



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**



**PANKREAS NÖROENDOKRİN TÜMÖRLERİNDE
PROLİFERASYON İNDEKSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİNDE DİJİTAL PATOLOJİNİN
ÖNEMİ**

Dr. Inga ADANIR

**TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Berna SAVAŞ**

**ANKARA
2023**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

PANKREAS NÖROENDOKRİN TÜMÖRLERİNDE
PROLİFERASYON İNDEKSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİNDE DİJİTAL PATOLOJİNİN
ÖNEMİ

Dr. Inga Adanır

TIBBİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Berna Savaş

ANKARA
2023

Ankara Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Pankreas Nöroendokrin Tümörlerinde Proliferasyon İndeksinin Değerlendirilmesinde Dijital Patolojinin Önemi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı İnsan Araştırmaları Etik Kurulu Birimi tarafından, 07.08.2023 tarihinde, İ07-491-23 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Inga Adanır

Tarih:

İmza:

ÖZGÜNLÜK RAPORU

PANKREAS NÖROENDOKRİN TÜMÖRLERİNDE PROLİFERASYON İNDEKSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE DİJİTAL PATOLOJİNİN ÖNEMİ

ORJİNALLİK RAPORU

%**7**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**6**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**3**

YAYINLAR

%**2**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Inga Adanir
Ödev başlığı: Tez
Gönderi Başlığı: PANKREAS NÖROENDOKRİN TÜMÖRLERİNDE PROLİFERASYO...
Dosya adı: tez_1.docx
Dosya boyutu: 27.69M
Sayfa sayısı: 104
Kelime sayısı: 19,969
Karakter sayısı: 136,654
Gönderim Tarihi: 13-Kas-2023 02:42ÖS (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 2226610690



KABUL ONAY SAYFASI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN	
Adı, Soyadı: Inga Adanır	Sınav tarihi: 27 /11 / 2023
Anabilim/Bilim Dalı: Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Berna Savaş	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER
Tezin Başlığı: Pankreas nöroendokrin tümörlerinde proliferasyon indeksinin değerlendirilmesinde dijital patolojinin önemi
Tezin Niteliği: ☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu: ☒ 1 ☐ 2 ☐ 3

III. KARAR
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin “Tıpta Uzmanlık Tezi” olarak ☒ Kabulüne ☐ Reddine ☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine ☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR
<i>Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız.</i>

Jüri Başkanı
Prof. Dr. Berna SAVAŞ
Anabilim/Bilim Dalı

Jüri Üyesi
Prof. Dr. Arzu ENSARİ
Anabilim/Bilim Dalı

Jüri Üyesi
Doç. Dr. Saba KİREMİTÇİ
Anabilim/Bilim Dalı

ÖNSÖZ

Patoloji uzmanlık eğitimim sürecinde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım; tezimin hazırlanmasında ilgisini, emeğini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli tez hocam *Prof. Dr. Berna SAVAS'a*,

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi birikimleri ve hayat tecrübeleri ile bana yol gösterici olan Patoloji Anabilim Dalı'ndaki saygıdeğer hocalarıma,

Asistanlık sürecinde dostlukları ile bana hep destek olan ve yanımda duran tüm asistan arkadaşlarıma,

Tez olgularımın dijital olarak ortama aktarılmasında özveri ile çalışan *Gökhan ÖZDOĞAN'a*,

Tezimin yapımında biyoistatistik konusunda yardımlarını esirgemeyen AÜTF Biyostatistik Ana Bilim Dalı *Arş. Gör. Murat Doğuş GÜNEL'e*,

Beni okutan, yetiştiren, doktor olmamı sağlayan; her zaman ve her şartta hep yanımda bulunan değerli aileme ve kıymetli eşime,

Bana her anımda destek olan ve benden binlerce kilometre uzakta bile yanımda kalan dostlarıma,

Varlığı ile bana güç ve ilham veren, hayatımın en parlak yıldızına, kızım *Safiyuşka'ya* teşekkür ediyorum.

Inga Adanır

Ankara, 2023

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Özgünlük Raporu	iii
Kabul Onay Sayfası	iv
Önsöz	v
İçindekiler	vi
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	ix
Şekiller Dizini	xii
Resimler Dizini	xiv
Tablolar Dizini	xvi
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	4
3. GİRİŞ VE AMAÇ	8
4. GENEL BİLGİLER	10
4.1. Pankreas Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi	10
4.1.1. Pankreas Embriyolojisi	10
4.1.2. Pankreas Anatomisi	11
4.1.3. Pankreas Histolojisi	12
4.2. Pankreas Nöroendokrin Neoplazilerde Tarihçe, Klinik Özellikler, Epidemiyoloji, Risk Faktörleri, Prognoz, Moleküler Değişiklikler ve Tedavi	14
4.2.1. Tarihçe	14
4.2.2. Klinik Özellikler	15
4.2.3. Epidemiyoloji	15
4.2.4. Risk Faktörleri	16
4.2.5. Prognoz	17
4.2.6. Moleküler Değişiklikler	19
4.2.7. Tedavi	19
4.3. Pankreas Nöroendokrin Neoplazilerde İmmünohistokimyasal İncelemesinin Önemi, Pankreas Nöroendokrin Neoplazi Klassifikasyonu.	20
4.3.1. Pankreas Nöroendokrin Neoplazilerde İmmünohistokimyasal İncelemesinin Önemi	20
4.3.1.1. Nöroendokrin Differansiasyonu Gösteren İmmünbelirteçler	20

