolojik olarak nöronal ve ganglion hücrelerini taklit edebilir (6). Bazen tümöral hücrelerdeki intrasitoplazmik lipid akümüasyonu şeffaf görünüme neden olabilir. Bu nedenle de feokromositomalar adrenal kortikal tümörleri makroskobik ve mikroskobik olarak taklit edebilirler (7, 80, 81). Onkositik tipte feokromositomalar da tanımlanmıştır (82). Stromal skleroz belirgin olabilmekle beraber amiloid birikimi bildirilmiştir. Vasküler komponent sıklıkla belirgindir.

Feokromositomaların ultrastrüktürel olarak tanısıl özelliği, membrana bağlı olan, çoğu zaman 50-250 µm boyutunda yoğun kümeleşme gösteren granüllerdir. Norepinefrin tip granüller sınırlayıcı membranlarda ekzantrik halo bulundururken, epinefrin tip granüller daha çok tek tek izlenir (47).

Spesifik tanı genellikle histopatolojik parametrelerle ve immünohistokimyasal (İHK) belirleyicilerle konulur. Kromafin reaksiyonu ve gümüş histokimyasal (HK) boyaları spesifik değildir ve terk edilebilir.

İmmunohistokimya

Tümörün immunhistokimyasal profili, ürettiği nöropeptitlerin kapasitesine göre oldukça farklıdır (83). Feokromositomalar immunhistokimyasal olarak kromograninA ile immunekspresyon gösterir. Nöroendokrin olmayan metastatik tümörler ve adrenal kortikal tümörlerden ayırımında en güvenilir belirteç kromograninA'dır. Feokromositomalar adrenale metastaz yapan diğer nöroendokrin tümörlerden ' tirozin hidroksilaz' immunekspresyonu göstermesi ile ayrılır (84). Diğer nöroendokrin belirteç olan sinaptofizinin adrenal kortikal tümörlerde değişik oranlarda immunekspresyon gösterdiği bildirilmiştir. Epitelial Membran Antijen (EMA) immunekspresyonunun olmayışı renal hücreli karsinomdan ayırıda yardımcıdır. Adrenal kortikal karsinom ve renal hücreli karsinomdan ayırıda elektron mikroskopisi kullanılabilir. S-100 immunekspresyonu alveoler paternde yuvaların etrafında, diğer tip feokromositomalarda dağılmış halde olan sustentaküler hücrelerde immunekspresyon gösterir (85). Bu tümörler birkaç peptid hormon ve sitokin salgılayabilir. Diagnostik protokolün bir parçası olmasa da teşhisi doğrulamak için istisna olarak peptid hormon sekresyonunun gösterilmesi tanısal olarak kullanılabilir.

Kromafin pozitifliği tanıda yardımcı olabilir. Tüm feokromositomalarda sitoplazmik arjirofilik görülür. Birçok feokromositoma kromozom 1p delesyonu gösterir. Bu bölge tümör süpresör gen olarak kabul edilir (86).

Karma (Kompozit) Feokromositoma

Bu terminoloji nöroblastom, ganglionöroblastom, ganglionörom ya da malign periferik sinir kılıfı tümörlerini içeren feokromositoma anlamına gelir (47-49, 87, 88). Bilateral feokromositoma ve malign periferik sinir kılıfı tümörleri Von Recklinghausen hastalığında tanımlanmışlardır. Yine, benzer şekilde, feokromositoma ve ganglionöroma MEN-2A sendromunda görülmektedir. Adrenal medullanın embriyolojik gelişimi bu farklı diferansiasyonları açıklar (48, 49). Bu nadir tümörler genellikle katekolamin sekresyonu ve buna bağlı semptomlar verirler. Ganglion tipi hücre barındıran tümörler, genellikle Vazoaktif İntestinal Peptit (VIP) salınımı ve sulu

diareye neden olurlar (89). Bilateral feokromositom, ganglionörom ve nöroblastom ile ilişkili olabilir (89). Olgularda ganglionörom ve nöroblastom benzeri alanların prognozla ilişkisi bilinmemektedir.

Pigmente Feokromositoma

Son zamanlarda “pigmente feokromositoma” ve “pigmente ekstraadrenal paraganglioma” tanıları verilmektedir. Bu pigmentin melanin olduğu düşünülmektedir (47). Tümör son derece siyah olabilir ve malign melanoma benzeyebilir. Pigmentin, katekolamin metabolizmasının oksidatif bir artığı olan nöromelanin pigmenti olduğu kanıtlanmış bir olgu bildirilmiştir (90).

Ailesel Feokromositoma

MEN2, RET protoonkogen mutasyonunun olduğu Otozomal Dominant (OD) kalıtmı bir sendromdur (91, 92). Feokromositomalar, MEN2'nin önemli bir komponentidir. Adrenal medüller hiperplazi (noduler ya da diffüz), feokromositomanın prekürsör lezyonları ile ilişkili olabilir. Feokromositomanın semptomlarını taklit eden olgularda adrenal medüller hiperplazi saptanmıştır (47, 49, 93-95). Nodüler hiperplazi ile feokromositomanın ayrımı keyfidir ya da bazı çalışmalarca sınır değer 1 cm'dir (93). Bu gruptaki feokromositomalar multisentrik ve bilateral yerleşmekte ve makroskopik özellikler tek başına altta yatan bir sendrom açısından uyarıcı olabilmektedir (6). Feokromositomaların görüldüğü sendromlardan “ganglionöromatozis” sıklıkla sindirim sisteminde schwann hücresi, nörit ve ganglion hücresi proliferasyonu ile ortaya çıkar. Korneal sinir kalınlaşması görülebilir. Von Recklinghausen hastalığında izlenen feokromositomalar, somatostatinden zengin ampuller karsinoid ile birlikte diğer endokrin sendromlarda da bildirilmiştir (6).

MALİGN FEOKROMOSİTOMA

Günümüzde feokromositoma için kesin malignite tanısı, metastaz varlığında verilmektedir. Kan damarları ve komşu organlara geniş infiltrasyon kesin malignite tanısı için yeterli değildir (3).

Epidemiyoloji

Malign feokromositoma insidansı 10 000 000'da %2.4–14 arasındadır (6, 49). Yaş ve cinsiyet dağılımı benign ve malign feokromositomalar arasında fark göstermez. Malign feokromositomalar, tüm feokromositomaların %10'unu oluşturur (17, 96-104). Ailesel veya sendromik olgularda ya da farklı sendromlarda ufak farklılıklar olabilir. Örneğin NF-1'de görülen feokromositomalarda malignite olasılığı düşüktür (19).

Lokalizasyon

Malign feokromositomalarda lokalizasyon, benign feokromositomalar ile aynı özellikte olmakla beraber, ekstraadrenal yayılım, malignite açısından ipucu olabilir.

Klinik

Malign grupta semptom ve belirtiler benign feokromositomalar ile aynıdır. Metastatik feokromositomada katekolamin fazlalığı ve hipertansiyonun derecesi daha belirgin olabilir. Metastatik feokromositomada kitle etkisine bağlı semptomlar ya da peptid hormon sekresyonuna bağlı paraneoplastik sendrom görülebilir.

Görüntüleme

Karaciğer, böbrek ve pankreasa lokal invazyon ya da iskelet, lenf nodu, karaciğer ya da akciğere uzak metastaz dışında malign feokromositoma için yardımcı radyolojik bir bulgu pek yoktur. İntratümöral hemoraji, nekroz ve heterojenite benign ve malign feokromositomalarda izlenebilir

Laboratuvar

Çoğu zaman kan ve idrarda katekolamin, norepinefrin, epinefrin, metanefrin, normetanefrin, dopamin, VMA ya da metabolitleri belirgin bir şekilde artmıştır. Malign feokromositoma ile dopamin değeri korele olduğu belirtilmiştir (17, 105, 106). Hastalığın gidişatını izlemede serum kromograninA değerleri yardımcıdır.

Makroskopi

Malign feokromositoma için birkaç makroskopik kriter karakteristiktir. Malign feokromositomalar benign feokromositomalardan daha büyük ve nodüler, lobüle

olabilirler. Kesit yüzü alacalı, hemorajik ve nekrotik olabilir. Etrafını çevreleyen yapılara fikse olabilir. Genelde adrenal kortekse ve periadrenal dokuya infiltridir (17, 96, 98, 103, 107- 109). Bunun yanında hücreleri benign feokromositomalara göre daha küçüktür (7).

Yayılım ve Evreleme

Feokromositomaların %10'unun malign olduğu söylenmesine rağmen bazı çalışmalar bu oranın aslında daha yüksek olduğunu ortaya çıkarmıştır (7). Metastazlarda en sık tutulum yeri lenf nodlarıdır (3). Organ tutulumlarında feokromositomaların iskelet sistemine eğilimi vardır. Bu nedenle feokromositoma şüphesi olan hastalarda preoperatif dönemde kemik taraması önerilir (7). Daha sonra karaciğer, akciğer ve böbrek taraması gereklidir (17, 96, 109-114). Malign feokromositoma lokal invazyon (kapsül ve periadrenal yağ ve bağ dokuya) ve/veya vasküler invazyon yapabilir. Buna rağmen bu bulgular daima metastatik bir tümör varlığını göstermez. Günümüzde Feokromositomalar için kabul görmüş bir evreleme sistemi yoktur. Malignite açısından en kesin kriter metastaz varlığıdır. Metastaz olarak kabul edilen odaklarda kromafin hücreler olmamalıdır. Bu sayede lokal rekürens ya da multisentrik primer bir tümör ile metastaz ayırımını yapılmış olur (96, 102, 103, 108, 109, 112, 114-116).

Histopatoloji

Malign Feokromositoma için bazı histolojik kriterler tanımlanmıştır(17).

1. Kapsül invazyonu
2. Vasküler invazyon
3. Periadrenal yağ dokuya uzanım
4. Genişlemiş ve birbirleri ile birleşen yuvalar
5. Diffüz büyüme
6. Nekroz
7. Artmış hücresellik
8. Tümör hücrelerinde içsileşme
9. Pleomorfizm
10. Hücresel monotonlaşma (küçük ve yüksek nükleositoplazmik oranı olan hücreli)

11. Nükleer hiperkromazi
12. Makronükleol
13. Artmış mitotik figür
14. Herhangi atipik mitotik figür
15. Hyalin globül yokluğu

Kapsüler ya da ekstrakapsüler damarlarda, tümörün damar lümenine direkt büyümesi, intravasküler tümöral trombüs ve/veya etrafı endotel ile çevrili tümör yuvaları vasküler invazyon olarak kabul edilir. Tümör hücrelerinin, tümöral kitle içindeki damarı tıkaması vasküler invazyon olarak kabul edilmez. Vasküler invazyon ven ya da lenfatik alan arasında ayırım yapılmaksızın değerlendirilir.

Geniş yuvaların, yapılan bir çalışmada en kesin tanımı, normal sempatik ganglionlardaki Zellbellan adasının üç katı büyüklüğündeki ada olarak yapılmıştır (17). Geniş yuvaların ortasında diffüz, konfluent ve fokal nekroz olabilir. Dejeneratif değişiklikler nekroz olarak değerlendirilmez.

Anormal kromozom dağılımı, tripolar, quadripolar ya da sirküler şekilli kromatin ya da tanımlanamayacak kadar acaip kromatin yapısı atipik mitoz olarak tanımlanır. Değişik çalışmalarda 10 ya da 20 BBA>3 mitoz sayısı skorlamada değerlendirilmiş, farklı çalışmalarda bu kriterlerin değişik kombinasyonları kullanılmış olup, aynı sonuçlar elde edilmemiştir (17, 19, 79). Örneğin son zamanlarda Avrupa'da yapılan çalışmalarda tümör boyutu ve nekroz, lokal invazyon ya da vasküler invazyon olmadan da değerlendirmede tek başına kriter olarak önemli bulunmuştur (19). Tümörün agresif gidişini göstermede hiçbir kriter tek başına yeterli değildir. Morfolojik olarak kötü tümör bulguları görülen tümörlerde daha kötü biyolojik gidiş olabileceği, alternatif bir yaklaşım olarak önerilmiştir (17). Bu yaklaşımları birbirlerine uyarlamak gerektiğinde; vasküler invazyon, kapsül invazyonu, artmış pleomorfizm ve nükleer hiperkromazi için 1'er puan, arta kalan diğer bulgular için ise 2 puan verilmekte olup, total skor ≥ 4 olduğunda, malign seyir potansiyeli taşıdığı belirtilmiştir. Bu sistem evrensel olarak halen hazırda kabul görmemiştir.

İmmünohistokimyasal çalışmalarda sustentaküler hücreler immünoreaktif olarak S-100 ile gösterilebilir, bu pozitiflik geniş yuvalar ve diffüz alanlar çevresinde az sayıda olup, immunekspresyon izlenmeyebilir (17, 85, 111, 114). Bazı yayınlar Ki-67 ile immunekspresyonun malign gidişi belirlemede faydalı olabileceğini destekler

özelliğindedir. Yapılan çalışmalarda 3 eşik değeri; “>%2, >%10 ve >20 hücre/200x en yoğun boyanmanın olduğu büyütme alanında” verilmiştir (16-18). Diğer iki çalışmada ise eşik değeri %2.5 ve %3 olarak kabul edilmiş ancak maligniteleri kanıtlanmış tümör tanımlanmasında sensitif bulunmamıştır (19, 20). TP53 protein mutasyonu bazı malign feokromositomalarda ekspresyon görülebilir, ancak hastalığın gidişi ile ilişkili bir parametre olarak kullanılamaz (17, 118).

Somatik Genetik

Malign feokromositomalar Süksinat Dehidrogenaz Kompleks Altünite B (SDHB)'deki germline mutasyonu olanlarda daha siktir (6). Malign feokromositomadaki somatik değişiklikler benign feokromositomalar ile benzer özellikler taşır. Ancak bir çalışma göstermiştir ki malign feokromositomalarda kromozom 6q ya da 17p kaybı daha yaygındır (119). Yine başka bir çalışmada malign feokromositomada kromozom 11'deki mutasyon sıklığı benign feokromositomadan daha fazla olduğu belirtilmiştir (120).

Ayrıca malign feokromositomalarda VHL mutasyonu daha siktir (120). Bazı otörler malign tümörlerde TP53 mutasyonunun daha sık görüldüğünü bildirmişlerdir (121, 122). Ancak diğer otörler sporadik feokromositomalarda TP53 mutasyonunun görülmebileceği sonucuna varmışlardır (123, 124).

Sporadik medüller tiroid karsinomu ile karşılaştırıldığında somatik RET mutasyonu sıklığında belirgin bir farklılık bulunmamıştır (125). İHK'sal çalışmalarda malign tümörlerde Rb ve benzeri belirteçler bulunmuştur (118, 126).

Moleküler Genetik

Tetraploid ve anöploid benign ve klinik olarak malign feokromositomalarda izlenmektedir. Bazı flow sitometri DNA analiz çalışmaları non-diploid tümörlerin diploid tümörlerden daha agresif davranışta olup, erken rekürens gösterebileceğini ortaya koymuştur (127-130). Ancak diğer çalışmalarda ploidi ile malignite arasında korelasyon bulunamamıştır (131).

Genetik Duyarlılık

Benign ve malign feokromositomaların genetik profili benzer özelliktedir. Malign tümörler RET, VHL, NF1 ve SDH genlerindeki germline mutasyonu olan

hastalarda rapor edilmiştir (132, 133). MEN-2 ile ilişkili olgularda malignite oranı sporadik olgularda daha azdır (17, 96, 98-101, 134-138).

Tedavi

Malign feokromositomaların prognozu kötüdür. 5 yıl yaşam şansı %45-50'dir (17, 98, 102, 103, 108, 109, 112, 113, 116, 139, 140). Feokromositomanın primer tedavisi cerrahi eksizyondur. Metastatik tümörü olan hastaların çoğu 1 yıl içerisinde kaybedilir, fakat lokal invaziv tümörlerde relapslarla uzun süreli yaşam mümkündür (7).

Prognoz ve Prediktif Faktörler

Yapılan bir çalışmaya göre pleomorfizm, nekroz ve vasküler invazyon gibi parametrelerin bağımsız olarak değerlendirildiğinde tümörün kötü prognozlu olacağını kanıtladığı belirtilmiştir (7). Bu parametrelerin adrenokortikal tümörlerde olduğu gibi kombine edilmesi daha faydalı olacaktır (7). Kimura ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada altı kriteri (histolojik patern, hücresellik, koagülasyon nekrozu, vasküler/kapsüler invazyon, Ki-67 immünreaktivitesi ve tümörün ürettiği katekolamin tipi) baz alarak tümörü iyi, orta ve kötü diferansiye olarak üçe ayırmışlar ve on yıllık yaşam oranını, sırasıyla %83, %38 ve %0 olarak bulmuşlardır (141).

Çok sayıda çalışma sonucu katekolamin sekrete eden bu tümörlerde hormonal monitörizasyon yaşam boyu olabilecek rekürens ve metastazları ortaya koymada yardımcı olacaktır (142).

Son yapılan çalışmalar feokromositomaların malignite ve rekürens potansiyelleri yanı sıra prognozlarını da ortaya koymayı hedeflemektedir.