4.3.1.2. Pankreas Nöroendokrin Neoplazilerde Ki67 Proliferasyon İndeksinin Önemi	22
4.3.2. Pankreas Nöroendokrin Neoplazi Klassifikasyonu. Ki67'ye ve Mitoz Sayısına Göre Sınıflanması, TNM Klassifikasyonu	24
4.3.2.1. Pankreas Nöroendokrin Neoplazi Klassifikasyonun Genel Bilgiler	24
4.3.2.2. Mitoz Değerlendirilmesi	25
4.3.2.3. Ki 67 Proliferasyon İndeksinin Değerlendirilmesi	25
4.3.2.4. TNM Klassifikasyonu	26
4.4. Pankreas Nöroendokrin Neoplaziler: PNET, PNEK ve MiNENs, PNET ve Herediter Sendromlar, Fonksiyonel PNET	28
4.4.1. PNET- İyi Diferansiye Pankreas Nöroendokrin Tümör	28
4.4.1.1. Non Fonksiyonel Pankreas Nöroendokrin Tümör (NF-PNET).	29
4.4.1.2. Fonksiyonel Pankreas Nöroendokrin Tümör (F-PNET)	29
4.4.2. PNEK- Az Diferansiye Pankreas Nöroendokrin Karsinoma	32
4.4.3. Pankreatik Mikst Nöroendokrin- Non-Nöroendokrin Neoplaziler (MiNEN)	33
4.4.4. PNET ve Herediter Sendromlar	33
5. GEREÇ VE YÖNEM	35
5.1. Olgü Seçimi	35
5.2. Histomorfolojik Değerlendirme	35
5.3. İmmünohistokimyasal Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi ve Ki67 Proliferasyon İndeksinin Belirlenmesi	41
5.3.1. Işık Mikroskopla Manuel Değerlendirme	41
5.3.2. Dijital Görüntü Üzerinde Manuel Değerlendirme	46
5.3.3. Dijital Olarak Otomatik Değerlendirme	48
5.4. İstatistiksel Değerlendirme	50
6. BULGULAR	52
6.1. Vaka Profili	52
6.2. Ki67 Proliferasyon İndeks Değerlendirme Sonuçları	58
6.3. Ki67 Proliferasyon İndeksinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemlerin Korelasyon Analizi	59
6.4. Ki67 Sonuçları ile Tümör Derecesinin Belirlenmesi	62
6.5. Tümör Derecesinin Değerlendirilmesinde Mitoz Sayısının ve Ki67 Proliferasyon İndeksinin İlişkisi	64

6.6. PNET ve PNEK'nin Elde Edilen Klinik ve Morfolojik Verilerle Karşılaştırmalı Özellikleri	65
6.7. Sağkalım	70
7. TARTIŞMA	75
8. SONUÇ VE ÖNERİLER	85
9. KAYNAKLAR	88



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α	: Alfa
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
AE1/AE3	: Anti-cytokeratin cocktail
AJCC	: American Joint Committee on Cancer
ALT	: Alternative Lengthening of Telomeres
APK	: Ana Pankreatik Kanal
ATRX	: Alpha thalassemia/mental retardation X-linked gene
ARID1A	: At-rich interaction domain containing protein 1A
AÜTF	: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
β	: Beta
BBA	: Büyük büyütme alanı
BHNEK	: Büyük hücreli nöroendokrin karsinoma
BRCA2	: Breast cancer gene 2
CA19-9	: Cancer antigen 19-9
CAM5.2, AE8/18	: Anti Sitokeratin Antijen
CCK	: Kolesistokenin
CD	: Cluster of Differentiation
CDK4, CDK6	: Cyclin dependent kinase 4, 6
CDKN2A	: Cyclin dependent kinase inhibitör 2A
CgA	: Kromogranin A
CI	: Confidence Interval
CHEK2	: Checkpoint kinase 2 gene
CEA	: Karsinoembriyonik antijen
CK	: Sitokeratin
CNV	: Copy Number Variation
CRH	: Corticotropin-releasing hormone
Δ	: Delta
DAXX	: Death domain-associated protein
DGA	: Dijital Görüntü Analizi
ϵ	: Epsilon
EBSK	: Ekstrapankreatik Birleşik Safra Kanalı
EMA	: Anti-Endomisial Antigen

ENETS	: European Neuroendocrine Tumor Society
FPNET	: Fonksiyonel Pankreatik Nöroendokrin Tümör
FOXA2	: Forkhead box protein A2
G	: Derece/Grade
GCGR	: Glukagon reseptörü geni
GEP-NET	: Gastroenteropatik Nöroendokrin Tümör
GHHN	: Glukagon hücre hiperplazisi ve neoplazisi
GHRH	: Growth-Hormone-Releasing Hormone
H3K36me3	: Histon H3 lizin 36 trimetilasyonu
HE	: Hematoksilen ve Eozin
HIF2A	: Hypoxia-inducible transcription factors
İBSK	: İntrapankreatik Birleşik Safra Kanalı
ICC	: Intraclass Correlation Coefficient
INSM1	: İnsulinoma-associated-protein 1
K	: Kappa
KHNEK	: Küçük hücreli nöroendokrin karsinoma
LN	: Lenf nodülü
MAFA	: V-Maf Avian Gen
MEN	: Multipl Endokrin Neoplazi
MiNEN	: Mikst Nöroendokrin- Non-Nöroendokrin Neoplaziler
miRNA	: Micro Ribonucleic acid
Mkm	: Mikrometre
mTOR	: Mammalian target of rapamycin
MUC	: Anti Musin Antigen
MUTYH	: MUTY homolog Esherichia coli gene
NCAM	: Nöral Hücre Adezyon Molekül
NCCN	: The National Comprehensive Cancer Network kılavuzu
NEK	: Nöroendokrin Karsinoma
NET	: Nöroendokrin Tümör
NEN	: Nöroendokrin Neoplazi
NF1	: Neurofibromin 1
NF-PNET	: Non-Fonksiyonel Pankreatik Nöroendokrin Tümör
NSE	: Nöron Spesifik Enolaz
NF1	: Nörofibromatöz 1
p16	: Protein p16

p53 (TP53)	: Protein p53 (TP53)
PAS	: Periyodik Asit Schiff
PDX1 gen	: Pankreatik ve Duodenal Homeobox 1 Geni
PET	: Positron emission tomography
PI3K/mTOR	: The phosphatidylinositol-3-kinase/Akt and the mammalian target of rapamycin Signaling
PNEN	: Pankreatik Nöroendokrin Neoplazi
PNET	: Pankreatik Nöroendokrin Tümör
PNEK	: Pankreatik Nöroendokrin Karsinoma
PK	: Pankreas Kanseri
POMC	: Pro-opiomelanocortin
PP	: Pankreatik Polipeptid
PRRT	: Peptit reseptörü radyonüklid tedavi
PTEN	: Phosphatase and tensin homolog
PTHrP	: Parathyroid Hormone-Related Peptid
PV	: Portal Ven
RBI	: Retinoblastoma gene
RNA	: Ribonucleic acid
TSC	: Tuberoskleroz
SEER	: Surveillance, Epidemiology and End Results
SETD2	: SET domain containing 2 gene
SMV	: Superior Mezenterik Ven
SMA	: Superior Mezenter Arteri
SMAD4	: Mothers against decapentaplegic homolog 4 drosophila
SPY	: Sinaptofizin
SSTR-2	: Somatostatin 2 reseptörü
VAP2	: Vasküler Adezyon Protein-1
VIP	: Vazoaktif İntestinal Polipeptid
VHL	: Von Hippel-Lindau hastalığı
VMAT2	: Vesicular Monoamine Transporter 2
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 6.1.	PNEN olgularının cinsiyet ve yaş dağılımı.	52
Şekil 6.2.	PNEN olgularının geçirilmiş ameliyat tiplerine göre dağılımı.	52
Şekil 6.3.	Tümörlerin anatomik lokalizasyona göre dağılımı.	53
Şekil 6.4.	Tümör sayısına göre dağılım.	53
Şekil 6.5.	Fonksiyonel ve Sendromik tümörlerin dağılımı	54
Şekil 6.6.	Tümör boyutuna göre dağılım.	54
Şekil 6.7.	Histolojik paternlere göre dağılım.	55
Şekil 6.8.	Mitoz sayısına göre dağılım.	55
Şekil 6.9.	Lenfovasküler ve perinöral invazyona göre dağılımı.	56
Şekil 6.10.	Olguların metastatik lenf nodülü ve uzak metastaz varlığına göre dağılım.	56
Şekil 6.11.	Pankreas dışında invazyon durumuna göre dağılımı.	57
Şekil 6.12.	Cerrahi sınır pozitifliği ve tümör sınırlarının dağılımı.	57
Şekil 6.13.	Nekroz varlığına göre dağılım.	58
Şekil 6.14.	PNEN olgularının TNM evresine göre dağılımı.	58
Şekil 6.15.	Değerlendirilen vakaların DSÖ kriterlerine göre (Ki67 <%3, NET grade 1; %3–20, NET grade 2; >%20, NET grade 3) dağılımı.	59
Şekil 6.16.	Üç farklı yöntemle yapılan değerlendirme sonucunda elde edilen Ki67 indeks sonuçlarının korelasyonu.	60
Şekil 6.17.	Işık mikroskopla manuel değerlendirme ile dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme arasındaki korelasyon.	61
Şekil 6.18.	Dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme ile dijital görüntüde otomatik değerlendirme arasındaki korelasyon.	61
Şekil 6.19.	Işık mikroskopla manuel değerlendirme ile dijital görüntüde otomatik değerlendirme arasındaki korelasyon.	61
Şekil 6.20.	Değerlendirilen vakaların DSÖ kriterlerine göre (Ki67 <%3, NET grade 1; %3–20, NET grade 2; >%20, NET grade 3) dağılımı.	62
Şekil 6.21.	Mitoz sayısı ve Ki67 proliferasyon indeksine göre tümör derecelerinin karşılaştırması.	65
Şekil 6.22.	PNEN'lerin DSÖ sınıflandırmasına göre tanımlanan morfolojik özelliklere göre dağılımı.	66
Şekil 6.23.	Ki67 proliferatif indeksine göre dağılıma bağlı olarak NET grade 1, 2, 3 ve NEK olmak üzere 4 gruba ait dağılım.	66

Şekil 6.24. Düşük ve orta dereceli (NET grade 1 ve 2) pankreas tümörü olan hastalar için genel sağkalım grafiği.	71
Şekil 6.25. Az diferansiye pankreas NEK olan hastalar için genel sağkalım grafiği.	72
Şekil 6.26. Pankreas NET grade 3 (yüksek dereceli tümör) olan hastalar için genel sağkalım grafiği.....	72
Şekil 6.27. Ki-67 indeksinin ölçülmesine yönelik üç farklı yöntemle göre hayatta kalma analizinin tutarlılığı	74



RESİMLER DİZİNİ

Resim 4.1.	Pankreas Embriyolojisi (7).....	10
Resim 4.2.	Pankreas Anatomisi (7)	11
Resim 4.3.	Pankreas histolojisi (7).....	13
Resim 4.4.	Tüm Yaş Gruplarındaki Erkeklerde En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2017)(14).....	16
Resim 4.5.	Tüm Yaş Gruplarındaki Kadınlarda En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2017)(14).....	16
Resim 4.6.	Genetik ve epigenetik imzalara dayalı pankreas nöroendokrin tümör sınıflandırması (16)	18
Resim 4.7.	PNEN için öngörücü bir belirteç olarak Ki67'nin tanıtılmasının zaman çizelgesi (24).	22
Resim 4.8.	DSÖ 2010 Pankreas nöroendokrin neoplazmalarının sınıflandırması (26).....	24
Resim 4.9.	Pankreatik Nöroendokrin Neoplazmaların 2017 ve 2010 DSÖ Sınıflandırması ve Derecelendirmesinin Karşılaştırılması (22)	25
Resim 4.10.	PNEN için AJCC evreleme sisteminin 7. ve 8. baskısının özeti ve karşılaştırması.....	27
Resim 5.1.	Histolojik paternler. (A-B) Asiner patern (HE x20 ve 40x). (C-D) İnsular patern (HE x20 ve x40). (E) Solid patern (HE x40). (F) Solid ve Kribriform patern (HE x40). (G-H) Trabeküler patern (HE x20 ve x40).	37
Resim 5.2.	(A-B) İnfiltratif sınırlı PNEN (HEx10). (C) İyi sınırlı PNEN (HE x10). (D) İyi sınırlı kistik PNEN (HEx 0,7).	38
Resim 5.3.	(A) Ampulaya ve Duodenuma invazyon gösteren PNEN (HEx10). (B) Peripankreatik Yumuşak dokuya invazyon gösteren PNEN (HEx10).....	38
Resim 5.4.	(A-B) Nekroz gösteren PNEN (HEx10). (C-D) PNI gösteren PNEN (HEx 10 ve x20). (E) LVİ gösteren PNEN (HEx20). (F) Tümör trombüsü içeren PNEN (HEx 20).....	39
Resim 5.5.	Makroskopik görünüm. (A-B) Whipple operasyon materyali, (C-D) Distal pankreatektomi, E- Pankreas Enükleasyonu	40
Resim 5.6.	(A-B) PNET G1 (HE x10 ve x20). (C) Kromogranin A (İHKx20). (D) Sinaptofizin (İHKx20).....	42