Çalışmamızda, benzer şekilde patolojik olarak tanı ve prognoz açısından önemi olabilecek tüm histopatolojik parametreleri, PASS skorumu ve bu sistemin prognoz, çap, ağırlık ile ilişkilerini, Ki-67 proliferasyon indeksi ile prognoz ve diğer tüm histopatolojik parametreler arasındaki ilişkisini incelemeyi planladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

OLGU SEÇİMİ

İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji bölümünde 2000-2010 yılları arasında, patolojik olarak feokromositoma tanısı almış 22 olgu çalışmaya alındı. Retrospektif olarak tüm olgular yeniden değerlendirildi. Olguların demografik verileri Pro-Bel hastane bilgi sistemi kayıtları incelenerek elde edildi.

Olgular tanı ve prognoza etki edebilecek tüm parametreler açısından yeniden gözden geçirildi.

Klinik parametreler:

- Yaş
- Cinsiyet
- Nüks
- Eşlik eden medüller tiroid kanseri varlığı

Patolojik Parametreler:

Makroskobik:

- Tümör çapı
- Tümör lokalizasyonu
- Tümör ağırlığı

Mikroskobik:

- Artmış hücresellik (Resim 1)
- Artmış mitotik figür (>3/10 büyük büyütme alanı/BBA) (Resim 2)
- Atipik mitotik figür (Resim 2)
- Geniş yuvalar ya da diffüz büyüme (Resim 3)
- Hiperkromazi (Resim 4)
- Tümör hücrelerinde içsileşme (Resim 6)
- Kapsül invazyonu (Resim 7)
- Nükleer pleomorfizm (Resim 8)
- Makronükleol (Resim 8)
- Fokal ya da konfluent nekroz (Resim 9)

- Vasküler invazyon (Resim 10)
- Periadrenal yağ dokuya invazyon (Resim 11)
- Hücresel monotonluk
- Ki- 67 proliferasyon indeksi (Resim 12)
- PASS skoru (PASS >ya da =4 veya PASS<4) olarak verildi.

Gerek sağkalım, gerekse nüks açısından bilgi almak amacı ile hastaların çoğuna telefon ile ulaşılmaya çalışılırken, telefonla ulaşılamayan hastalara mektup gönderilerek, 22 olgunun 11'ine ulaşıldı.

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS for Windows 17.0 programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu ve homojenliği tekrar değerlendirildi. Normal dağılım gösteren ve homojen olan değişkenlerin ikili karşılaştırmasında parametrik bir test olan Independent T testi, değişkenler arası ilişkinin karşılaştırılmasında ise Spearman's Rho testi kullanıldı. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında chi square test, continuity correction ve Fisher's exact test kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında incelendi. P değeri 0,05'den küçük ise anlamlı; büyük ise anlamsız olarak kabul edildi.

MİKROSKOBİK DEĞERLENDİRME

Her olgunun Hematoksilen&Eozin boyalı kesitleri tekrar değerlendirilerek, tümörü en iyi temsil eden kesitlerde; kapsül invazyonu, vasküler invazyon, periadrenal yağ dokusu içine uzanım, geniş büyük birleşen yuvalar, diffüz büyüme paterni, nekroz, sellülerite, tümöral hücrelerde içsileşme, nükleer pleomorfizm, hücresel monotonluk, nükleer hiperkromazi, makronükleol, artmış mitotik figür, atipik mitoz varlığı, hyalin globül varlığı/yokluğu gibi histopatolojik parametreler yeniden değerlendirildi.

Kapsül invazyonu: Tümörü çevreleyen fibröz psödokapsülü geçerek çevre adrenal dokuya ve ekstra-adrenal yumuşak dokuya fokal ya da yaygın tümöral infiltrasyon alanları değerlendirildi.

Vasküler invazyon: Kapsül içinde ya da kapsül dışı damarlarda görülen, tümör trombüsleri ve/veya etrafı endotel ile çevrili tümör yuvaları vasküler invazyon olarak kabul edildi. Ancak tümöral kitlenin içindeki damarlarda bulunan, tümöral yuvalar vasküler invazyon olarak kabul edilmedi.

Periadrenal yağ doku içine uzanım: Tümörün çevresindeki ya da adrenal çevresindeki yağ doku içerisinde izlenen tümöral yuvalar periadrenal yağ dokuya uzanım olarak değerlendirildi.

Geniş büyük birleşen yuvalar: Ortalama bir Zellballen adasının üç katı büyüklüğündeki solid tabakalar geniş yuvalar olarak kabul edildi.

Diffüz büyüme paterni: Tüm tümörün tamamına yakınında solid tabakalar oluşturan tümöral hücreler, diffüz büyüme olarak değerlendirildi.

Nekroz: Klasik olarak bilinen, keskin geçişli, ortasında hayal halinde tümör hücrelerinin görüldüğü, nekrotik alanlar tümör nekrozu olarak kabul edildi. İskemik ve sekonder dejeneratif değişiklikler nekroz olarak kabul edilmedi.

Sellülarite: Hemen hemen her büyük büyütme alanında yoğun hücrelilik olarak değerlendirildi.

Tümöral hücrelerde içsileşme: Tümöral hücrelerin çoğunda eninin en az iki katı uzunluğunda boyu olan hücrelerin varlığı olarak değerlendirildi. Bu görünümün tümörün en az yarısında olduğu olgular için bu parametrenin varlığı kabul edildi.

Nükleer pleomorfizm: Klasik pleomorfizm tanımına uyan, nükleer şekil ve dört kata kadar değişen boyut farkı olarak değerlendirildi.

Hücresel monotonluk: Tüm tümör hücreleri küçük olup, nükleus/sitoplazma oranlarının yüksek olduğu uniform hücrelerden oluşan tümörler hücresel olarak monoton kabul edildi.

Nükleer hiperkromazi: Tümöral hücrelerdeki nükleus kromatin yapısının belirginleşerek ipliksi görünüm alması olarak değerlendirildi.

Makronükleol: Nükleus içinde bulunan, yaklaşık olarak eritrosit boyutundaki nükleol, makronükleol olarak kabul edildi.

Artmış mitotik figür: Mitoz sayılırken normal ve atipik mitoz beraber sayıldı. 20 BBA'da >3 mitoz artmış mitoz olarak kabul edildi.

Atipik mitoz: Anormal dağılımlı kromozom yapısı, tripolar, quadripolar ya da sirküler şekilli kromatin ya da tanımlanamayacak kadar şekil bozukluğu gösteren kromatin yapısı atipik mitoz olarak kabul edildi.

Hyalin globül: İntrasitoplazmik PAS (+) ve diastaza dirençli (D-PAS (+)) olan hyalin globüller değerlendirildi (Resim 5).

İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM

Olguların patoloji arşiv kayıtları tekrar değerlendirilerek; %10'luk formaldehit solüsyonu ile tespit edilmiş, parafin bloklardan immünohistokimyasal çalışma için nekrozun ve artefakt bulunmayan en geniş tümör değerlendirmesi yapılabilecek blok seçildi. Her olgunun belirlenen parafin bloklarından 3-4 mikron kalınlığında kesitler hazırlandı.

1- 3-4 mikron kalınlığında şarjlı lamlara hazırlanan kesitler 56°C'lik etüvde 12 saat tutularak deparafinize edildi.

2- Yarım saat ksilolde bekletildi.

3- Her birinde beşer dakika bekletilerek sırasıyla %100, %95 ve %90'lık alkolden geçirilerek hidrasyonları yapıldı.

4- Çeşme suyu ile yıkandı.

5- Endojen peroksidazı bloke etmek için %3'lük hidrojen peroksitte 10 dakika süre ile oda sıcaklığında bekletildi.

6- PBS buffer (pH 7,6) ile 5 dakika süreyle yıkandı.

7- 0,01m sodyum sitrat tamponu (pH 6,0) içinde toplam 15 dakika süre ile mikrodalga fırında bırakıldı.

8- Distile su ile 3 kez yıkandı.

9-Kesitler 20 dakika süre ile non-immün protein bloklama serumunda bekletildi.

10- Birincil (primer) antikor olan Monoclonal Mouse Anti- Human Ki-67 antijen Clone MIB-1 (1/100 dilüsyon; DAKO) kesitleri kapatacak şekilde uygulandı ve oda sıcaklığında 2 saat süre ile bekletildi.

11- 2 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı ve kurutuldu.

12- Bağlayıcı (sekonder) antikor (Multi-species Ultra Streptavidin detection system; Signet, Massachusetts, USA) ile oda sıcaklığında 20 dakika süre ile inkübasyon yapıldı.

13- 2 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı.

14- Streptavidin-biyotin kompleksi uygulanarak 30 dakika bekletildi.

15- 2 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı.

16- 10 dakika süreyle renk vererek görüntülemeyi sağlamak amacıyla DAB (3,3'-diaminobenzidin) ile muamele edildi.

17- 5 dakika distile su ile yıkandı.

18- Zemin çabuk boyama yöntemi ile Mayer hematoksilen ile boyandı.

19- Dehidrasyon için kesitler sırasıyla %90, %95 ve %99.9'luk alkolde beşer dakika tutuldu, ksilolde şeffaflaştırıldı ve entellan ile kapatıldı.

Hastalara daha önceden uygulanan diğer immünohistokimyasal boyalar (Kromogranin A, İnhibin, Sinaptofizin, Kalretinin, S-100, Melan-A, CD 44, p53, EMA, Sitokeratin 116, CD 15, Siklin D1, Sitokeratin 7/8, Beta 72.3 ve sitokeratin-7) tekrar değerlendirildi.

İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYALARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ki-67 proliferasyon belirteci için nükleer boyanma pozitif kabul edildi. Işık mikroskopunda büyük büyütme alanında tümörün en yoğun boyandığı alandaki pozitif hücrelerin bu alandaki tüm neoplastik hücrelere oranı semikantitatif olarak yüzde ile belirtildi. Tümörün en sellüler alanındaki 1000 tümör hücresi, özellikle en BBA'da (X400, Olympus cXP ışık mikroskobu), sayılarak bu hücrelerdeki Ki67 ile nükleer immunekspresyon gösteren tümörlü hücre sayısının ortalaması alınarak yüzde olarak oransal değer hesaplandı. Ulaşılabilen 11 olgudan, nüks olmayan 8 olgudaki ortalama Ki-67 proliferasyon indeksi %1.3 iken, nüks olan 3 olgudaki Ki-67 proliferasyon indeksi %2.23 olduğundan, çalışmamızda Ki-67 proliferasyon indeksi için kritik değer %2 olmasının uygun olacağına karar verildi.

Ki-67 proliferasyon indeksi ile tümör çapı, ağırlık, eşlik eden medüller tiroid karsinom, nüks gibi parametrelerin yanı sıra PASS skorunu ve onu oluşturan histopatolojik parametreleri karşılaştırıldı.

Toplam 22 olgunun dahil edildiği bu çalışmada, H&E boyalı kesitlerde 15 histopatolojik parametrenin varlığı ve özelliği, her olguda en az bir blokta uygulanan Ki-67 immünohistokimyasal belirleyicisinin BBA'nda immunekspresyon gösteren tümör hücre yüzdesi, hastanın şu andaki klinik durumu (nüks eden mevcut tümör varlığı, eks durumu) ile ilişkisi ve diğer tanı anında çalışılmış olan immunbelirleyicilerle birlikte tekrar değerlendirildi ve prognostik yönden değeri ortaya konulmaya çalışıldı.

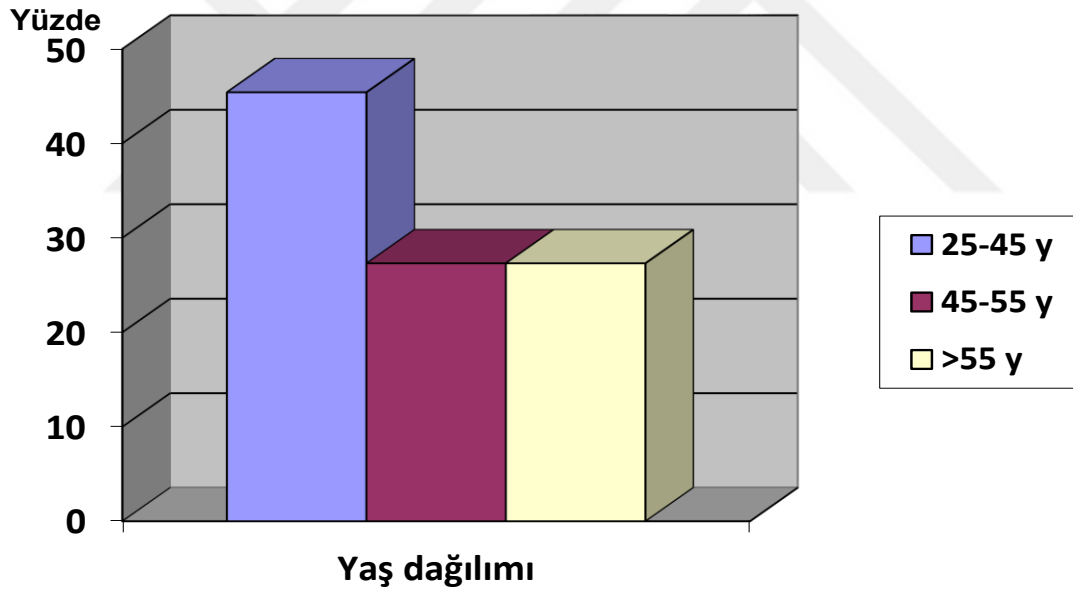
4. BULGULAR

Çalışmamıza 22 Feokromositoma olgusu dahil edildi. Hastaların yaşları 25 ile 78 arasında değişmekte olup ortalama yaş 48,09 olarak saptandı (Tablo 1).

Tablo 1: Olguların yaş dağılımı

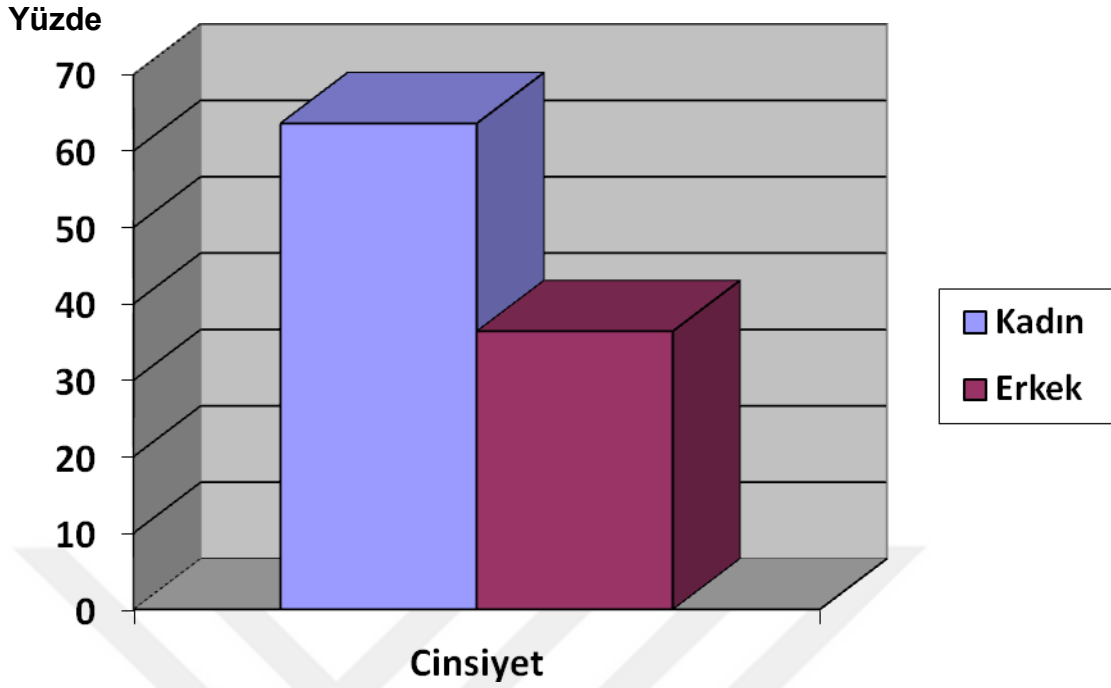
	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma
Yaş	25,00	78,00	48,09	3,303

İstatistiksel analiz yapılırken hastalar 25-45 yaş 10 (%45.4) olgu, 45-55 yaş 6 (%27.3) olgu ve 55 yaş üstü 6 (%27.3) olgu olarak gruplandı (Grafik 1).



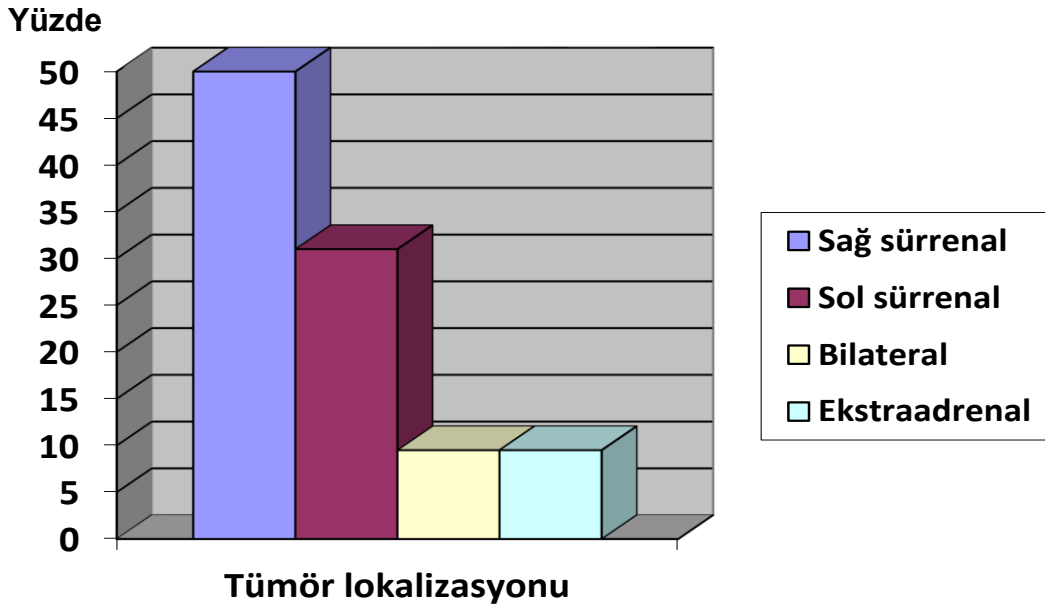
Grafik 1: Hastaların yaş dağılımı

Hastaların 14'ü (%63.6) kadın, 8'i (%36.4) erkektir (Grafik 2).