Resim 5.7. (A-B) PNET G2 (HEx20 ve x40). (C) Kromogranin A (İHKx20). (D) Sinaptofizin (İHKx20).....	43
Resim 5.8. (A-B) PNET G3 (HEx40). (C) Kromogranin A (İHKx20). (D) Sinaptofizin (İHKx20).....	44
Resim 5.9. (A-B) Büyük Hücreli PNEK (HE x20 ve x40). (C) Kromogranin A (İHK x20). (D) Sinaptofizin (İHKx20).....	45
Resim 5.10. (A-B) Küçük Hücreli PNEK (HE x20 ve x40). (C) Kromogranin A (İHKx 20). (D) Sinaptofizin (İHK x20).....	46
Resim 5.11. Dijital olarak manuel değerlendirme (hot spot işaretlenmesi) örneği.	47
Resim 5.12. Dijital olarak manuel değerlendirme (hot spot işaretlenmesi ve kantitatif analiz) örneği.	47
Resim 5.13. Dijital olarak manuel değerlendirmenin sonuç örneği.	48
Resim 5.14. Dijital görüntüde “hot spot” alanda otomatik olarak işaretleme ve kantitatif analiz örneği.....	49
Resim 5.15. Dijital otomatik değerlendirmede +2 pozitif olarak değerlendirilen Ki67 pozitif tümör hücresi.	49
Resim 5.16. Dijital otomatik değerlendirmede Ki67 +1 pozitif olarak değerlendirilen tümör hücresi.	50
Resim 5.17. Dijital görüntüde otomatik değerlendirmenin sonuç örneği.	50

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 6.1. Değerlendirilen vakaların DSÖ kriterlerine göre (Ki67 <%3, NET grade 1; %3–20, NET grade 2; >%20, NET grade 3) tablosu.....	59
Tablo 6.2. Sınıf İçi Korelasyon tablosu.....	60
Tablo 6.3. Işık mikroskopla manuel değerlendirme ve dijital görüntüde otomatik değerlendirme ile elde edilen Ki67 proliferasyon indeks sonuçlarına göre tümör derecelendirmesinin karşılaştırması.	63
Tablo 6.4. Dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme ve dijital görüntüde otomatik değerlendirme ile elde edilen Ki67 proliferasyon indeks sonuçlarına göre tümör derecelendirmesinin karşılaştırması.	63
Tablo 6.5. Işık mikroskopla manuel değerlendirme ve dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme ile elde edilen Ki67 proliferasyon indeks sonuçlarına göre tümör derecelendirme sonuçlarının karşılaştırması.	64
Tablo 6.6. Mitoz sayısı ve Ki67 proliferasyon indeksine göre tümör derecelendirmesinin karşılaştırması.	65
Tablo 6.7. Proliferatif indeksi hesaplamak için üç yöntemle belirlenen derecelere göre pankreasın nöroendokrin neoplazmlarının klinikopatolojik özellikleri (Ki67 <%3- NET G1; Ki67 %3-%20- NET G2; Ki67 >%20-NET G3, Ki67>%20-NEK G3).	67
Tablo 6.8. Morfolojik özellikler ile tümör derecesi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değerlerinin tablosu.	70
Tablo. 6.9. Genel sağkalıma ait özet tablo.	71

1. ÖZET

Amaç: Çalışmamızda, pankreasın nöroendokrin tümörlerinde diferansiyasyonun belirlenmesi ve gradeleme yapılabilmesi için gerekli olan Ki67 proliferasyon aktivite indeksinin üç ayrı sayım yöntemi kullanılarak hesaplanması ve rutin uygulamada hangi yöntemin daha uygun olacağının belirlenmesi hedeflenmiştir. Ayrıca pankreatik nöroendokrin tümörlerin anatomik lokalizasyon, histomorfolojik özellikler ile ilişkisinin gösterilmesi ve bunların prognoz üzerindeki etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ocak 2000 – Ağustos 2023 tarihleri arasında pankreatik nöroendokrin neoplazi ön tanısı ile ameliyat edilen ve bölümümüzde yapılan histopatolojik inceleme ve immünohistokimyasal değerlendirme sonucunda nöroendokrin tümör veya karsinom tanısı alan hastalar Avicenna programı üzerinden taranmıştır. Buna göre pankreas kaynaklı endokrin tümör olguları değerlendirmeye alınmıştır. Dahil edilme kriterlerine sahip olan olgulara ait bölümümüz arşivinde bulunan hematoksilin-eozin kesitleri, nöroendokrin belirteç (Sinaptofizin ve Kromogranin A) ve Ki67 boyalı immünohistokimyasal kesitler yeniden değerlendirmeye alınmıştır.

Daha önce hematoksilin ve eozin ile boyanmış preparatları değerlendirirken, tanıyı doğrulamak için gerekli mitoz sayısı da dahil olmak üzere pankreas nöroendokrin neoplazisinin histomorfolojik özellikleri tanımlanmıştır.

İmmünohistokimyasal olarak boyanmış kesitler, önce ışık mikroskopunda incelenecek, Ki67 proliferasyon indeksi ışık mikroskopunda boyanmanın yoğun olduğu “hot spot” alanlarda x40 büyütme ile 2000 tümör hücresinde pozitif nükleer boyanan tümör hücreleri sayılarak hesaplanmıştır.

İkinci olarak sayım x40 objektifli 3DHitech Panoramic Scanner (P250 Flash III) kullanılarak yapılmıştır. Ki67 immünohistokimya boyalı kesitler 3DHitech Panoramic Scanner (P250 Flash III)’da taranmıştır. Taranan slayt görüntüleri üzerinde patolog tarafından manuel olarak en yüksek Ki67 immünoreaktivite yoğunluğuna sahip alanlar (“hot spot”), 400x büyütmede seçilmiştir. Bu alanların yarı otomatik dijital analiz software (Case Viewer 2.5 rtm) kullanılarak yüksek çözünürlüklü görüntü formatında dışa aktarılması yapılmıştır. Tüm olgular için Ki67 immünoreaktivitesi, pozitif tümör hücrelerinin sayısının minimum 2000 toplam tümör hücresine bölünmesiyle verilen nükleer boyanan tümör hücrelerinin yüzdesi olarak ifade edilmiştir.

Daha sonra patolog tarafından seçilen aynı sıcak nokta alanlarını otomatik program (Quant Center, Cell Quant rejim) değerlendirecek ve ardından yüzde olarak ifade edilen, pozitif

olarak boyanmış hücrelerin sayısı ve toplam hücre sayısının sonucundan oluşacak olan sonucu verilmiştir.

Toplam 87 Pankreatik nöroendokrin neoplazi olgusunun değerlendirilmesi yapılmıştır. Hastaların yaş, cinsiyet, ameliyat türü, tanı, evre, tümör lokalizasyonu, tümör boyutu, cerrahi rezeksiyon alanında tümör varlığı, nekroz varlığı, lenfovasküler ve/veya perinöral invazyon varlığı, lenf nodu metastazı ve uzak metastaz varlığı değerlendirilecek, hastalara ait gibi klinik bilgiler “Hastane Bilgi Sistemi” sisteminden elde edilmiştir. Tanıları doğrulamak veya değiştirmek için seçilen hematoksil-eozin boyalı kesitler en son 2017 Dünya Sağlık Örgütü Endokrin sınıflandırmasına göre yeniden belirlenmiştir.

Bulgular: Çalışmaya yaş ortalaması 51,6 olan 52 kadın (%59,8) ve 35 (%40,2) erkek hasta dahil edildi. Tüm vakaların tanı anındaki ortalama yaşı 51,60 olarak bulundu. Yaş aralığı 24-83 yaş arasında değişmekteydi. Işık mikroskopla manuel Ki67 sayma yöntemi ile 25 G1 PNET olgusu, 43 G2 PNET olgusu ve 19 G3 PNET ve PNEK olgusu tanımlandı. Dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirmede, 32 olgu G1 PNET, 36 olgu G2 PNET ve 19 olgu G3 PNET ve PNEK olarak değerlendirildi. Dijital görüntüde otomatik değerlendirmede, 23 olgu G1 PNET, 32 olgu G2 PNET ve 19 olgu G3 PNET ve PNEK olarak değerlendirildi. Çalışmamızda her olgu için ışık mikroskopla manuel değerlendirme, dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme ve dijital görüntüde otomatik değerlendirme olmak üzere üç farklı yöntemle elde edilen Ki67 proliferasyon indeksi sonuçları arasındaki uyum değerlendirildi. İstatistiksel olarak sınıf içi korelasyon katsayısı (Intraclass Correlation Coefficient-ICC) 0,964 ile 0,983 (ortalama 0,975) arasında saptandı. Ki67 proliferasyon indeksini hesaplamaya yönelik üç yöntemin arasında yüksek düzeyde bir korelasyon olduğu görüldü. Çalışmamızda kullanılan Ki67 proliferatif indeksi hesaplama yöntemlerinin sonuçlarının birbiri ile istatistiksel olarak anlamlı ve uyumlu olduğu tespit edildi ($p<0,0001$). Ki67 sonuçları ile tümör derecesinin belirlenmesinde dijital görüntüde otomatik değerlendirme ve dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme yöntemleri kullanıldığında, tümör derecesinin daha düşük tespit edildiği; ışık mikroskopla manuel hesaplama yöntemi kullanıldığında ise tümör derecesinin daha yüksek belirlendiği görüldü.

Mitoz sayısına ilişkin elde edilen sonuçlar ile ışık mikroskopunda değerlendirilen Ki67 proliferatif indeks sonuçları karşılaştırıldığında mitoz sayısı ile Ki67 arasında yüksek bir korelasyon bulunduğu saptandı ($p<0,0001$).

Karşılaştırmalı analizlerde, olgularda cinsiyet ($p<0,05$), tümör sınırları ($p<0,001$), TNM evresi ($p<0,001$), histolojik patern ($p<0,001$), nekroz varlığı ($p<0,05$), mitoz sayısı ($p<0,001$), ek invazyon varlığı ($p<0,001$), PNİ ($p<0,05$), LVİ ($p<0,001$), metastatik LN ($p<0,05$) ve uzak metastaz ($p<0,001$) varlığı açısından istatistiksel farklılıklar olduğunu saptandı ($p<0,05$). Yaşı,

tümörün fonksiyonel olması veya sendromik tümör varlığı, tümör lokalizasyonu, pozitif cerrahi sınır ve tümör boyutunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$).

Düşük ve orta dereceli PNEN olgularında ortalama yaşam süresinin tanıdan sonra 160 ay olduğu belirlendi. NET derece 3 olgularda ortalama yaşam süresinin tanıdan sonra 18 ay olduğu saptandı. Az diferansiye NEK tanısı olan hastaların ortalama yaşam süresinin tanıdan sonra 25 ay olduğu belirlendi.

Sonuç: Çalışmamız grade 1 ve 2 PNET'lerde kadın baskınlığını; grade 3 PNET'lerde ve PNEK'de ise erkek baskınlığını ortaya çıkardı. Çalışmamızda yer alan 14 hastada (%16) PNEK tanısı bulunmakta ve bu hastalarda ortalama yaşın 54 olduğu saptandı. Çalışmamızda 79 (%95,41) tümör sporadikti. 4 (%4,59) kalıtsal sendrom vakası tespit edildi. Çalışmamızda 13 (%85) fonksiyonel tümör vakası belirlendi.

Çalışmamızda Ki67 proliferatif indeksi ve mitoz sayısı sonuçlarına göre evreleme sonuçları karşılaştırıldığında yüksek bir korelasyon bulunduğu görüldü. Çalışmamızda Ki67 proliferatif indeksi değerlendirirken üç sayma yöntemini (ışık mikroskobu kullanılarak manuel sayma, dijital görüntü kullanılarak manuel sayma ve otomatik program) kullanıldı ve ICC ortalaması 0,975 olarak saptandı. Sonuçta Ki67 proliferasyon indeksini hesaplamaya yönelik üç yöntem arasında yüksek düzeyde bir korelasyon bulunduğu görüldü.

PNEN'in differansiyasyon derecesini etkileyen parametreleri değerlendirirken 9 parametre tanımlandı: morfolojik differansiyasyonun kaybı, tümör sınırlarının karakteri, komşu dokulara/organlara invazyon varlığı, nekroz varlığı, mitoz sayısı, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığı, lenf nodülerinde ve/veya uzak organlarda metastaz. Hastanın yaşı, fonksiyonel tümör veya sendromik tümör varlığı, tümör lokalizasyonu, pozitif cerrahi sınır ve tümör boyutu parametreleri PNEN farklılaşmasının tanımıyla bir ilişki göstermedi.