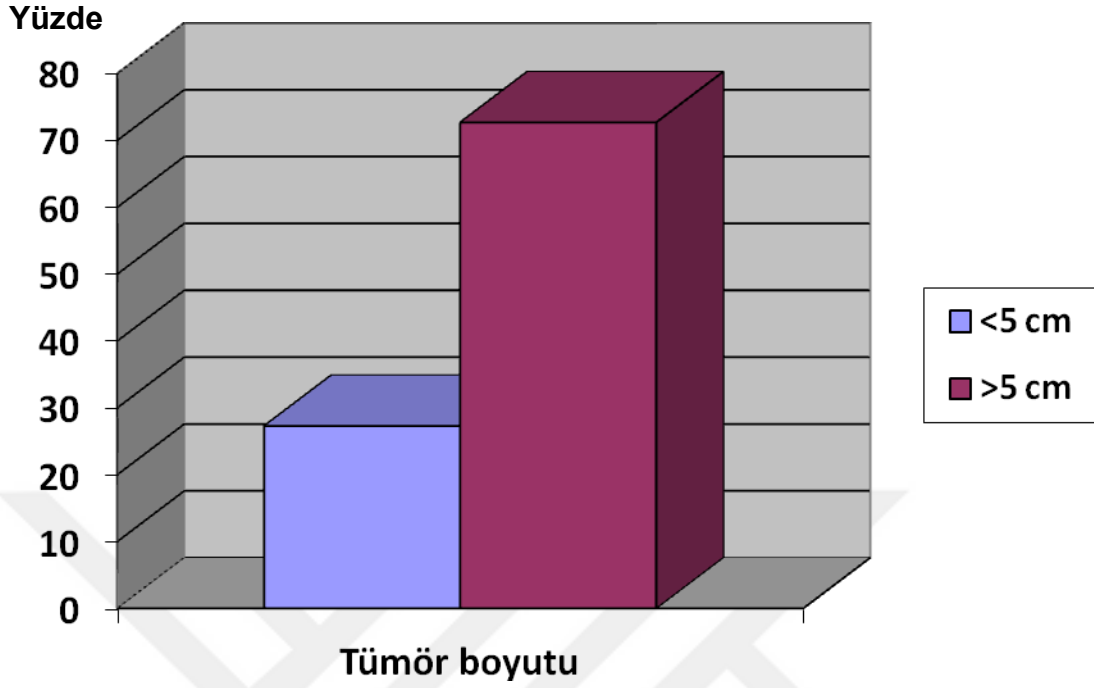
Grafik 2: Hastaların cinsiyet dağılımı

Hastaların 11'inde (%50) tümör sağ sürrenalde, 7'sinde (%31) sol sürrenalde, 2'sinde (%9.5) bilateral sürrenallerde iken, 2'sinde (%9.5) ekstraadrenal yerleşimli idi (Grafik 3).



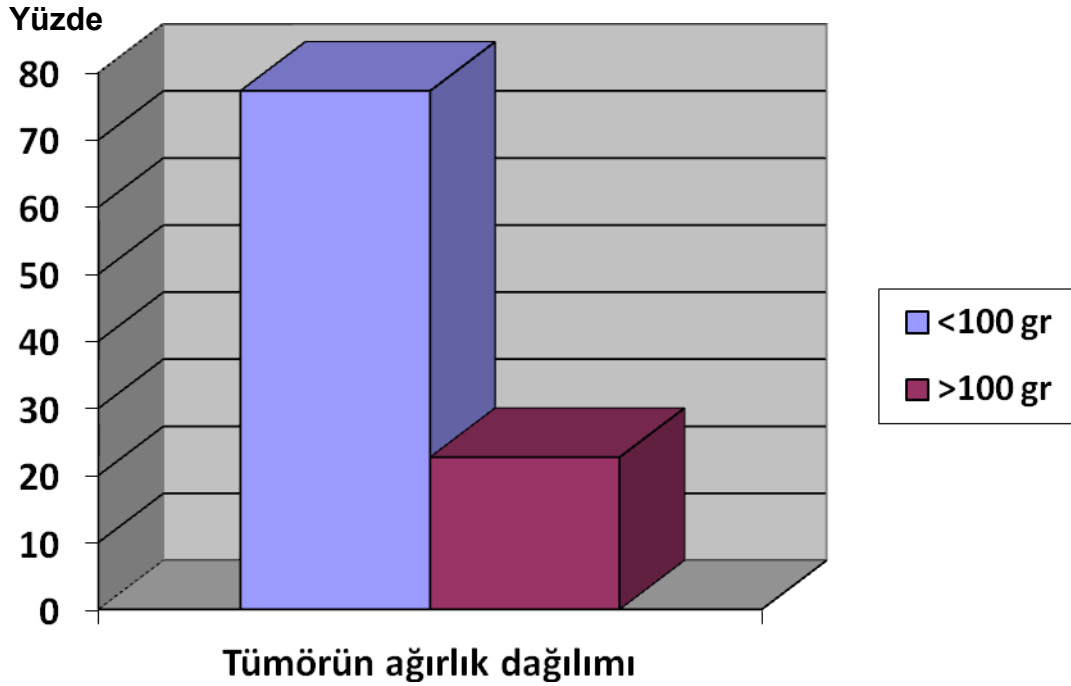
Grafik 3: Tümörün lokalizasyonu

Tümör boyutu <5 cm 6 (%27.3) olgu, >5 cm 16 (%72.7) olgu olarak gruplandırıldı (Grafik 4).



Grafik 4: Tümör boyutu dağılımı

Tümör ağırlığı 17 (%77.3) hastada <100 gr, 5 (22.7) hastada >100 gr olarak ölçüldü (Grafik 5).



Grafik 5: Tümörün ağırlık dağılımı

Hastanemiz kayıtlarından ve Pro-Bel hastane bilgi sisteminden ulaşılan kayıtlara göre hastalardan 5'inde (%22.7) eşlik eden tiroid medüller karsinomu mevcut iken 17'sinde (%77.3) eşlik eden tümör saptanmadı.

Ulaşılabilen hastalardan 3'ünde (%13.6) nüks mevcut iken 8'inde (36.4) nüks mevcut değil idi. Hastalar PASS skorumaya sistemine göre PASS<4 olan hasta sayısı 10 (%45.5), PASS>4 olan hasta sayısı 12 idi (%54.5).

Olguların Hematoksilin Eozin boyalı parafin blok kesitleri histopatolojik parametreler açısından incelendiğinde;

- Kapsül invazyonu olan 7 (%31.8), olmayan 15 (%68.2) olgu,
- Vasküler invazyon olan 5 (%22.7), olmayan 17(%77.3) olgu,
- Periadrenal yağ dokuya uzanım olan 1 (%4.5), olmayan 21 (%95.5) olgu,
- Geniş birleşen tabakalar olan 11 (%50), olmayan 11 (%50) olgu,
- Diffüz büyüme olan 9 (%40.9), olmayan 13 (%59.1) olgu,
- Nekroz olan 3 (%13.6), olmayan 19 (%86.4) olgu olarak,
- Artmış hücresellik hafif 12 (% 54.5) ve belirgin 10 (%45.5) olgu,
- İğsileşme hafif 11 (%50) ve belirgin 11 (%50) olgu olarak,
- Hücresel monotonluk olan 5 (%22.7), olmayan 17 (%77.3) olgu,
- Nükleer hiperkromazi olan 11 (%50), olmayan 11 (%50) olgu,
- Makronükleol olan 3 (%13.6), olmayan 19 (%86.4) olgu,
- Artmış mitotik figür olan 2 (%9.1), olmayan 20 (%90.9) olgu,
- Atipik mitotik figür olan 3 (%13.6), olmayan 19 (%86.4) olgu,
- Hyalin globül olan 16 (%72.8), olmayan 6 (%27.2) olgu olarak gruplandı.

Tablo 2: PASS (Pheochromocytoma of Adrenal gland Scaled Score) by Thompson (17)

Mikroskopik özellik	PASS Skor
Kapsül invazyonu	1
Vasküler invazyon	1
Periadrenal yağ dokuya uzanım	2
Genişlemiş ve birbiri ile birleşen yuvalar	2
Diffüz büyüme	2
Nekroz	2
Artmış hücresellik	2
Tümör hücrelerinde içsileşme	2
Hücrel monotonlaşma	2
Artmış mitotik figür (>3/10 BBA*)	2
Herhangi atipik mitotik figür	2
Pleomorfizm	1
Nükleer hiperkromazi	1
Makronükleol	2
Hyalin globül yokluğu	2
Toplam	20

*: (BBA büyük büyütme alanı)

Tablo 3: Feokromositomalarda Nüks ile histopatolojik parametrelerin istatistiksel analizi

	Nüks var n=3 n (%)	Nüks yok n=8 n (%)	p değeri
Kapsül invazyonu	1 (%33,3)	4 (%50)	0,621
Vasküler invazyon	0 (%0)	3 (%37,5)	0,214
Genişlemiş ve birbiri ile birleşen yuvalar	2 (%66,7)	6 (%75)	0,782
Diffüz büyüme	2 (%66,7)	4 (%50)	0,621
Nekroz	0 (%0)	1 (%12,5)	0,521
Artmış hücresellik	2 (%66,7)	3 (%37,5)	0,632
Tümör hücrelerinde içsileşme	3 (%50)	3 (%37,5)	0,064
Hücrel monotonlaşma	0 (%0)	3 (%37,5)	0,214
Artmış mitotik figür (>3/10 BBA)	1 (%33,3)	0 (%0)	0,870
Herhangi atipik mitotik figür	1 (%33,3)	0 (%0)	0,870
Pleomorfizm	1 (%33,3)	2 (%25)	0,782
Nükleer hiperkromazi	2 (%66,7)	4 (%50)	0,621
Hyalin globül yokluğu	3 (%100)	6 (%85,7)	0,490
PASS >4	3 (%100)	4 (%50)	0,125

Nüks ile kapsül invazyonu, vasküler invazyon, genişlemiş ve birbiri ile birleşen yuvalar, diffüz büyüme, nekroz, artmış hücresellik, tümör hücrelerinde içsileşme, hücrel monotonlaşma, artmış mitotik figür (>3/10 BBA), herhangi atipik mitotik figür, pleomorfizm, nükleer hiperkromazi, hyalin globül yokluğu ve PASS skoru (PASS >4) karşılaştırıldığında; nüks ile yukarıda sayılan parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo3).

Tablo 4: PASS skorumlama sistemi ile klinikopatolojik parametrelerin istatistiksel analizi

	PASS <4 n (%)	PASS >4 n (%)	p değeri
Çap>5 cm	6 (%60)	10 (%83,4)	0,221
Ağırlık>100 gr	3 (%30)	2 (%16,6)	0,457
Kadın/Erkek oranı	1,5 (%60-%40)	2 (%66-%34)	0,746
Yaş 25-45 y/45-55 y/>55 y	4/4/2 (%40/%40/%20)	6/2/4 (%50/%16,6/%33,4)	0,457

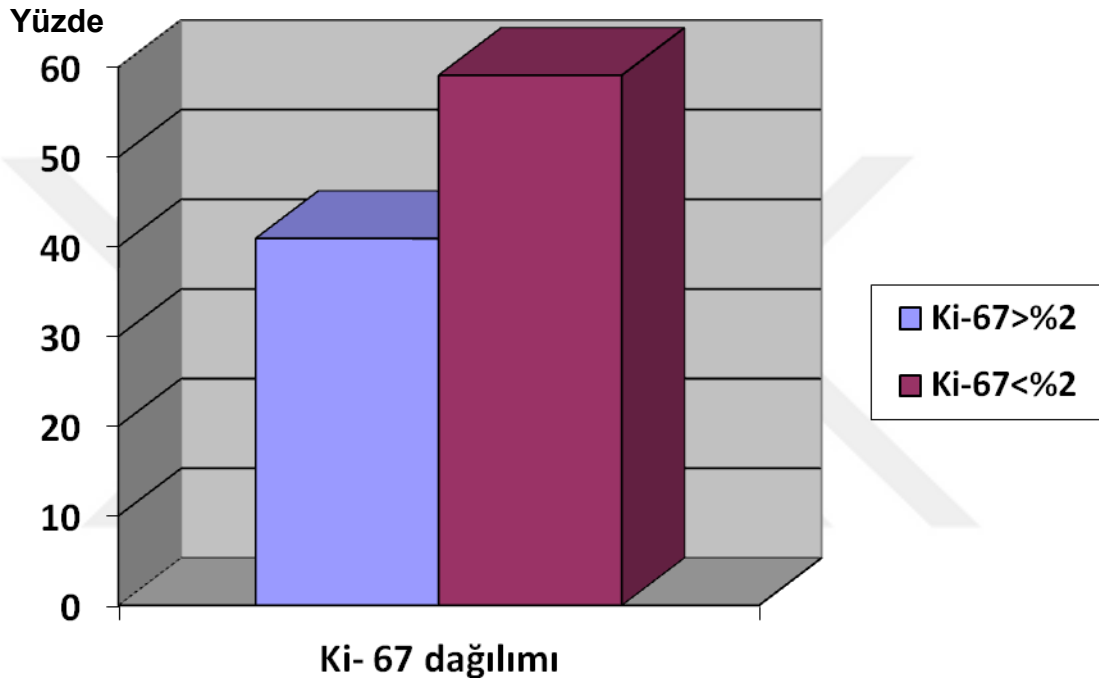
PASS skoru ile çap (>5 cm), ağırlık (>100 gr), cinsiyet (kadın/erkek oranı) ve yaş (25-45 y/45-55 y/>55 y) arasında ki kare testine göre anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 4).

Tablo 5: Çap ile klinikopatolojik parametrelerin istatistiksel analizi

	Çap 2-5 cm n=6 n (%)	Çap 6-14 cm n=16 n (%)	p değeri
Kapsül invazyonu	1 (%16,7)	6 (%37,5)	0,350
Vasküler invazyon	0 (%0)	5 (%31,3)	0,119
Periadrenal yağ dokuya uzanım	0 (%0)	1 (%31,9)	0,531
Geniş birleşen yuvalar	1 (%16,7)	10 (%62,5)	0,560
Diffüz büyüme	1 (%16,7)	8 (%50)	0,157
Nekroz	0 (%0)	3 (%13,6)	0,254
Artmış hücresellik	2 (%33,4)	8 (%50,1)	0,557
İğsileşme	3 (%50)	8 (%50)	1,00
Belirgin pleomorfizm	1 (%12,7)	5 (%31,3)	0,494
Hücrel monotonluk	2 (%33,4)	3 (%18,8)	0,467
Nükleer hiperkromazi	3 (%50)	8 (%50)	1,000
Makronükleol	1 (%12,7)	2 (%12,5)	0,800
Artmış mitotik figür	0 (%0)	2 (%12,5)	0,364
Atipik mitotik figür	1 (%16,7)	2 (%12,5)	0,800
Hyalin globül	4 (%66,7)	12 (%80)	0,517
Nüks	1 (%50)	7 (%77,8)	0,425

Çap ile kapsül invazyonu, vasküler invazyon, periadrenal yağ dokuya uzanım, geniş birleşen yuvalar, diffüz büyüme, nekroz, artmış hücresellik, iğsileşme, belirgin, pleomorfizm, hücrel monotonluk, nükleer hiperkromazi, makronükleol, artmış mitotik figür, atipik mitotik figür, hyalin globül ve nüks arasında ki kare testine göre anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 5).

Ki-67 <%2 olan 13 olgu (%59.1) mevcut iken, 9 (%40.9) olguda Ki-67 >2 idi (Grafik 6).



Grafik 6: Ki-67 % dağılımı

Tablo 6: Ki-67 (MIB 1) proliferasyon indeksi ile klinikopatolojik parametrelerin ve PASS skorumla sisteminin istatistiksel analizi

	Ki-67 (MIB-1) <%2 n (%)	Ki-67 (MIB-1) ≥%2 n (%)	p değeri
Çap >5 cm	10 (%62,5)	6 (%37,5)	0,595
Ağırlık >100 gr	3 (%60)	2 (%40)	0,962
Eşlik eden Medüller Tiroid Karsinomu	10 (%58,8)	7 (%41,2)	0,962
Nüks	5 (%62,5)	3 (%37,5)	0,387
PASS<4	8 (%80)	2 (%20)	0,690
PASS>4	5 (%41,7)	7 (%58,3)	0,660
Kapsül invazyonu	2 (%28,6)	5 (%71,4)	0,047
Vasküler invazyon	2 (%40)	3 (%60)	0,323
Periadrenal yağ dokuya uzanım	1 (%100)	0 (%0)	0,394
Geniş birleşen yuvalar	6 (%54,5)	5 (%45,5)	0,665
Diffüz büyüme	5 (%55,6)	4 (%44,4)	0,779
Nekroz	1 (%33,3)	2 (%66,7)	0,329
Artmış hücresellik	6 (%60)	4 (%40)	0,674
İğsileşme	5 (%45,5)	6 (%54,5)	0,193
Belirgin pleomorfizm	3 (%50)	3 (%50)	0,595
Hücrel monotonluk	3 (%60)	2 (%40)	0,962
Nükleer hiperkromazi	5 (%45,5)	6 (%54,5)	0,193
Atipik mitotik figür	1 (%33,3)	2 (%66,7)	0,075
Artmış mitotik figür	0 (%0)	2 (%100)	0,329
Hyalin globül	9 (%56,2)	7 (%43,8)	0,882

Ki-67 (MIB 1) proliferasyon indeksi ile kapsül invazyonu arasında ki kare testine göre anlamlı ilişki saptanırken (P:0,047), Ki-67 (MIB 1) proliferasyon indeksi ile çap (>5 cm), ağırlık (>100 gr), eşlik eden medüller tiroid karsinomu, nüks, PASS (<4 ve >4), vasküler invazyon, periadrenal yağ dokuya uzanım, geniş birleşen yuvalar, diffüz büyüme, nekroz, artmış hücresellik, iğsileşme, belirgin pleomorfizm,

hücrel monotonluk, nükleer hiperkromazi, atipik mitotik figür, artmış mitotik figür, hyalin globül arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (Tablo 6).

Hastalar tanı anında uygulanmış olan histo/immüno-kimyasal belirteçler açısından tekrar değerlendirildi.

Olguların 12'sinde PAS pozitif hyalin globül mevcut iken 2'sinde yoktu. 12 olgunun 9'unda hyalin globüller d-PAS ile pozitif olarak boyandı.

Olguların 21'i KromograninA ile immunekspresyon gösterirken 1 olguda immunekspresyon yoktu (Resim 13).

İnhibin uygulanan 14 olgunun 13 tanesinde immunekspresyon yok iken, 1 olguda immunekspresyon izlendi.

İmmünohistokimyasal olarak Sinaptofizin uygulanan 12 olgunun tamamında immunekspresyon izlendi.

13 olguya uygulanan Kalretinin immünohistokimyasal boyası bu olguların tamamında negatif olarak izlendi.

13 olguya uygulanan S-100 boyasında 12 olguda sustentaküler hücrelerde immunekspresyon izlenirken, 1 olguda immunekspresyon yoktu.

Melan-A uygulanan 10 olgunun 2'sinde fokal immunekspresyon mevcuttu.

CD 44, 2 olguda immunekspresyon izlenirken, 1 olguda immunekspresyon yoktu.

p53 uygulanan 3 olgunun 1'inde %60 immunekspresyon izlenirken, 2'sinde immunekspresyon yoktu.

EMA uygulanan 4 olguda immunekspresyon yoktu.

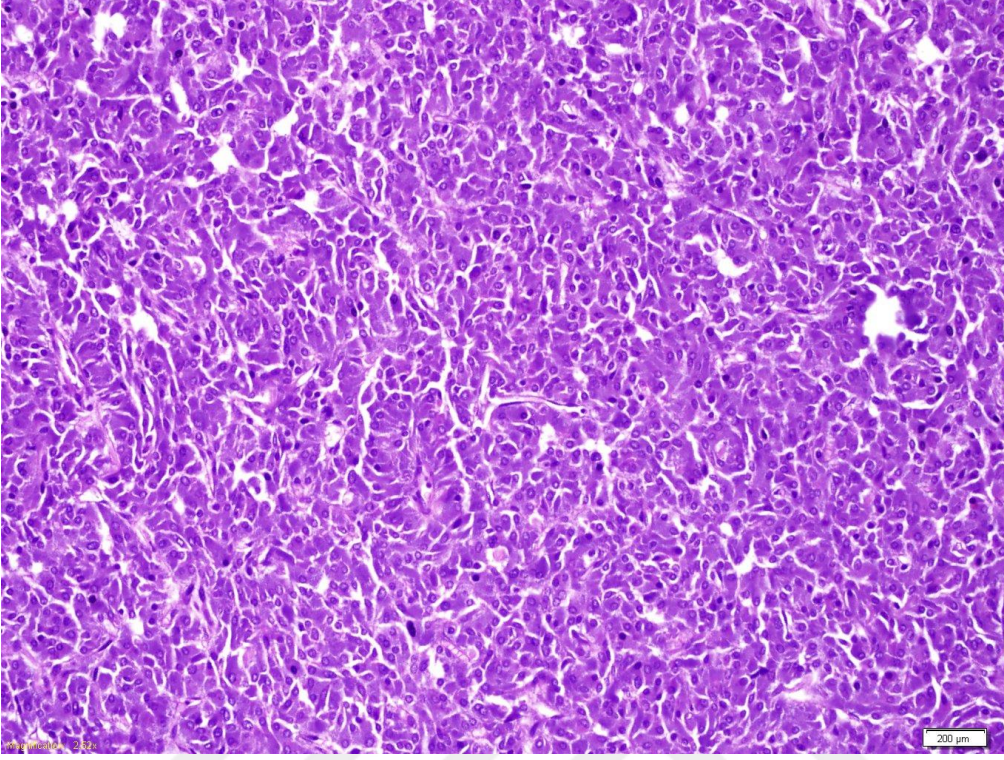
Sitokeratin116, 4 hastaya uygulandı ve hiçbirinde immunekspresyon izlenmedi.

1 olguya uygulanan CD15 immünohistokimyasal boyasında immunekspresyon izlendi. Farklı bir olguya uygulanan Siklin D1 boyasında immunekspresyon yoktu.

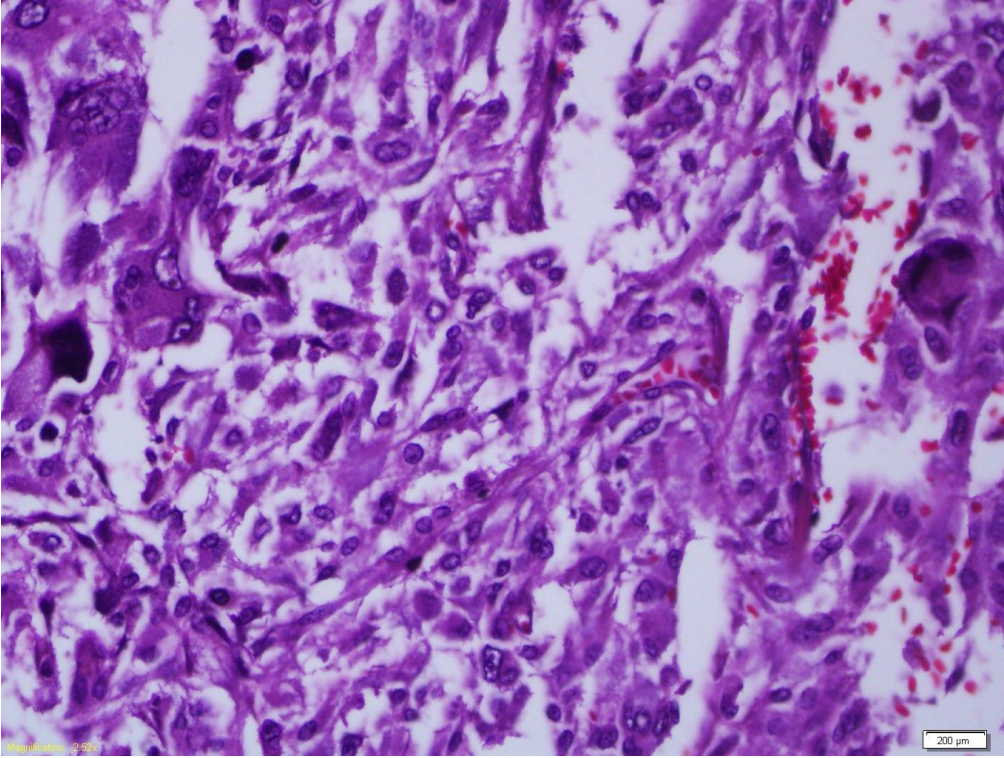
Vimentin 4 olguya uygulandı ve tamamında immunekspresyon izlendi. Sitokeratin 7/8, uygulanan 2 olguda da immunekspresyon yoktu.

Beta 72.3 ve sitokeratin 7 uygulanan 2 farklı olgunun ikisinde de immunekspresyon yoktu.

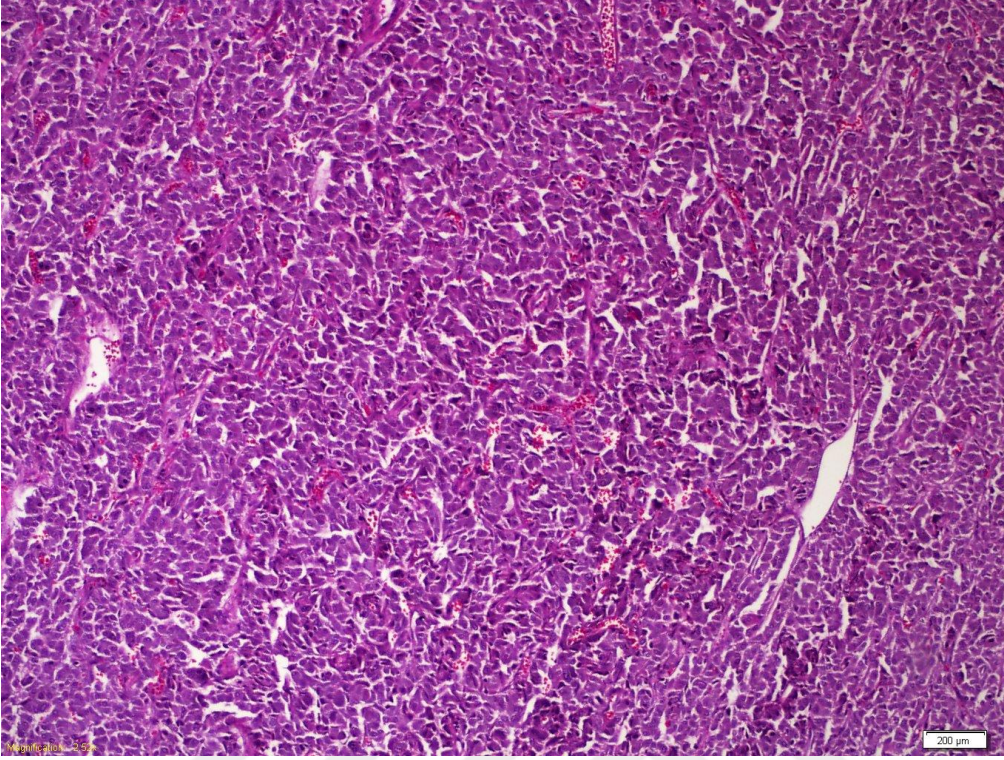
RESİMLER



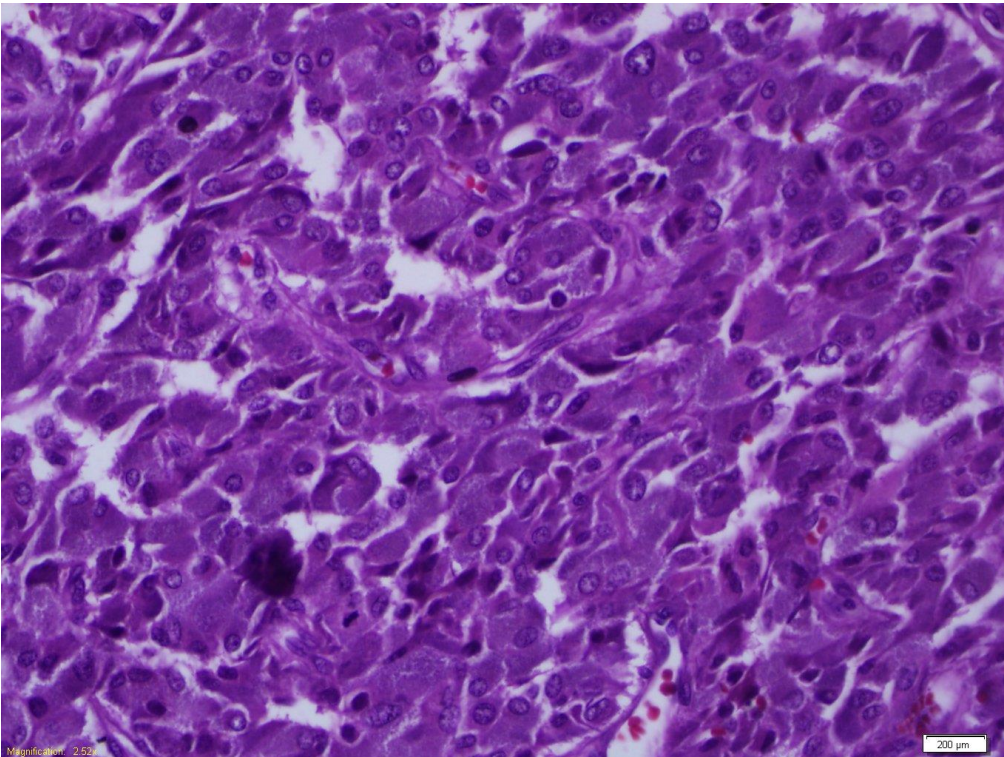
Resim 1: Feokromositomada artmış hücresellik, H&E, x200



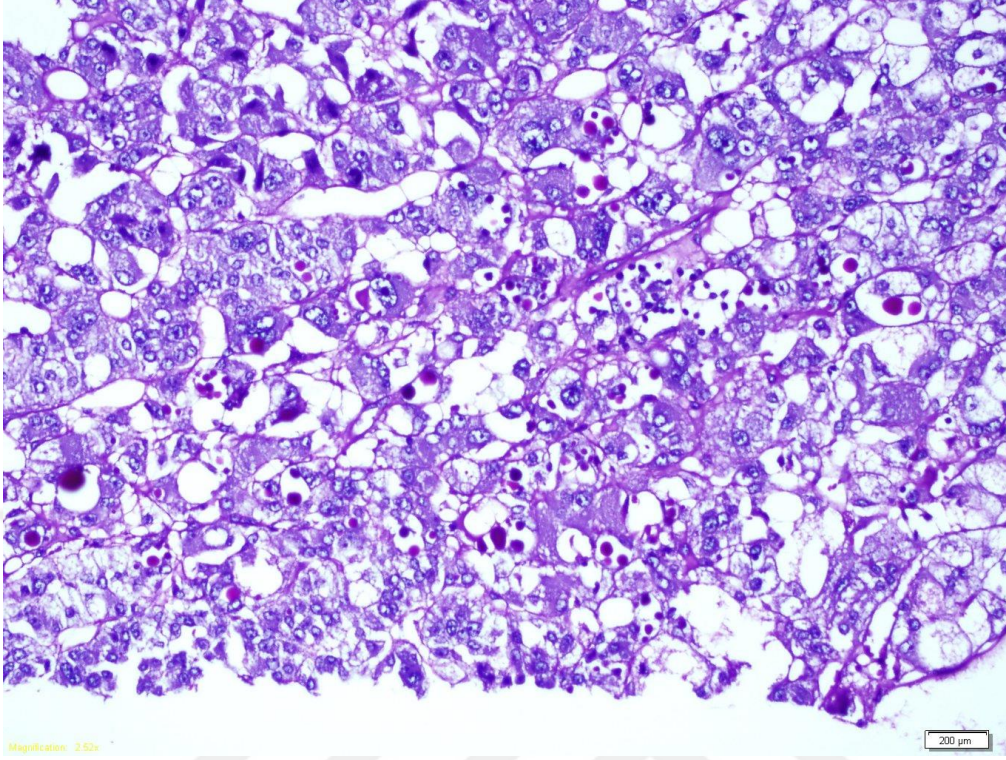
Resim 2: Feokromositomada atipik mitoz ve artmış mitotik figür, H&E, x400