Genel sağkalım değerlendirilirken, cerrahi rezeksiyondan sonraki ortalama sürenin, PNET grade 1 ve PNET grade 2'nin, PNET grade 3 ve PNEK grade 3'e kıyasla yüksek bir genel sağkalım gösterdiği ortaya çıktı. PNET grade 3 ve PNEK grade 3'nün genel sağkalım karşılaştırıldığında, benzer değerlere rağmen PNEK grade 3, PNET grade 3'ye göre daha yüksek genel sağkalım gösterdi.

Çalışmamızın sonuçları, Ki67 proliferatif indeksinin belirlenmesinde dijital görüntü üzerinde otomatik sayıma dayanan programların, PNEN tanısı ve sınıflaması için rutin uygulamada kullanılabileceğini gösterilmiştir. Bununla birlikte; her üç yöntem kullanılarak yapılan değerlendirmede, pozitif boyanan hücrelerin tümör hücresi olduğundan emin olunarak sayım yapılmasının sonucu değiştirebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Pankreas, Nöroendokrin Neoplazi, Ki67, Dijital analiz

2. ABSTRACT

Aim: In our study, it was aimed to calculate the Ki67 proliferation activity index, which is necessary for determining the differentiation and grading in neuroendocrine tumors of the pancreas, using three separate counting methods and to determine which method would be more appropriate in routine practice. In addition, it was aimed to show the relationship between pancreatic neuroendocrine tumors and their anatomical localization, histomorphological features and to investigate their effects on prognosis.

Materials and methods: Patients who underwent surgery with the preliminary diagnosis of pancreatic neuroendocrine neoplasia between January 2000 and August 2023 and were diagnosed with neuroendocrine tumor or carcinoma as a result of the histopathological examination and immunohistochemical evaluation performed in our department were scanned through the Avicenna program. Accordingly, cases of endocrine tumor originating from the pancreas were evaluated. Hematoxylin-eosin sections, neuroendocrine marker (Synaptophysin and Chromogranin A) and Ki67 stained immunohistochemical sections in our department's archives of cases that met the inclusion criteria were re-evaluated.

When evaluating preparations previously stained with hematoxylin and eosin, histomorphological features of pancreatic neuroendocrine neoplasia were described, including the number of mitoses required to confirm the diagnosis.

Immunohistochemically stained sections will first be examined under a light microscope, and the Ki67 proliferation index was calculated by counting tumor cells with positive nuclear staining in 2000 tumor cells at x40 magnification in the hot spots where staining is intense in the light microscope.

Secondly, counting was done using 3DHistech Pannoramic Scanner (P250 Flash III) with x40 objective. Ki67 immunohistochemistry stained sections were scanned in 3DHistech Pannoramic Scanner (P250 Flash III). The areas with the highest Ki67 immunoreactivity intensity ("hot spots") were manually selected by the pathologist on the scanned slide images at 400x magnification. These areas were exported in high resolution image format using semi-automatic digital analysis software (Case Viewer 2.5 rtm). For all cases, Ki67 immunoreactivity was expressed as the percentage of nuclear-staining tumor cells given by the number of positive tumor cells divided by a minimum of 2000 total tumor cells.

Then the automatic program (Quant Center, Cell Quant regime) will evaluate the same hotspot areas selected by the pathologist, and then the result will be given, which will consist of the number of positively stained cells and the total number of cells, expressed as a percentage.

A total of 87 cases of pancreatic neuroendocrine neoplasia were evaluated. Patients' age, gender, surgery type, diagnosis, stage, tumor localization, tumor size, presence of tumor in the surgical resection area, presence of necrosis, presence of lymphovascular and/or perineural invasion, lymph node metastasis, and distant metastasis are evaluated. Clinical information such as that of the patients was obtained from the "Hospital Information System" system. To confirm or modify diagnoses, selected hematoxylin-eosin stained sections were redetermined according to the latest 2017 World Health Organization Endocrine classification.

Results: The study included 52 female (59.8%) and 35 (40.2%) male patients with an average age of 51.6 years. The age range ranged from 24 to 83 years.

25 G1 PNET cases, 43 G2 PNET cases and 19 G3 PNET and PNEC cases were identified by manual Ki67 counting method with a light microscope. In manual evaluation on digital images, 32 cases were evaluated as G1 PNET, 36 cases as G2 PNET, and 19 cases as G3 PNET and PNEC. In automatic evaluation on digital images, 23 cases were evaluated as G1 PNET, 32 cases as G2 PNET, and 19 cases as G3 PNET and PNEC.

When the results obtained regarding the number of mitosis were compared with the Ki67 proliferative index results evaluated under the light microscope, a high correlation was found between the number of mitosis and Ki67 ($p < 0.0001$). In our study, the consistency between the Ki 67 proliferation index results obtained by three different methods for each case: manual evaluation with a light microscope, manual evaluation on a digital image, and automatic evaluation on a digital image was evaluated. Statistically, the intraclass correlation coefficient (ICC) was determined between 0.964 and 0.983 (average 0.975). There appeared to be a high level of correlation between the three methods for calculating the Ki67 proliferation index. The results of the Ki67 proliferative index calculation methods used in our study were found to be statistically significant and compatible with each other ($p < 0.0001$). When automatic evaluation on the digital image and manual evaluation methods on the digital image were used to determine the tumor degree with Ki67 results, the tumor degree was detected to be lower; It was observed that the tumor grade was determined higher when the manual calculation method was used with a light microscope.

In comparative analyses, it was determined that there were statistical differences in gender ($p < 0.05$), tumor borders ($p < 0.001$), TNM stage ($p < 0.001$), histological pattern ($p < 0.001$), presence of necrosis ($p < 0.05$), number of mitosis ($p < 0.001$), presence of additional invasion

($p < 0.001$), PNI ($p < 0.05$), LVI ($p < 0.001$), metastatic LN ($p < 0.05$) and distant metastasis ($p < 0.001$). Age, functional tumor or syndromic tumor presence, tumor localization, positive surgical margin and tumor size were not statistically significant ($p > 0.05$). The average life expectancy in low and moderate PNEN cases was determined to be 160 months after diagnosis. The average survival time in NET grade 3 cases was found to be 18 months after diagnosis. The average life expectancy of patients diagnosed with poorly differentiated NEC was determined to be 25 months after diagnosis.