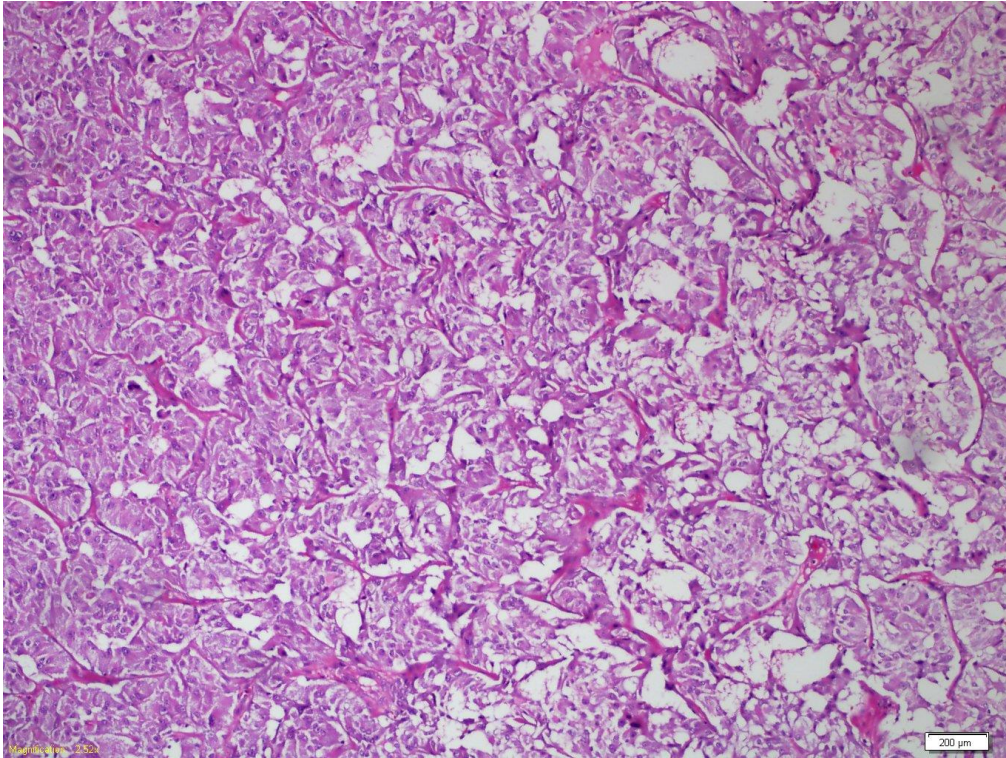
Resim 3: Feokromositomalarda diffüz büyüme, H&E x200



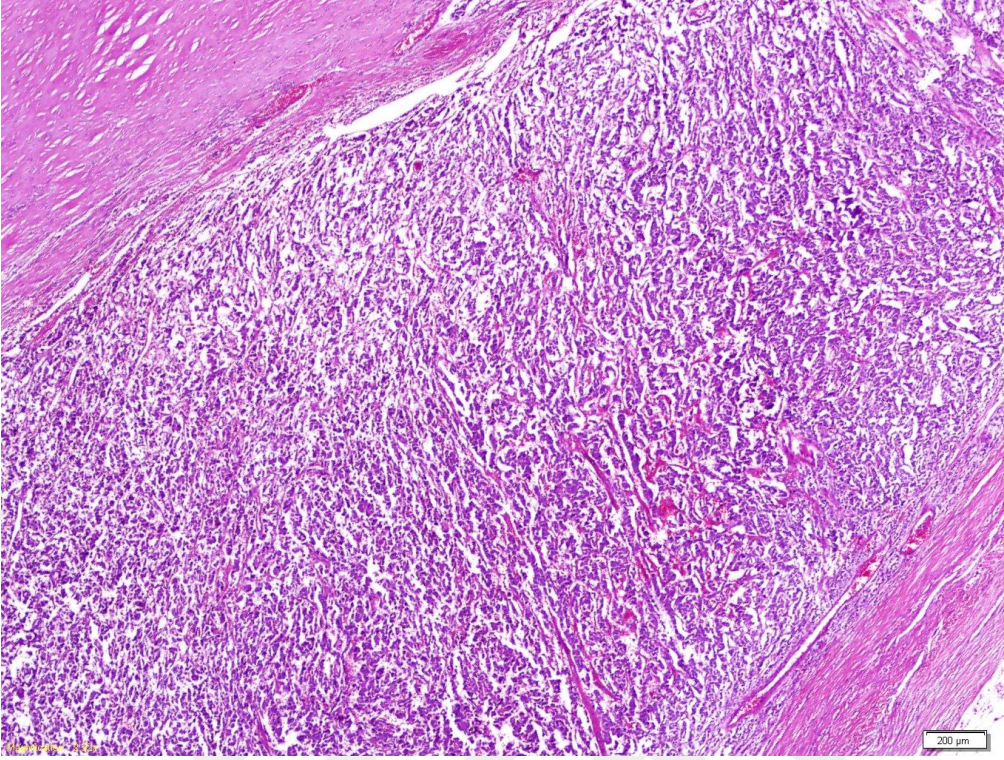
Resim 4: Feokromositomalarda hiperkromazi, H&E x400



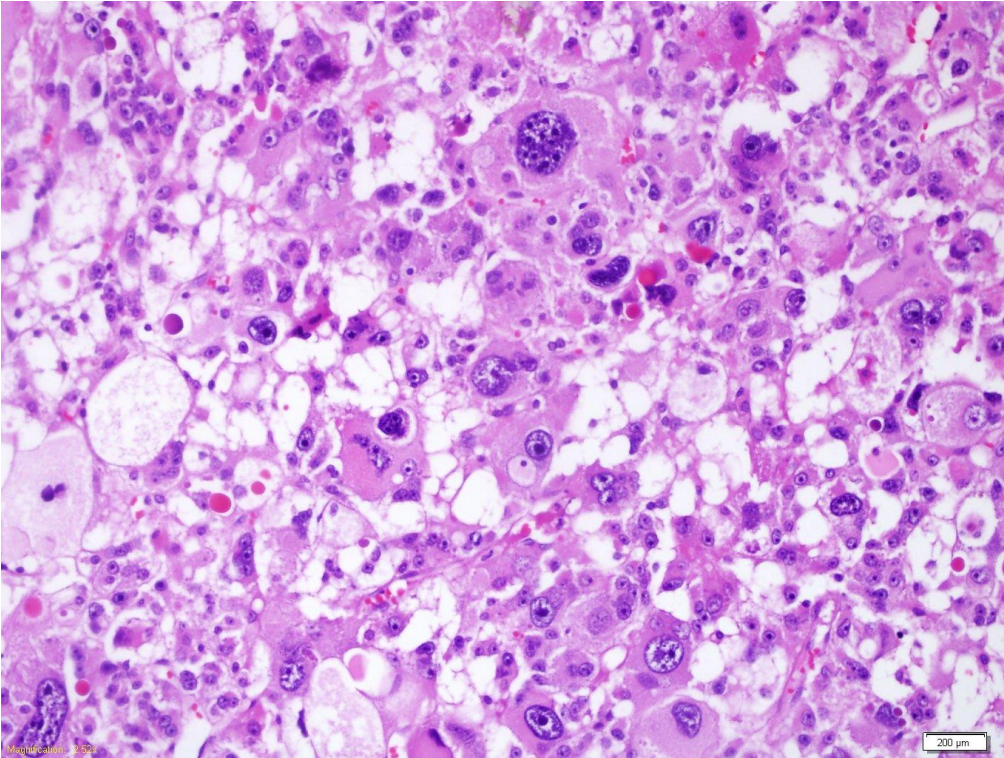
Resim 5: Feokromositomada PAS histokimyasal boyasında pozitif hyalin globül, x400



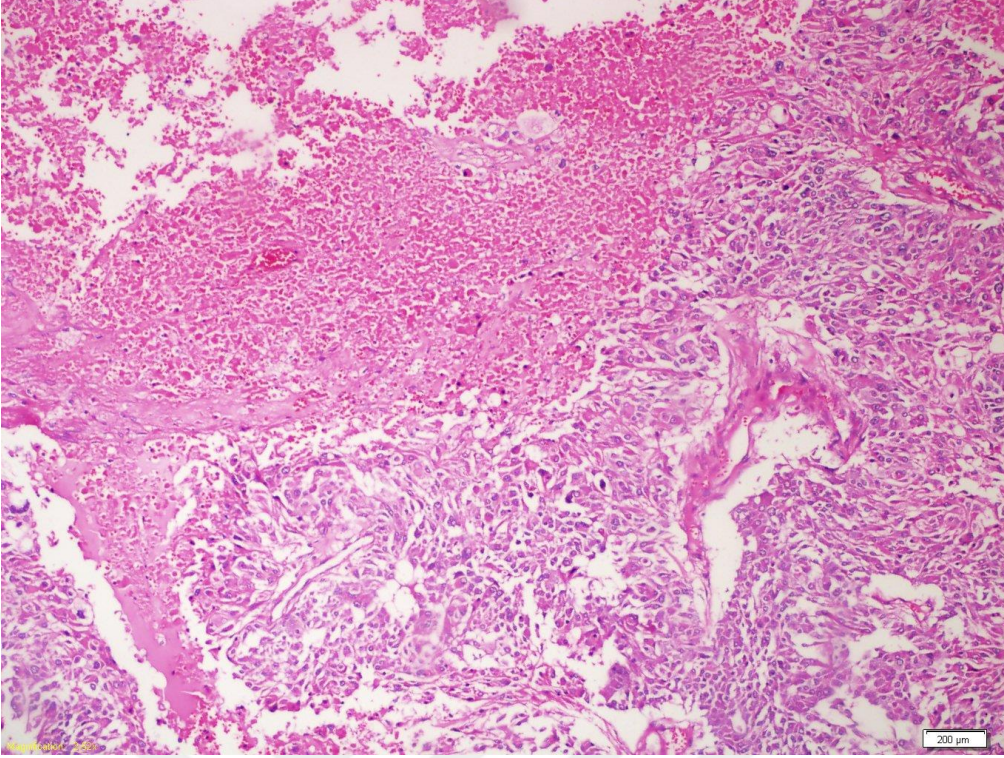
Resim 6: Feokromositomada hücresel içsileşme, H&E, x200



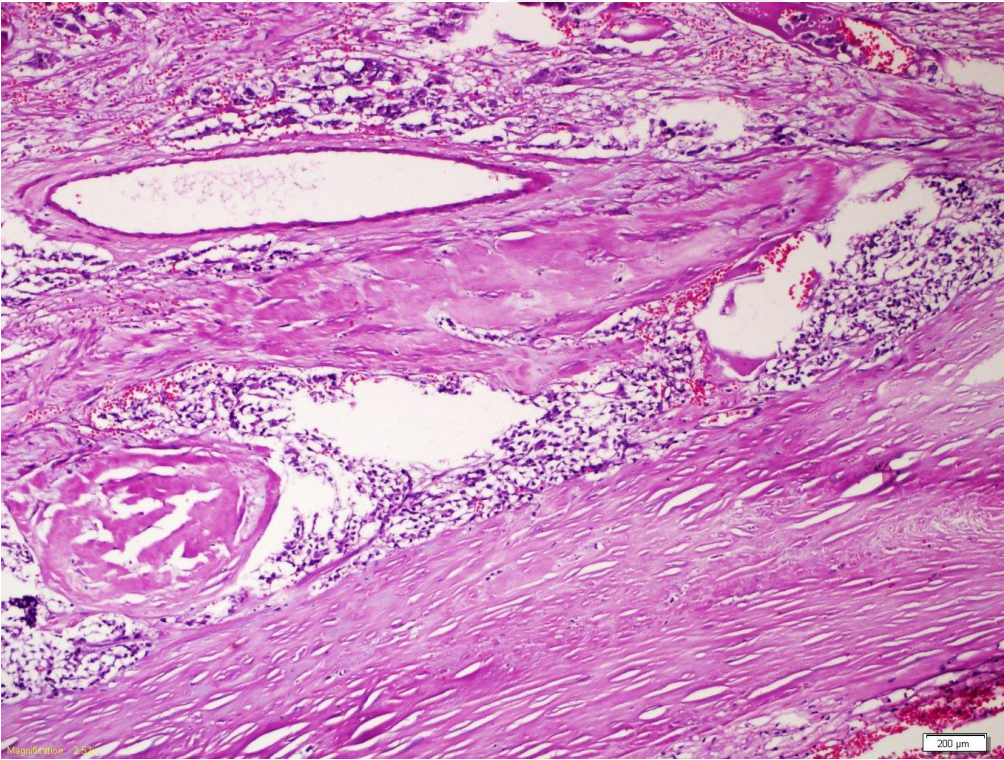
Resim 7: Feokromositomada kapsül invazyonu, H&E, x100



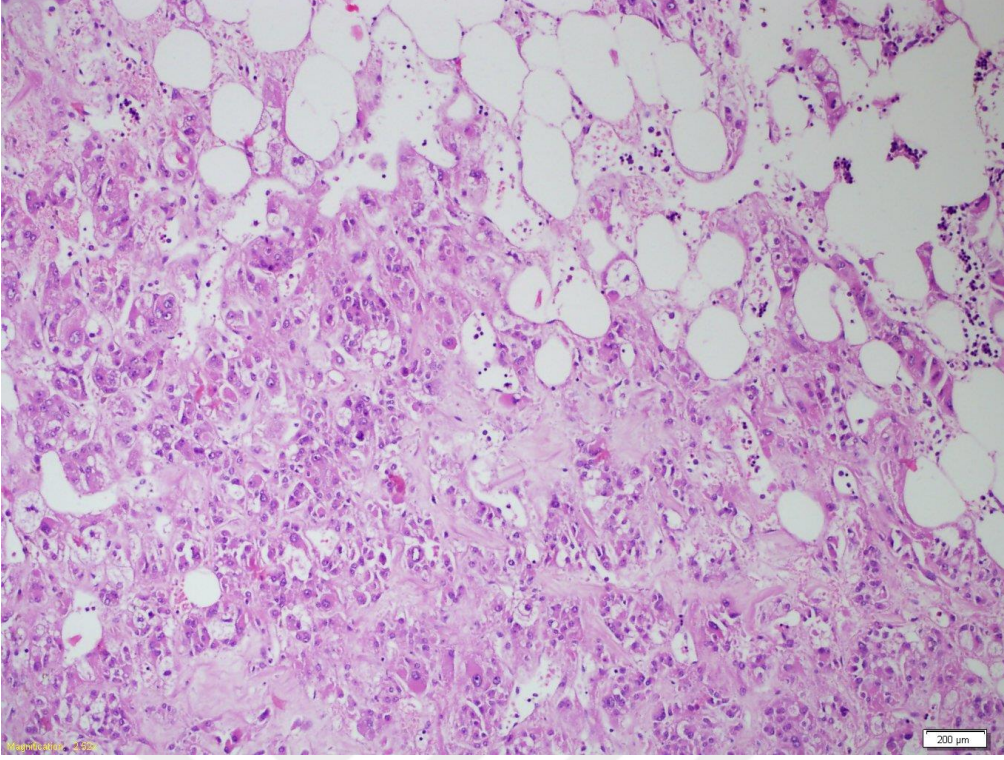
Resim 8: Feokromositomada hücresel pleomorfizm ve makronükleol, H&E x400



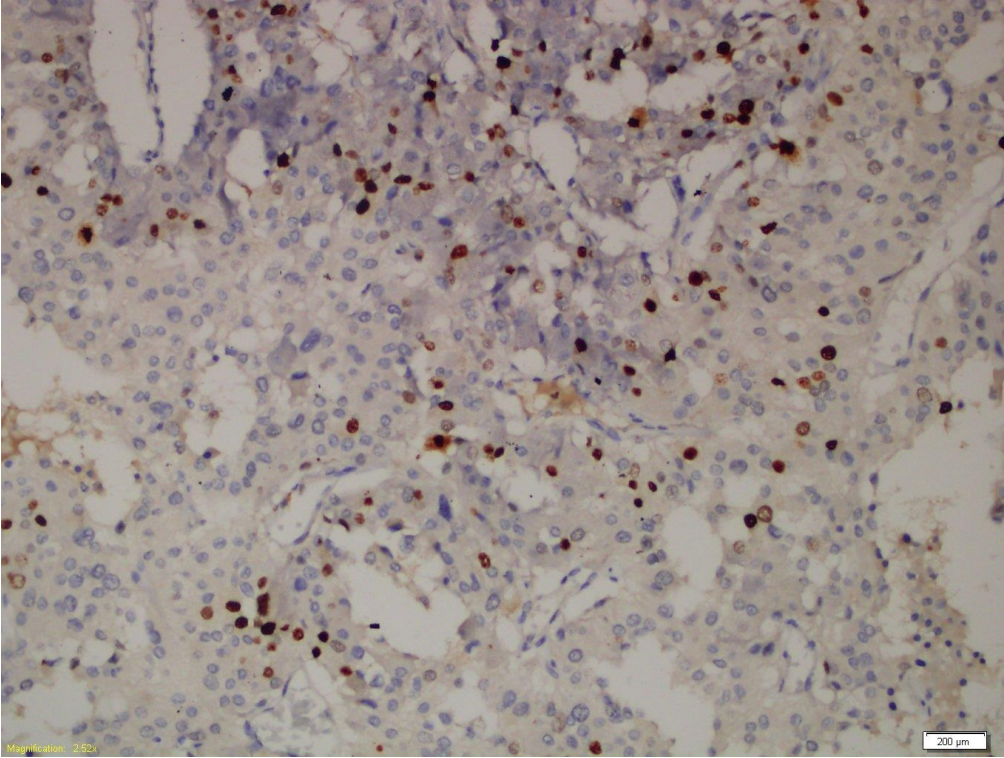
Resim 9: Feokromositomada nekroz, H&E, x100