Conclusions: In our study, female predominance in grade 1 and 2 PNETs; It revealed male predominance in grade 3 PNETs and PNEC. In our study, 14 patients (16%) were diagnosed with PNEC and the average age was found to be 54 years. In our study, 79 (95.41%) tumors were sporadic. 4 (4.59%) cases of hereditary syndrome were detected. In our study, 13 (85%) functional tumor cases were identified.

In our study, a high correlation was observed when staging results were compared according to Ki67 proliferative index and mitotic count results.

In our study, three counting methods (manual counting using a light microscope, manual counting using a digital image and automatic program) were used to evaluate the Ki67 proliferative index, and the ICC average was found to be 0.975. As a result, it was observed that there was a high level of correlation between the three methods for calculating the Ki67 proliferation index.

When evaluating the parameters affecting the degree of differentiation of PNEN, 9 parameters were defined: loss of morphological differentiation, character of tumor borders, presence of invasion into neighboring tissues/organs, presence of necrosis, number of mitosis, presence of lymphovascular and perineural invasion, metastasis in lymph nodes and/or distant organs. The patient's age, presence of functional tumor or syndromic tumor, tumor localization, positive surgical margin, and tumor size parameters did not show a relationship with the definition of PNEN differentiation.

When evaluating overall survival, the median time after surgical resection revealed that PNET grade 1 and PNET grade 2 showed a high overall survival compared to PNET grade 3 and PNEC grade 3. When the overall survival of PNET grade 3 and PNEC grade 3 was compared, PNET grade 3 showed higher overall survival than PNEC grade 3, despite similar values.

The results of our study show that programs based on automatic counting on digital images in determining the Ki67 proliferative index can be used in routine practice for the diagnosis and classification of PNENs.

With this; In the evaluation made using all three methods, it should be taken into consideration that counting the positively stained cells to ensure that they are tumor cells may change the result.

Keywords: Pancreas, Neuroendocrine Neoplasia, Ki67, Digital analysis



3. GİRİŞ VE AMAÇ

Pankreas kanseri (PK) şu anda ABD'de kansere bağlı ölüm istatistiklerinde 3. sırada yer almaktadır. ABD'de her yıl 62.200 yeni PK olgusu tespit edilmekte ve bu hastaların 48.800'ü hayatını kaybetmektedir (1). PK olgularının yaklaşık %90'ı duktal adenokarsinomlar, yaklaşık %4-5'i kistik ve intraduktal neoplaziler, %2-3'ü asiner hücreli karsinom ve diğer neoplazilerdir. Pankreas Nöroendokrin Neoplazilerinin (PNEN) oranı %3-4'tür (2). PNEN insidansı son birkaç on yılda artmıştır. Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) veritabanı, ABD'de 1973'ten 2012'ye kadar PNEN insidansında 6,4 kat artış olduğunu göstermektedir. Hali hazırda insidansı 100.000 kişide 6,98'dir. İnsidanstaki bu artışın bir kısmı, erken evrelerde asemptomatik lezyonların daha iyi saptanmasına ve yaşlanan bir popölasyona bağlı olabilir. Tüm NEN'lerin çoğunluğunu (%55-70) gastroenteropankreatik NEN'ler oluşturmaktadır (3).

2017 yılında, PNEN olgularını prognostik gruplara ayırmak için Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), PNEN sınıflandırma sistemini resmi olarak güncellemiştir. Güncellenmiş sınıflandırma grupları, derece 1 (G1), derece 2 (G2) ve derece 3'ün (G3) iyi diferansiye pankreas nöroendokrin tümörleridir (PNET). Pankreasın az diferansiye nöroendokrin karsinomları, küçük hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom olarak ayrılmaktadır (4). PNEN sınıflandırması, HE boyalı kesitlerde tümör hücrelerindeki mitoz sayımı ve immünohistokimyasal olarak Ki67 boyalı kesitlerde boyanmanın en yoğun olduğu alanda ("hot spot") pozitif boyanan hücre oranının belirlenmesine dayanmaktadır (5). Bu nedenle, Ki67 değerlendirmesi, PNEN'lerin teşhisinde önemli bir adımdır. Ki67 ile proliferasyon indeksinin kantitatif olarak belirlenmesindeki yöntem konusunda hala tartişmalar vardır. Pozitif hücre yüzdesinin ışık mikroskopisi ile göz kararı değerlendirilmesi yaygın olarak rutin uygulamada kullanılan yöntemdir. Ancak yapılan araştırmalarda patologlar arasında uyumsuzluklar bildirilmiştir. Son dönemde dijital görüntüleme yöntemlerindeki yeniliklerle dijital ortama taşınmiş görüntüde manuel olarak pozitif boyanan hücre sayımı ve otomatik olarak dijital görüntü analizi yazılımları kullanılarak proliferasyon indeksinin belirlenmesi kullanılmaya başlanmıştır (6). Dijital görüntülere artan erişim ve bilgi işlem sistemlerindeki teknolojik ilerlemeler göz önüne alındığında, dijital görüntü analizinin bu tümörlerde proliferasyon indeksini daha doğru şekilde belirlemede ve rutin iř yükünü azaltmada etkin olabileceği düşünölmektedir.

Çalışmamızda, PNEN'lerde Ki67 proliferasyon aktivite indeksinin yüzdesi; üç ayrı sayım yöntemi (ışık mikroskopla manuel değerlendirme, dijital görüntü üzerinde manuel

değerlendirme ve dijital görüntüde otomatik değerlendirme) kullanılmış ve elde edilen sonuçlar tümörlerin anatomik lokalizasyonu, histomorfolojik ve diğer prognostik parametreleri ile karşılaştırılmış ve bunların prognoz üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Ek olarak, PNET teşhisi konan hastaların sağ kalımına ilişkin bir değerlendirme yapılmıştır. Çalışmamızın sonucunda PNEN'lerde Ki67 indeksinin belirlenmesinde geleneksel olarak ışık mikroskobu ile yapılan değerlendirmenin sonuçlarını dijital görüntüleme yöntemleri kullanılarak yapılacak sayımlarla karşılaştırarak en doğru sonuca hangi yöntem ile ulaşılabileceği ortaya konulması amaçlanmıştır.