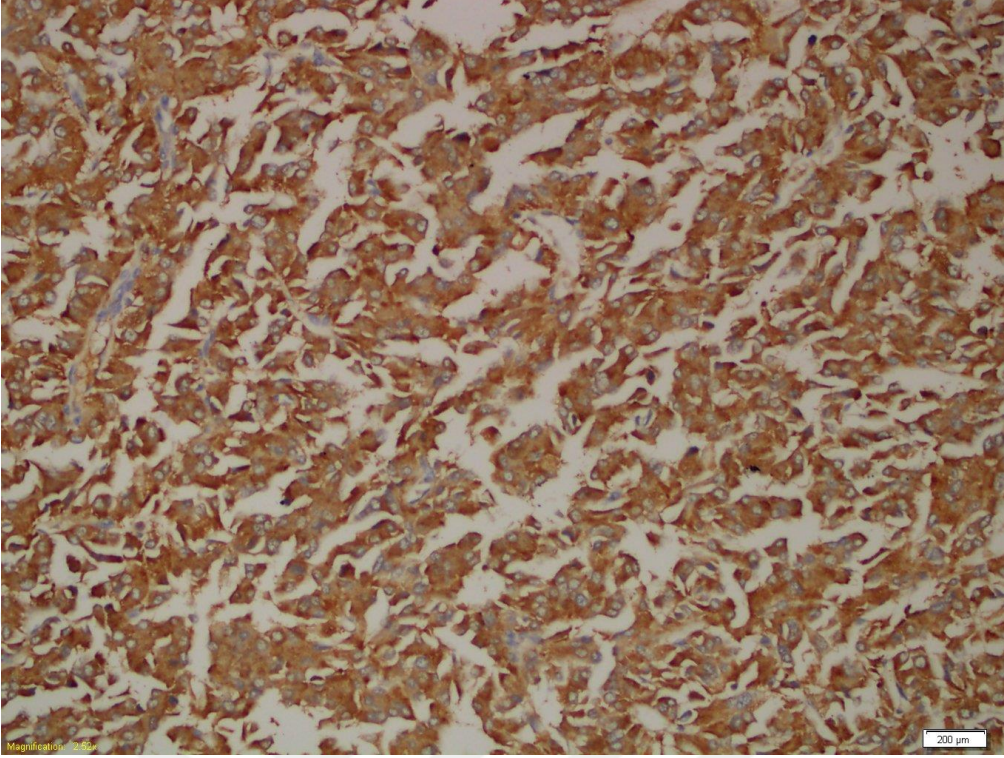
Resim 10: Feokromositomada vasküler invazyon, H&E, x100



Resim 11: Feokromositomada çevre yağ dokuya uzanım, H&E, x200



Resim 12: Feokromositomada immünohistokimyasal olarak nükleer Ki-67 pozitifliği, x400



Resim 13: Feokromositomada immünohistokimyasal olarak Kromogranin A pozitifliği,
x400

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Etiyolojisi tam olarak açıklığa kavuşturulamamış bir neoplazi olan feokromositoma, genellikle katekolamin ve bazı durumlarda peptid hormonları sentezleyen, nöral krestten köken alan adrenal medülladaki kromafin hücreler olarak da bilinen, sempatogonialardan gelişen feokromatoblastlardan mature olan, feokromatositlerden köken almakta ve bu gelişim diferansiyasyonun her aşamasında tümör meydana gelebilmektedir (1, 2, 3). Feokromositoma ilk kez 1886'da Frankel tarafından bildirilmiştir (4).

Feokromositoma adrenal medullanın sempatik paraganglioması olarak adlandırılabilir (1, 3, 7). Bazı araştırmacılar günümüzde adrenal medullada gelişenlerin Feokromositoma, adrenal medulla dışındaki ganglionlardan gelişen tümörlerin ise paraganglioma olarak isimlendirilmesini benimsemektedir (7). Bu tümörlerin klinik özellikleri (salgıladıkları hormanlara bağlı olarak) ve patolojik görünüşleri benzer özelliktedir. Feokromositomaların 2/3'ünden fazlası fonksiyonel ve semptomatiktir (6).

Bizim çalışmamızdaki yaş dağılımı 25-78 iken, Amit Agarwal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hastaların yaş dağılımı 13-65 olup benzer özelliktedir.

Çalışmamızda tümör ağırlığı ile nüks arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptamadık ($p=0,425$). Bu açıdan elde ettiğimiz sonuç Amit Agarwal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki sonuçlarla uyumlu idi (12). Yine Linnoila ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada malign tümörlerin ağırlıkları daha fazla olmasına karşın ağırlığın maligniteyi gösterme konusundaki yararının yeterli olmadığı belirtilmektedir (145) .

Bazı yayınlara göre tümör boyutu, maligniteyi işaret etme konusunda anlamlı olduğu belirtildiğinden, genel cerrahlar 6cm'den büyük tümörleri laparoskopik olarak çıkarmaktan genelde kaçınmaktadır (144). Fakat Amit Agarwal ve arkadaşlarının yaptığı gibi geniş serili çalışmalarda tümör çapı ile malignite arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (12). Biz de çalışmamızda benzer şekilde tümör çapı ile nüks arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamadık ($p(0.425)$).

Çalışmamızda tümör çapı ile her bir histopatolojik parametreyi ayrı ayrı karşılaştırdık. Çap ile kapsül invazyonu ($p=0,350$), vasküler invazyon ($p=0,119$), periadrenal yağ dokuya uzanım ($p=0,531$), geniş birleşen yuvalar ($p=0,560$), diffüz büyüme ($p=0,157$), nekroz ($p=0,254$), artmış hücresellik ($p=0,557$), içsileşme

(p=1,00), belirgin pleomorfizm (p=0,494), hücrel monotonluk (p=0,467), nükleer hiperkromazi (p=1,000), makronükleol (p=0,800), artmış mitoz (p=0,364), atipik mitoz (p=0,800), hyalin globül (p=0,517), nüks (p=0,425) arasında anlamlı istatistiksel sonuç bulamadık.

Genel olarak feokromositomalar üzerindeki çalışmalar mutasyonlar, proliferasyon markerları ve son zamanlarda malignite açısından faydalı olabilecek histolojik parametreler ve bu parametrelerin değişik kombinasyonları, bu kombinasyonların malignite ile korelasyonu üzerine yoğunlaşmaktadır. Bu nedenle bu tümörlerin mutasyonlarının belirlenmesine ve bu mutasyonların tümörün tanısı açısından öneminin ortaya konulmasına çalışılmakta olup, bunun yanı sıra histolojik parametrelerin standart bir kombinasyon altında birleştirilmesine çalışılmaktadır.

Bu bağlamda Thompson yaptığı çalışmada feokromositomalarda uygulanabilecek bir skora sistemi (Pheochromocytoma In Adrenal Gland Scalled Score - PASS) adı altında bazı histolojik parametreler belirlenmiştir (17). Yine bu sistem Amit Agarwal ve arkadaşları tarafından da değerlendirilmiştir (12).

Bu kriterler içinden; vasküler invazyon, kapsül invazyonu, nükleer pleomorfizm ve hiperkromazi gibi histolojik parametrelere skora sisteminde 1 puan verilmiş olup, bu parametreler dışında kalan; peridrenal yağ dokuya invazyon, geniş yuvalak ya da diffüz büyüme, fokal ya da konfluent nekroz, artmış hücrelilik, tümör hücrelerinde içsileşme, hücrel monotonluk, artmış mitotik figür (>3/10 bba), atipik mitotik figür gibi parametrelere ise 2 puan verilmiştir.

PASS sisteminin tümörün agresif davranma potansiyeli (PASS >ya da =4) veya benign davranma potansiyeli (PASS<4) açısından yardımcı olacağı yönünde pek çok çalışma yapılmıştır (12-15).

Thompson'ın yaptığı çalışmada; PASS skora sisteminin (PASS>4), tümörün metastatik potansiyelini gösterdiği belirtilmiştir (17). Auryan Szalat ve arkadaşlarının çalışmasında da, Thompson'un çalışmasını destekler nitelikte benzer sonuçlar elde edilmiştir. (13). Benzer şekilde Strong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da PASS skora sisteminin maligniteyi işaret etmede, kesinlikle anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır. Ki olgulardan malign olanların hepsinin skorlamasında PASS>4 iken, benign olgularda PASS<4 olması bunu doğrulamaktadır (146).

Amit Agarwalın yaptığı çalışmada >6cm olan olguların %41'i PASS>4 iken hiçbirinde metastaz görülmemiştir. <6 cm olan olguların %81'inde PASS<4,

%19'unda PASS>4 iken bu olguların hiçbirinde metastaz görülmemiştir. Bu nedenle benign ve malign olgular arasında bir kıyaslama yapılamamıştır (12). Bizim çalışmamızda ulaşılabilen olgulardan nüks görülen 3 (%13.6) olgunun tamamında PASS>4 idi. Nüks olmayan 8 (%36.4) olgunun 4'ünde (%50) PASS>4 idi. Yaptığımız çalışmada nüks ile PASS skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptamadık ($p=0,125$). Bu bağlamda nüks görülen olguların hepsinde PASS>4 olması PASS skorunun maligniteyi belirlemede işaret edici olsa da nüks görülmeyen olgulardaki PASS skoru oranının %50 olguda >4 olması PASS skorunun nüksü ya da maligniteyi destekleyebileceği sonucu ile örtüşmemektedir.

Çalışmamızda PASS skoru ile tümör boyutunu karşılaştırdığımızda; Wu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayı destekler nitelikte, istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulamadık ($p=0.221$).

Wu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PASS>4 ve PASS<4 olan olguların boyutları arasında fark olmadığı belirtilmiştir. Feokromositomaların kitle etkisinden çok hormonal aktivitesi ile klinik verdiği düşünülecek olursa, tümör boyutundan ziyade, hormonal olarak aktif olan tümörler, daha küçük boyutta iken klinik bulgular vererek, hemen opere ediliyor olmaları istatistiksel olarak bu anlamsızlığı haklı gösterir niteliktedir (147).

Çalışmamızda PASS skora sistemi ile nüks arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulamasak da, nüks ile diğer histopatolojik parametrelerin hepsini ayrı ayrı istatistiksel olarak değerlendirdik. Bunun sonucunda PASS skora sistemi ile nüks arasındakine benzer şekilde, nüks ile kapsül invazyonu ($p=0,621$), vasküler invazyon ($p=0,214$), genişlemiş ve birbiri ile birleşen yuvalar ($p=0,782$), diffüz büyüme ($p=0,621$), nekroz ($p=0,521$), artmış hücresellik, ($p=0,632$), tümör hücrelerinde içsileşme ($p=0,064$), hücrel monotonlaşma ($p=0,214$), artmış mitotik figür (>3/10 BBA) ($p=0,870$), herhangi atipik mitotik figür ($p=0,870$), pleomorfizm ($p=0,782$), nükleer hiperkromazi ($p=0,621$), hyalin globül yokluğu ($p=0,490$) arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulamadık.

Nagura S ve arkadaşları ile Kimura N ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda Ki-67 proliferasyon indeksi (MIB-1) gibi proliferasyon belirleyicilerinin prognoz ile ilişkisi araştırmışlardır(16,18). Bu çalışmalar Ki-67 ile immünohistokimyasal ekspresyonun malign gidişi belirlemede faydasını göstermişlerdir. Değerlendirme için yapılan çalışmalarda 3 eşik değer verilmiştir: >%2 (16), >%10 (17), >20 hücre / 200'lük büyütmede, en yoğun hücre alanında (18).

Çalışmamızda İstatistiksel olarak Ki-67 proliferasyon indeksi ile kapsül invazyonu (p=0,047) arasında anlamlı istatistiksel sonuç bulundu.

Ki-67 ile diğer parametrelerden, çap >5 cm (p=0,595), ağırlık >100 gr (p=0,962), eşlik eden medüller tiroid karsinomu (p=0,962), nüks (p=0,387), PASS<4 (p=0,690), PASS>4 (p=0,660), vasküler invazyon (p=0,323), periadrenal yağ dokuya uzanım (p=0,394), geniş birleşen yuvalar (p=0,665), diffüz büyüme (p=0,779), nekroz (p=0,329), artmış hücrelilik (p=0,674), içsileşme (p=0,193), belirgin pleomorfizm (p=0,595), hücreli monotonluk (p=0,962), nükleer hiperkromazi (p=0,193), atipik mitotik figür (p=0,075), artmış mitotik figür (p=0,329), hyalin globül (p=0,882), arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmadı.

Çalışmamızda özellikle Ki- 67 proliferasyon indeksi ile kapsül invazyonu arasında oransal olarak anlamlı sonuç bulundu. Ki- 67 proliferasyon indeksi ile nüks arasında anlamlı sonuç çıkmamasının (p=0,387) nedeninin olguların tamamına ulaşamaması ve az sayıdaki olguda değerlendirme yapabilmemize bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Ki-67 proliferasyon indeksindeki eşik değeri %2 olarak kabul eden Nagura ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Ki-67 proliferasyon indeksi benign olgularda %1.4 iken malign olgularda %3.3 çıkmış ve sonuçta istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (16). Aynı çalışmada yaş, cinsiyet, eşlik eden endokrin neoplazi gibi parametreleri ise istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Van der Harst ve arkadaşları ile Clarke ve arkadaşlarının yaptığı iki çalışmada eşik değeri %2 ve %3 olan yüksek değerler sadece %50 sensitivite ile maligniteleri kanıtlanmış tümör tanımlamıştır (19,20).

Literatürde belirtilene benzer şekilde, immünohistokimyasal olarak olgularımızda KromograninA ile %95 oranında immünekspresyon izlendi (3). Sinaptofizin uygulanan olguların tamamında immünekspresyon izlendi. Sustentaküler hücrelerde S-100 ile %95 oranında immünekspresyon izlendi ve bu bulgular tanılarımızı destekler nitelikte idi. Melan A ile %20 olguda fokal immünekspresyon

izlendi. Bu düşük orandaki ekspresyon feokromositomalardaki pigmentin nöromelanin olmasına bağlandı. EMA immunbelirleyicisi uygulanan olguların tamamında immünekspresyon izlenmemesi renal hücreli karsinom ile ayırıcı tanıyı destekledi. Hyalen globül 12 olguda PAS ile pozitif boyanma gösterirken 9 olguda diyastaza dirençli boyanma göstermiş olması literatür ile uyumluluk göstermekte idi (3).

Bulgularımızdan immünohistokimyasal belirleyicilerden KromograninA, Sinaptofizin, ve S-100 immünekspresyonu literatür sonuçları ile uyumlu olarak tanısal özellikte bulunmuştur. Histokimyasal çalışmada yapılan ve klasik bilgilerimiz içinde tanısal yardımcı bulgulardan tümöral hücrelerdeki intrasitoplazmik PAS (+) ve diyastaza dirençli hyalin globüllerin varlığı olgularımızda tanısal değerinde kabul edilmiştir. Ancak PASS skorumdaki, çoğu çalışmada eşik değer olarak kabul edilmiş olan, 4 değeri üzerinden yaptığımız değerlendirme literatürle uyumsuz olarak prognostik açıdan anlamlı bulunmadı. Yine Ki-67 proliferasyon indeksi ile malignite ve nüks arasındaki ilişki ayrı ayrı değerlendirilmiş olup, sonuçlar literatürdekinden farklı olarak anlamlı bulunmadı. Fakat literatürdeki çalışmalar arasında da çok farklı sonuçlar mevcuttur (12, 13, 14).

Çalışmamızdaki istatistiksel olarak anlamlı sonuçların çıkıp çıkmaması konusunda bizi sınırlayan üç nokta vardı.

- Birincisi, serimizin çok geniş olmaması
- İkincisi, bazı parametrelerin göreceli olarak yoruma dayanması
- Üçüncüsü ise, olguların tümüne ulaşamamış olmamızdır.

Histopatolojik parametrelerden herhangi birisinin tümör çapı ile ilişkisini ortaya koyma konusunda, özellikle artmış mitoz gibi, önemli parametrelerin istatistiksel verilerini tanısal değer olarak kullanabileceğimiz kanaatine varamadık.

Feokromositomalardaki bulgular arasındaki ilişkilerin net olarak ortaya konması için çalışmaların kişisel faktörlere bağlı olmayan histopatolojik kriterlerden oluşan daha standart bir skorum sistemiyle, daha geniş seriler üzerinde yapılmasına ihtiyaç olduğunu düşündük. Sonuç olarak; skorum sistemindeki parametrelerin daha geniş serilerde, belki de yeni değerlendirme, parametre ve kriterleri ile değerlendirilmesi bu grup tümörlerde tanı ve prognoz açısından daha net sonuçlara götüreceği kanaatine vardık.

6. ÖZET

Çalışmamızda esas olarak feokromositomalardaki histopatolojik parametreler ve Ki-67 proliferasyon indeksi ile prognoz korelasyonu ve immünohistokimyasal belirleyicilerin tanısal önemi değerlendirilmiştir.

Feokromositomalar genellikle katekolamin ve bazı durumlarda peptid hormonları sentezleyen adrenal medulladaki kromafin hücrelerin tümörüdür. Popülasyon çalışmalarında yıllık insidans 1 000 000'da 0.4–9.5 iken, malign feokromositoma insidansı 10 000 000'da 2.4 – 14 arasındadır.

Günümüzde feokromositoma için malign kararı metastaz ile verilmekte ise de ekstraadrenal büyüme malignite açısından ipucu olabilir. Feokromositomalar %10'ların tümörü olarak bilinir: %10 bilateral, %10 extra-adrenal, %10'u çocuklukta, %10'u malign ve %10'u çeşitli ailesel sendromlarla birlikte.

Bu çalışmada İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji bölümünde 2000-2010 yılları arasında, feokromositoma tanısı almış 22 olguda, feokromositomalarda son yıllarda pek çok çalışmada kullanılmış olan PASS skorlama sistemi, histopatolojik parametreler ve Ki-67 proliferasyon indeksi ile prognoz korelasyonu ve immünohistokimyasal belirleyicilerin tanısal değeri araştırılmıştır. İstatistiksel analiz için SPSS for Windows 17.0 programı kullanılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre nüks ile klinikopatolojik parametreler ve PASS skoru (PASS >4) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır.

PASS skoru ile çap (>5 cm), ağırlık (>100 gr), cinsiyet (kadın/erkek oranı) ve yaş (25-45 / 45-55 / >55) gibi klinikopatolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmamıştır.

Ayrıca olgularda çap ile klinikopatolojik parametreler ve nüks arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmamıştır.

Ki-67 proliferasyon indeksi ile kapsül invazyonu (p=0,047) arasında anlamlı istatistiksel sonuç, diğer klinikopatolojik parametreler ve PASS skoru (PASS>4) arasındaki ilişki, istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir.

Sonuç olarak; çalışmamızda elde edilen verilere göre bulgularımızın bir kısmı literatürü desteklerken büyük çoğunluğu farklı olarak bulunmuştur. Tüm bu ilişkilerin net olarak ortaya konması için araştırmaların kişisel faktörlere bağlı olmayan histopatolojik kriterlerden oluşan standart bir skorlama sistemiyle daha geniş gruplar üzerinde yapılmasına ihtiyaç vardır.

7. SUMMARY

In this study prognostic correlation of histopathologic parameters and Ki-67 proliferation index and as well as the diagnostic value of immunohistochemical markers in pheochromocytoma, is evaluated mainly.

Pheochromocytoma is a chromaffin cell tumor which produces catecholamine and sometimes peptide hormones from adrenal medulla. Annual incidence of pheochromocytoma and malign pheochromocytoma are reported as 0.4 – 9.5 / 1.000.000 and 2.4 – 14 / 1.000.000 per year, consecutively, in population based studies.

The decision of malignancy in pheochromocytoma is given according to the presence of metastasis. However, extraadrenal growth is another option for the decision of metastasis. Pheochromocytoma is known as 10%'s tumor. It is 10% bilateral, 10% extraadrenal, 10% malignant, 10% associated with different familial syndromes and 10% in childhood.

In this study, a total of 22 patients, diagnosed as pheochromocytoma between 2000 – 2010 years in Izmir Atatürk Training and Research Hospital were included. Diagnostic value of PASS scoring system, prognostic correlation of histopathologic parameters and Ki-67 proliferation index and immunohistochemical markers were investigated. SPSS for windows 17.0 software were used for statistical analysis.

According to the results, there was no statistically significant correlation between recurrence and clinicopathologic parameters and as well as PASS score (PASS > 4).

In addition to these results there were statistically significant correlation between PASS score and clinicopathologic parameters, such as diameter (5 cm), weight (> 100 g), gender (female / male ratio) and age (25 – 45 / 45 – 55 / > 55).

Besides that, there were no significant correlation between diameter and clinicopathological parameters and also recurrence.

There was statistically significant correlation between Ki-67 proliferation index and capsule invasion ($p = 0.047$).

As a result, some but not most of the findings in our study were concordant with the literature. To put forward the relationships clearly mentioned above, investigations with standard scoring systems which is not affected by subjective

factors and composed by appropriate histopathological criteria, should be made on large study groups.

8. KAYNAKLAR

1. Stephen S. Stenberg. Histology For Pathologists 3d Ed 1169-71, 2007.
2. Robbins ve Cotran. Hastalığın Patolojik Temeli 7. Baskı. 1219-20, 2007.
3. Ronald A. DeLellis, Ricardo V. Lloyd. World Health Organization Classification of Tumours Pathology & Genetics Tumours of Endocrine Organs. 151-5, 2004.
4. Mihai R. Farndon J.R. Surgical Embryology and Anatomy of the Adrenal Glands. In Clark, Philadelphia: W.B. Saunders; 447-59, 1997.
5. Orchard T, Grant CS, van Heerden J A, Weaver A. Pheochromocytoma continuing evolution of surgical therapy. Surgery 1140-53, 1993.
6. Christopher D. M. Fletcher. Diagnostic histopathology of tumors 3d Ed 1109-15 2007.
7. Rosai and Ackermans. Surgical Pathology tenth edition. 1076-8 2011.
8. Cuvier G L C. Lecons d'anatomie comparee Paris: Baudouin. 1800-5. 2001.
9. Beard C M, Sheps S G, Kurland L T, Carney J A, Lie J T. Occurrence of pheochromocytoma in Rochester, Minnesota, 1950 through 1979. Mayo Clin Proc 58: 802, 1983.
10. Sutton M G, Sheps S G, Lie J T. Prevalence of clinically unsuspected pheochromocytoma. Review of a 50-year autopsy series. Mayo Clin Proc 56: 354, 1987.
11. Harrison T S. Adrenal Glands. In: Schwartz SI: Principles of Surgery. 4th Ed 1488, 1985.
12. Amit Agarwal, Prateek K. Mehrotra, Manoj Jain, Sushil K. Gupta, Anjali Mishra, Gyan Chand, Gaurav Agarwal, A. K. Verma, S. K. Mishra. Size of the Tumor and Pheochromocytoma of the Adrenal Gland Scaled Score (PASS): Can They Predict Malignancy? Uttam Singh World J Surg 34: 3022–8, 2010.
13. Auryan Szalat, Merav Fraenkel, Victoria Doviner, Asher Salmon, David J. Malignant pheochromocytoma: Predictive factors of malignancy and clinical course in 16 patients at a single tertiary medical center. Gross Endocrinol 39: 160–6, 2011.

14. Pierre de Wailly, Luigi Oragano, Francois Radé, Anthony Beaulieu, Vincent Arnault, Pierre Levillain, Jean Louis Kraimps Langenbecks. Malignant pheochromocytoma: new malignancy criteria. *Langenbecks Arch Surg* Nov 239-46 2011.
15. Vivian E. Strong MD, Timothy Kennedy, MD, Hikmat Al-Ahmadie MD, Laura Tang MD, PhD, Jonathan Coleman MD, Yuman Fong MD, Murray Brennan MD, Ronald A. Ghossein MD. Prognostic indicators of malignancy in adrenal pheochromocytomas: clinical, histopathologic, and cell cycle/ apoptosis gene expression analysis. *New York Surg*; 143:759-68 2008.
16. Nagura S, Katoh R, Kawaoi A, Kobayashi M, Obara T, Omata K. Immunohistochemical estimations of growth activity to predict biological behavior of pheochromocytomas. *Mod Pathol* Dec;12(12): 1107-11. 1999.
17. Thompson LD. Pheochromocytoma of the Adrenal gland Scaled Score (PASS) to separate benign from malignant neoplasms: a clinicopathologic and immunophenotypic study of 100 cases. *Am J Surg Pathol* May;26: 551-66, 2002.
18. Kimura N, Miura W, Noshiro T, Miura Y, Ookura T, Nagura H. Ki-67 is an indicator of progression in neuroendocrine tumours. *Endocr Pathol* 5: 223-8 1994.
19. van der Harst E, Bruining HA, Jaap Bonjer H, van der Ham F, Dinjens WN, Lamberts SW, de Herder WW, Koper JW, Stijnen T, Proye C, Lecomte-Houcke M, Bosman FT, de Krijger RR. Proliferative index in phaeochromocytomas: does it predict the occurrence of metastases? *J Pathol* Jun;191:175-80. 2000.
20. Clarke MR, Weyant RJ, Watson CG, Carty SE Prognostic markers in pheochromocytoma *Hum Pathol* May;29(5): 522-6, 1998.
21. Venice: V.V. Lucchino. Anatomica de Renum structura, Efficio et Administratione. The Conquest of Addison's Disease. *Am J Surg* 280, 1997.
22. Gaunt R. History of the adrenal cortex, Washington, 165-75 1975.
23. Welbourn R B. The history of endocrine surgery. New York; 147-210. 1990.
24. Clark, O. H; Duh, Q. Textbook of Endocrine Surgery. Philadelphia Saunders;447-59. 1997.

25. Mihai R, Farndon J R. Surgical Embryology and Anatomy of the Adrenal Glands. Textbook of Endocrine Surgery. Philadelphia:447-59. 1997.
26. Orchard T, Grant CS, van Heerden J A, Weaver A. Pheochromocytoma continuing evolution of surgical therapy. Surgery 114: 1153, 1993.
27. Mihai.R., Farndon J.R. Surgical Embryology and Anatomy of the adrenal Glands. Textbook of Endocrine Surgery. Philadelphia:447-59. 1997.
28. Harrison T S, Adrenal Glands. Schwartz SI Principles of Surgery. Ed.4 Singapore, 1488, 1985.
29. Felix P, Baxter JD, Broadus AE, Frohman LA Endocrinology and Metabolism. New York 385, 1981.
30. Bondy PK, Rosenberg LE. Metabolic Control and Disease, Saunders, Philadelphia, 501, 1979.
31. Wells S A Jr, Santen R J, The pituitary and adrenal glands. In: Sabiston DC : Textbook of Surgery, 3d Ed; 13, 1986.
32. Neville A M, O'Hare M J. The Human Adrenal Cortex.. New York, 11, 1982.
33. Jeffrey A N. Adrenal. In: Seymour I, Schwartz MD. Principles Of Surgery, 1630-33, 1999.
34. Whalen R K, Althausen A F, Daniels G H. Extra-adrenal pheochromocytoma. J. Urol. 147: 1, 1992.
35. Heller, H. Lederis, K. Subcellular organization and function in endocrine tissues - Proceedings of a symposium held at the University of Bristol. Society for Endocrinology memoirs, vol 19. Bristol, England: Society for Endocrinol; 611-35, 1971.
36. Cotran R S, Kumar V, Robbins S L. Robbins Pathologic Basis of Disease. Ed.4, , WB Saunders, Philadelphia. 1248, 1989.
37. Mantero F, Terzolo M, Arnaldi G. A survey on adrenal incidentaloma in Italy. Study group on adrenal tumors of the Italian society of Endocrinology. J Clin Endocrinol Metab. 85: 637-44, 2000.
38. Netter F H. Ciba collection of medical illustrations. Endocrine System and Selected Metabolic Diseases. Vol.4. 77, 1965.
39. Tannenbaum M. Ultrastructural pathology of the adrenal cortex. In:Endocrine Pathology Deccermial. New York 423, 1975.

40. Williams P L, Warwick R W, Dyson M, Bannister L H. Gray's anatomy. New York: 1468-72. 1989.
41. Waldayer A; Mayet A. Anatomie des Menschen. Berlin:257-264. 1976
42. Gröndal S, Hamberger B. Adrenal Physiology. In: Clark, Textbook of Endocrine Surgery. Philadelphia:461-5. 1997.
43. Anderson E, Haymaker W, Joseph M. Hormonal and Electrolyte studies of Patients with Hyperadrenocortical Syndrome (Cushing Syndrome) *Endocrinol*, 185: 524-31. 1977.
44. Young J B; Landsberg L. Catecholamines and the Adrenal Medulla. In: Wilson, J. D. Williams Textbook of Endocrinology. Philadelphia: 665-728. 1998.
45. DE Graef J, Horak BJV. The incidence of pheochromocytoma in the Netherlands. *Acta Medica Scandinavica* 176: 583- 93 1964.
46. Beard CM, Sheps SG, Kurland LT, Carney JA, Lie JT. Occurrence of pheochromocytoma in Rochester, Minnesota, 1950 through 1979. *Mayo Clinic Proc* 1983; 58: 802-4 1983.
47. Lack EE. Tumors of the Adrenal Gland and Extra-adrenal Paraganglia. Atlas of Tumor Pathology, third series, Fascicle 19, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D C 1997.
48. Lack EE. Adrenal medullary hyperplasia and pheochromocytoma. *Pathology of the adrenal glands*. Churchill Livingstone, New York, 173-235 1990.
49. Lack EE. Pathology of adrenal and extra-adrenal paraganglia. Major problems in surgical pathology, vol 29. Philadelphia; 115-9 1994.
50. Mendonca WC, Espat PA. Pheochromocytoma associated with arterial fibromuscular dysplasia *Am J Clin Pathol*. 75(5):749-54. 1981.
51. Melicow MM. One hundred cases of pheochromocytoma (107 tumors) at the Columbia-Presbyterian Medical Center, 1926-1976: a clinicopathological analysis. *Cancer* 40(5):1987-2004. 1977.
52. Hartley L, Perry-Keene D. Pheochromocytoma in Queensland 1970–1983. *Aust NZ J Surg*; 55:471–75 1985.

53. Stenstrom G, Svardsudd K. Pheochromocytoma in Sweden 1958-1981. An analysis of the National Cancer Registry data. *Acta Med Scand* 220:225-32 1986.
54. Arnaldi G, Masini AM, Giacchetti G, Taccaliti A, Faloi E, Mantero F. Adrenal incidentaloma. *Braz J Med Biol Res* 33:1177-89 2000.
55. Bulow B, Ahren B. Adrenal incidentaloma: experience of a standardized diagnostic programme in the Swedish prospective study. The Swedish Research Council Study Group of Endocrine Abdominal Tumours. *J Intern Med* 252:239-46 2002.
56. Lamovec J, Frković-Grazio S, Bracko M. Nonsporadic cases and unusual morphological features in pheochromocytoma and paraganglioma. *Arch Pathol Lab Med* 122(1):63-8 1998.
57. de Mendonca WC, Espat PA. Pheochromocytoma associated with arterial fibromuscular dysplasia. *Am J Clin Pathol* 75(5):749-54 1981.
58. Sparagana M, Feldman JM, Molnar Z. An unusual pheochromocytoma associated with an androgen secreting adrenocortical adenoma. Evaluation of its polypeptide hormone, catecholamine, and enzyme characteristics. *Cancer* 15;60(2):223-31 1987.
59. Neumann HP, Berger DP, Sigmund G, Blum U, Schmidt D, Parmer RJ, Volk B, Kirste G N. Pheochromocytomas, multiple endocrine neoplasia type 2, and von Hippel-Lindau disease *Engl J Med* Nov 18;329(21):1531-8 1993.
60. Nibbelink DW, Peters BH, McCormick WF. On the association of pheochromocytoma and cerebellar hemangioblastoma. *Neurology* 19(5):455-60 1969.
61. Irvin GL 3rd, Fishman LM, Sher JA. Familial pheochromocytoma. *Surg* 94(6):938-40 1983.
62. Wilson RA, Ibanez ML. A. Comparative study of 14 cases of familial and nonfamilial pheochromocytomas *Hum Pathol* 9(2):181-8 1978.
63. Gifford RW Jr, Bravo EL, Manger WM. A Diagnosis and management of pheochromocytoma *Cardiology* 1:126-30 1985.
64. Manelli M, Lanelli L, cilotti A, conti A, Phaeochromascytoma in Italy: a multicentric retrospective study. *Eur J Andocrinl* 141: 619-24 1999.

65. Young Jr WF, Maddox DE. Spells: in search of a cause. *Mayo Clin Proc* 70: 757-65 1995.
66. Kudva YC, Young WFJr, Thompson GB, Grant CS, van Heerden JA. Adrenal incidentaloma An important component of the clinical presentation spectrum of benign sporadic adrenal pheochromocytoma. *Endocrinologist* 9:77-80 1999.
67. Taylor RL, Singh RJ. Validation of liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for analysis of urinary conjugated metanephrine and normetanephrine for screening of pheochromocytoma. *Clin Chem* 48: 533-9 2002.
68. Young WFJr. Pheochromocytoma: how to catch a moonbeam in your hand. *Eur J Endocrinol* 136: 28-9 1997.
69. Lenders JW, Keiser HR, Goldstein DS, Willemssen JJ, Friberg P, Jacobs MC, Kloppenborg PW, Thein T, Eisenhofer G. Plasma Metanephrines in the Diagnosis of Pheochromocytoma. *Ann Intern Med* 123: 101-9 1995.
70. Lenders JW, Pacak K, Walther MM, Linehan WM, Mannelli M, Friberg P, Keiser HR, Goldstein DE, Eisenhofer G. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: which test is best? *JAMA* 287: 1427-34 2002.
71. Sawka AM, Jaeschke R, Singh RJ, Young WFJr. A comparison of biochemical tests for pheochromocytoma: measurement of fractionated plasma metanephrines compared with the combination of 24-hour urinary metanephrines and catecholamines. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 553-8 2003.
72. Maurea S, Cuocolo A, Reynolds JC, Neumann RD, Salvatore M. Diagnostic imaging in patients with paragangliomas. Computed tomography, magnetic resonance and MIBG scintigraphy comparison. *Q J Nucl Med* 40: 365-71 1996.
73. Kinney MA, Warner ME, van Heerden JA, Horlocker TT, Young WF Jr, Schroeder DR, Maxson PM, Warner MA. Perianesthetic risks and outcomes of pheochromocytoma and paraganglioma resection. *Anesth Analg* 91: 1118-23 2000.
74. Francis IR, Korobkin M. Pheochromocytoma. *Radiol Clin North Am.* 34: 1101-2 1996.

75. Varghese JC, Hahn PF, Papanicolaou N, Mayo-Smith WW, Gaa JA, Lee MJ. MR differentiation of pheochromocytoma from other adrenal lesions based on qualitative analysis of T2 relaxation times. *Clin Radiol* 52:603 –6 1997.
76. Remine WH, Chong GC, Van Heerden JA, Sheps SG, Harrison EGjr. Current management of pheochromocytoma. *Ann Surg* 179: 740-8 1974.
77. DeLellis RA, Suchow E, Wolfe HJ. Ultrastructure of nuclear "inclusions" in pheochromocytoma and paraganglioma. *Hum Pathol* 11: 205-7 1980.
78. Landas SK, Leigh C, Bonsib SM, Layne K . Occurrence of melanin in pheochromocytoma. *Mod Pathol* 6: 175- 8 1993.
79. Linnoila RI, Keiser HR, Steinberg SM, Lack EE. Histopathology of benign versus malignant sympathoadrenal paragangliomas: clinicopathologic study of 120 cases including unusual histologic features. *Hum Pathol* 21: 1168-80 1990.
80. Ramsay JA, Asa SL, van Nostrand AW, Hassaram ST. de Harven EP. Lipid degeneration in pheochromocytomas mimicking adrenal cortical tumors. *Am J Surg Pathol* 11: 480-6 2001.
81. Unger PD, Cohen JM, Thung SN et al. Lipid degeneration in a pheochromocytoma histologically mimicking an adrenal cortical tumor. *Arch Pathol Lab Med* 114: 892-4 1990.
82. Li M, Weing BM. Adrenal oncocytic pheochromocytoma. *Am Surg Pathol* 24: 1552-7 2000.
83. Linnoila RI, Lack EE, Steinberg SM, Keiser HR. Decreased expression of neuropeptides in malignant paragangliomas: an immunohistochemical study. *Hum Pathol* 19: 41-50 1988.
84. Lloyd RV, Sisson JC, Shapiro B, Verhofstad AA. Immunohistochemical localization of epinephrine, norepinephrine, catecholamine- synthesizing enzymes, and chromogranin in neuroendocrine cells and tumors. *Am J Pathol* 125: 45-54 1986.
85. Lloyd RV, Blaivas M, Wilson BS. Distribution of chromogranin and S100 protein in normal and abnormal adrenal medullary tissues *Arch Pathol Lab Med*. Jul;109(7):633-5 1985.
86. Benn DE, Dwight T, Richardson AL, Delbridge L, Bambach CP, Stowasser M, Gordon RD, Marsh DJ, Robinson BG. Sporadic and familial

- pheochromocytomas are associated with loss of at least two discrete intervals on chromosome 1p. *Cancer Res* 60: 7048-51 2000.
87. Trump DL, Livingston JN, Baylin SB. Watery diarrhea syndrome in an adult with ganglioneuroma-pheochromocytoma: identification of vasoactive intestinal peptide, calcitonin, and catecholamines and assessment of their biologic activity. *Cancer* 40: 1526-32 1977.
 88. Tischler AS, Dayal Y, Balogh K, Cohen RB, Connolly JL, Tallberg K. The distribution of immunoreactive chromogranins, S-100 protein, and vasoactive intestinal peptide in compound tumors of the adrenal medulla. *Hum Pathol* 18: 909-17 1987.
 89. Chetty R, Duhig JD. Bilateral pheochromocytoma-ganglioneuroma of the adrenal in type 1 neurofibromatosis. *Am J Surg Pathol* 17: 837-41 1993.
 90. Lack EE, Kim H, Reed K. Pigmented ("black") extraadrenal paraganglioma. *Am J Surg Pathol* 22: 265-9 1998.
 91. Powers JF, Brachold JM, Tischler AS. Ret protein expression in adrenal medullary hyperplasia and pheochromocytoma. *Endocr Pathol* 14: 351-61 2003.
 92. Brandi ML, Gagel RF, Angeli A, Bilezikian JP, Beck-Peccoz P, Bordi C, Conte-Devolx B, Falchetti A, Gheri RG, Libroia A, Lips CJ, Lombardi G, Mannelli M, Pacini F, Ponder BA, Raue F, Skogseid B, Tamburrano G, Thakker RV, Thompson NW, Tomassetti P, Tonelli F, Wells SA Jr, Marx SJ. Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 5658-71 2001.
 93. Carney JA, Sizemore GW, Tyce GM. Bilateral adrenal medullary hyperplasia in multiple endocrine neoplasia, type 2: the precursor of bilateral pheochromocytoma. *Mayo Clin Proc* 50: 3-10 1975.
 94. Carney JA, Sizemore GW, Sheps SG. Adrenal medullary disease in multiple endocrine neoplasia, type 2: pheochromocytoma and its precursors. *Am J Clin Pathol* 66: 279-90 1976.
 95. Rudy FR, Bates RD, Cimorelli AJ, Hill GS, Engelman K. Adrenal medullary hyperplasia: a clinicopathologic study of four cases. *Hum Pathol* 11: 650-7 1980.

96. Medeiros LJ, Wolf BC, Balogh K, Federman M . Adrenal pheochromocytoma: a clinicopathologic review of 60 cases. *Hum Pathol* 16: 580-9 1985.
97. Melicow MM. One hundred cases of pheochromocytoma (107 tumors) at the Columbia-Presbyterian Medical Center, 1926-1976: a clinicopathological analysis. *Cancer* 40:1987-2004 1977.
98. Modlin IM, Farndon JR, Shepherd A, Johnston ID, Kennedy TL, Montgomery DA, Welbourn RB. Pheochromocytomas in 72 patients: clinical and diagnostic features, treatment and long term results. *Br J Surg* 66: 456-65 1979.
99. Orchard T, Grant CS, van Heerden JA, Weaver A. Pheochromocytoma-continuing evolution of surgical therapy. *Surgery*:114: 1153-8 1993.
100. Sakaguchi N, Sano K, Ito M, Baba T, Fukuzawa M, Hotchi M. A case of von Recklinghausen's disease with bilateral pheochromocytoma-malignant peripheral nerve sheath tumors of the adrenal and gastrointestinal autonomic nerve tumors. *Am J Surg Pathol*. Jul;20: 889-97 1996.
101. Scopsi L, Castellani MR, Gullo M, Cusumano F, Camerini E, Pasini B, Orefice S. Malignant pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2B syndrome. Case report and review of the literature, 82(5):480-4 1996.
102. Scott HWJr, Halter SA. Oncologic aspects of pheochromocytoma: the importance of follow-up. *Surgery* 96: 1061-6 1984.
103. Scott HW Jr, Reynolds V, Green N, Page D, Oates JA, Robertson D, Roberts S. Clinical experience with malignant pheochromocytomas. *Surg Gynecol Obstet* 154: 801-18 1982.
104. Lohmann DR, Funk A, Niedermeyer HP, Häupel S, Höfler H. Identification of p53 gene mutations in gastrointestinal and pancreatic carcinoids by nonradioisotopic SSCA. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 64: 293-6 1993.
105. John H, Ziegler WH, Hauri D, Jaeger P. Pheochromocytomas: can malignant potential be predicted? *Urology*. Apr;53: 679-83 1999.
106. Proye C, Racadot-Leroy N, Vix M, Vermesse B, Carnaille B. [Comparative secretory profiles of benign and malignant pheochromocytomas]. *Ann Chir.*;48: 430-4 1994.

107. Samaan NA, Hickey RC, Shutts PE. Diagnosis, localization, and management of pheochromocytoma. Pitfalls and follow-up in 41 patients. *Cancer*. Dec 62: 2451-60 1988.
108. Sheps SG, Jiang NS, Klee GG, van Heerden JA. *Mayo Clin Proc*. Jan 65: 88-95 1990.
109. Ulchaker JC, Goldfarb DA, Bravo EL, Novick AC. Successful outcomes in pheochromocytoma surgery in the modern era. *J Urol*. Mar;161(3):764-7 1999.
110. Salmi J, Pelto-Huikko M, Auvinen O, Karvonen AL, Saaristo J, Paronen I, Pöyhönen L, Seppänen S. Adrenal pheochromocytoma-ganglioneuroma producing catecholamines and various neuropeptides. *Acta Med Scand*.;224(4):403-8 1988.
111. Schlumberger M, Gicquel C, Lumbroso J, Tenenbaum F, Comoy E, Bosq J, Fonseca E, Ghillani PP, Aubert B, Travagli JP, Gardet P, Parmentier C. Malignant pheochromocytoma: clinical, biological, histologic and therapeutic data in a series of 20 patients with distant metastases. *J Endocrinol Invest*. Oct;15(9):631-42 1992.
112. Shapiro B, Sisson JC, Lloyd R, Nakajo M, Satterlee W, Beierwaltes WH. *Clin Endocrinol (Oxf)*. Feb 20: 189-203 1984.
113. Shapiro B, Sisson JC, Wieland DM, Mangner TJ, Zempel SM, Mudgett E, Gross MD, Carey JE, Zasadny KR, Beierwaltes WH. *J Nucl Biol Med*. Oct-Dec;35: 269-76 1991.
114. Unger P, Hoffman K, Pertsemlidis D, Thung S, Wolfe D, Kaneko M. S100 protein-positive sustentacular cells in malignant and locally aggressive adrenal pheochromocytomas *Arch Pathol Lab Med*. May 115: 484-7 1991.
115. Mornex R, Badet C, Peyrin L. Malignant pheochromocytoma: a series of 14 cases observed between 1966 and 1990 *J Endocrinol Invest*. Oct 15: 643-9 1992.
116. Pommier RF, Vetto JT, Billingsly K, Woltering EA, Brennan MF. Comparison of adrenal and extraadrenal pheochromocytomas. *Surgery*. 114(6):1160-5 1993.
117. Linnoila RI, Keiser HR, Steinberg SM, Lack EE. Histopathology of benign versus malignant sympathoadrenal paragangliomas: clinicopathologic study of

- 120 cases including unusual histologic features. *Hum Pathol* 21: 1168-80 1990.
118. Lam KY, Lo CY, Wat NM, Luk JM, Lam KS. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas *J Clin Pathol.* Jun;54(6):443-8 2001.
119. Dannenberg H, Speel EJ, Zhao J, Saremaslani P, van Der Harst E, Roth J, Heitz PU, Bonjer HJ, Dinjens WN, Mooi WJ, Komminoth P, de Krijger RR. Losses of chromosomes 1p and 3q are early genetic events in the development of sporadic pheochromocytomas *Am J Pathol.* Aug;157(2):353-9 2000.
120. Dannenberg H, de Krijger RR, Zhao J, Speel EJ, Saremaslani P, Dinjens WN, Mooi WJ, Roth J, Heitz PU, Komminoth P. Differential loss of chromosome 11q in familial and sporadic parasympathetic paragangliomas detected by comparative genomic hybridization *Am J Pathol.* Jun;158(6):1937-42 2001.
121. Lin SR, Lee YJ, Tsai JH. Mutations of the p53 gene in human functional adrenal neoplasms. *J Clin Endocrinol Metab* Feb;78(2):483-91 1994.
122. Yoshimoto T, Naruse M, Zeng Z, Nishikawa T, Kasajima T, Toma H, Yamamori S, Matsumoto H, Tanabe A, Naruse K, Demura H. The relatively high frequency of p53 gene mutations in multiple and malignant pheochromocytomas *J Endocrinol.* Nov;159(2):247-55 1998.
123. Dahia PL, Aguiar RC, Tsanaclis AM, Bendit I, Bydlowski SP, Abelin NM, Toledo SP. Molecular and immunohistochemical analysis of P53 in pheochromocytoma *Br J Cancer.* Nov;72(5):1211-3 1995.
124. Herfarth KK, Wick MR, Marshall HN, Gartner E, Lum S, Moley JF. Absence of TP53 alterations in pheochromocytomas and medullary thyroid carcinomas *Genes Chromosomes Cancer* Sep;20(1):24-9 1997.
125. van der Harst E, de Krijger RR, Bruining HA, Lamberts SW, Bonjer HJ, Dinjens WN, Proye C, Koper JW, Bosman FT, Roth J, Heitz PU, Komminoth P. Prognostic value of RET proto-oncogene point mutations in malignant and benign, sporadic pheochromocytomas *Int J Cancer* 79 :537-40 1998.
126. Gupta D, Shidham V, Holden J, Layfield L. Prognostic value of immunohistochemical expression of topoisomerase alpha II, MIB-1, p53, E-

- cadherin, retinoblastoma gene protein product, and HER-2/neu in adrenal and extra-adrenal pheochromocytomas *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 8: 267-74 2000.
127. García-Escudero A, de Miguel-Rodríguez M, Moreno-Fernández A, Navarro-Bustos G, Galera-Ruiz H, Galera-Davidson H. Prognostic value of DNA flow cytometry in sympathoadrenal paragangliomas *Anal Quant Cytol Histol.* 23:238-44 2001.
128. Held EL, Gal AA, DeRose PB, Cohen C. Image cytometric nuclear DNA quantitation of paragangliomas in tissue sections Prognostic significance *Anal Quant Cytol Histol.* 19:501-6 1997.
129. Nativ O, Grant CS, Sheps SG, O'Fallon JR, Farrow GM, van Heerden JA, Lieber MM. The clinical significance of nuclear DNA ploidy pattern in 184 patients with pheochromocytoma *Cancer* 69:2683-7 1992.
130. Pang LC, Tsao KC. Flow cytometric DNA analysis for the determination of malignant potential in adrenal and extra-adrenal pheochromocytomas or paragangliomas. *Arch Pathol Lab Med* 117: 1142-7 1993.
131. Brown HM, Komorowski RA, Wilson SD, Demeure MJ, Zhu YR. Predicting metastasis of pheochromocytomas using DNA flow cytometry and immunohistochemical markers of cell proliferation: A positive correlation between MIB-1 staining and malignant tumor behavior, *Cancer* Oct 86: 1583-9 1999.
132. Koch CA, Vortmeyer AO, Huang SC, Alesci S, Zhuang Z, Pacak K. Genetic aspects of pheochromocytoma *Endocr Regul* 35: 43-52 2001.
133. Neumann HP, Berger DP, Sigmund G, Blum U, Schmidt D, Parmer RJ, Volk B, Kirste G. Pheochromocytomas, multiple endocrine neoplasia type 2, and von Hippel-Lindau disease. *N Engl J Med.* Nov 329: 1531-8 1993.
134. Casanova S, Rosenberg-Bourgin M, Farkas D, Calmettes C, Feingold N, Heshmati HM, Cohen R, Conte-Devolx B, Guillausseau PJ, Houdent C , Bigorgne JC, Boiteau V, Caron J, Modigliani E. Pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2 A: survey of 100 cases. *Clin Endocrinol (Oxf)* 38: 531-7 1993.
135. Modigliani E, Vasen HM, Raue K, Dralle H, Frilling A, Gheri RG, Brandi ML, Limbert E, Niederle B, Forgas L, Rosenberg-Bourgin M, Calmettes C.

- Pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2: European study. The Euromen Study Group *J Intern Med* 238: 363-7 1995.
136. Walther MM, Keiser HR, Choyke PL, Rayford W, Lyne JC, Linehan WM. Management of hereditary pheochromocytoma in von Hippel-Lindau kindreds with partial adrenalectomy *J Urol*. 161:395-8 1999.
137. Webb TA, Sheps SG, Carney JA. Differences between sporadic pheochromocytoma and pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia, type 2 *Am J Surg Pathol*. 4:121-6 1980.
138. Westfried M, Mandel D, Alderete MN, Groopman J, Minkowitz S. Sipple's syndrome with a malignant pheochromocytoma presenting as a pericardial effusion *Cardiology*. 63: 305-11 1978.
139. van Heerden JA, Roland CF, Carney JA, Sheps SG, Grant CS. Long-term evaluation following resection of apparently benign pheochromocytoma(s)/paraganglioma(s) *World J Surg*. 14: 325-9 1990.
140. van Heerden JA, Sheps SG, Hamberger B, Sheedy PF 2nd, Poston JG, ReMine WH. Pheochromocytoma: current status and changing trends. *Surgery*. 91: 367-73 1982.
141. Kimura N, Watanabe T, Noshiro T, Shizawa S, Miura Y. Histological grading of adrenal and extra-adrenal pheochromocytomas and relationship to prognosis: a clinicopathological analysis of 116 adrenal pheochromocytomas and 30 extra-adrenal sympathetic paragangliomas including 38 malignant tumors. *Endocr Pathol*. Spring;16(1):23-32 2005.
142. Tang SH, Chen A, Lee CT, Yu DS, Chang SY, Sun GH. Remote recurrence of malignant pheochromocytoma 14 years after primary operation. *J Urol* 169: 269 2003.
143. Page DL, DeLellis RA, Hough AJ. Tumors of the adrenal. 2nd. ed. Armed Forces Institute of Pathology: Washington, DC 1985.
144. Harrison LE, Gaudin PB, Brennan MF. Pathologic features os prognostic significance for adrenocortical carcinoma after curative resection. *Arch Surg* 134(2): 181-5 1999.
145. Linnoila RÌ, Keiser HR, Steinberg SM, Lack EE. Histopathology of benign versus malignant sympathoadrenal paragangliomas: clinicopathologic study of

120 cases including unusual histologic features. Hum Patol 21(11): 1168-80 1990.

146. Strong VE, Kennedy T, Al-Ahmedie H, Coleman J, Fong Y et al. Prognostic indicator of malignancy in adrenal pheochromocytomas: clinical, Histopathologic and cell cycle/apoptosis gene expresyon analaysis. Surgery 143(6): 759-68 2008.

147. Wu D, tischler AS, Lloyd RV, DeLellis RA, de Krijger R, van Nederveen F et al. Observer variation in application of the pheochromocytoma of adrenal Gland Scaled Score. Am J Surg Pathol 33(4): 599-608 2009.