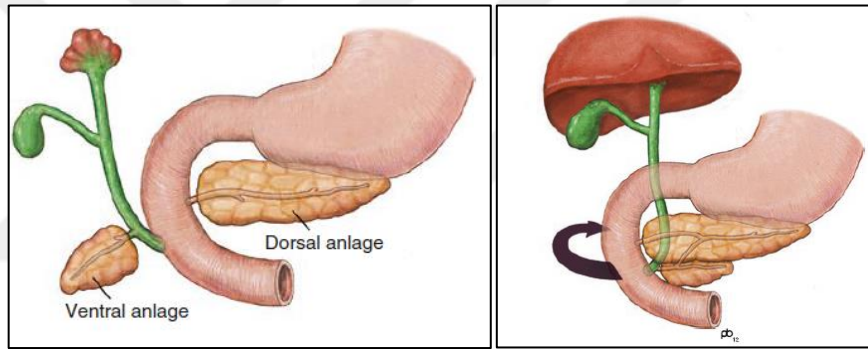


4. GENEL BİLGİLER

4.1. Pankreas Embriyolojisi, Anatomisi ve Histolojisi

4.1.1. Pankreas Embriyolojisi

Pankreas ilk olarak MÖ 300 civarında Yunan hekim Herophilus tarafından tanımlanmıştır. Pankreas, gebeliğin dördüncü ile yedinci haftasında endodermin ventral ve dorsal çıkıntılarında gelişmektedir. Bu çıkıntılar, bir epitel ağacına dönüşen küboidal epitelden oluşur. İlk olarak, daha büyük bir dorsal primordium belirlemektedir. Bundan sonra, daha küçük bir ventral primordium oluşmaktadır. Beşinci hafta itibariyle kanal sistemi oluşmakta ve gelişmekte olan bağırsağa açılmaktadır. Yedinci haftada ventral çıkıntı saat yönünde dönmekte, dorsal çıkıntı ile birleşerek tek bir organ oluşturmakta ve "C" şeklini almaktadır. **(Resim 4.1.).**



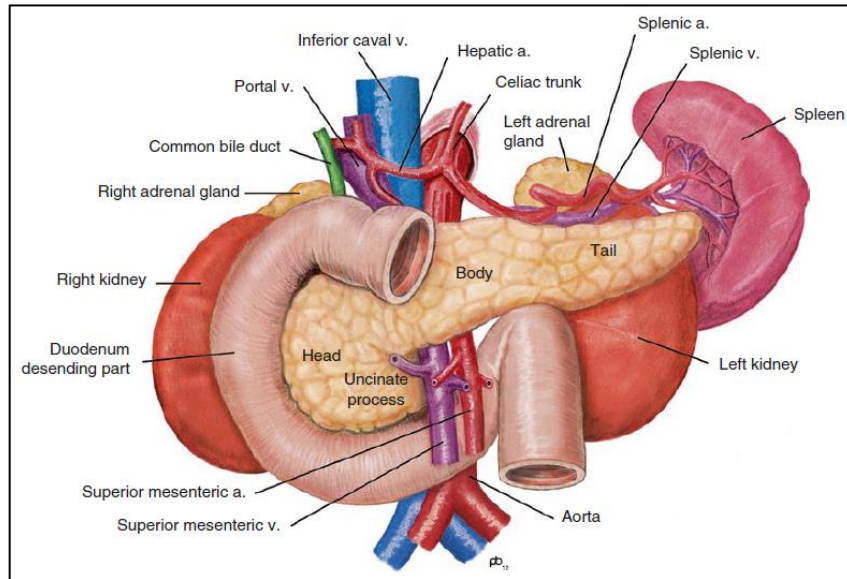
Resim 4.1. Pankreas Embriyolojisi (7)

Pankreasın başının kranial kısmı, gövdesi ve kuyruğu dorsal çıkıntılardan kaynaklanmaktadır. Ventral tomurcuk, başın kaudal kısmını ve processus uncinatus kısmını oluşturmaktadır. Her iki rudimentin kanalları da birleşir ve ortaya çıkan tek kanal, ampulla Vateri ve majör papilladan duodenuma drene olmaktadır. Kranial kısmı drene eden kanal, ampulla minör ve papilla yoluyla duodenuma drene olmakta ve Santorini kanalı olarak korunabilmektedir. Pankreas divisum olarak adlandırılan (%10 insidansı) tıkanıklık ve akut/kronik pankreatit gelişimi olarak ortaya çıkabilen, ventral ve dorsal duktal sistemlerin birleşmesinin olmaması klinik olarak önemlidir (7, 8). Gestasyonel yedinci haftanın sonunda pankreas tek bir organ gibi görünür. Epitelyal dallardaki kanalın apikal alanları, asiner progenitör hücrelere dönüşen multipotent pankreas hücreleri içermektedir. Kanalın kök alanları, daha sonra epitel kordonunu terk eden ve endokrin adacıklara kümelenen bir endokrin-duktal bipotent progenitör hücre adalarından oluşmaktadır. Parankimdeki lobulasyon dördüncü ayda gelişmekte ve aynı zamanda çevre bağ dokusu azalmaktadır (7). Endokrin ve ekzokrin

hücrelere farklılaşma, gebeliğin 12. ile 14. haftaları arasında gerçekleşmektedir. Bu nihai sonuç, çoklu sinyal yolları tarafından düzenlenmektedir. Erken aşamada, PDX1 geni önemli bir rol oynamaktadır. PDX1 eksprese eden progenitörler, pankreasın hem ekzokrin (asini ve kanallar) hem de endokrin hücrelerini üretmektedir. Notch sinyalinin etkisi altında, endokrin klon belirlenmektedir. Sonraki aşamada, PDX1 ve Notch sinyali dahil olmak üzere çok sayıda kontrol faktörünün tanımlandığı endokrin alt tiplerin klonları dağıtılmaktadır. Asiner gelişim, Wnt/ β -katenin sinyalleri tarafından yönlendirilmektedir. Ek olarak yakın zamanda, Hedgehog sinyal yolu, pankreatik endoderm oluşumunun negatif düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır (7, 8).

4.1.2. Pankreas Anatomisi

Bir yetişkinin pankreasının uzunluğu 14–20 cm ve ortalama ağırlığı 100 gr'dır. Pankreas retroperitoneal olarak karaciğerin sol lobunun ve midenin arkasında yer almaktadır. Pankreas lobüler bir yapıya sahiptir, normal pankreas parankimi kahverengidir. Pankreasın lobüllerinin boyutu değişir (1-10 mm), angular ve yuvarlak bir şekle sahiptir. Lobüller arasında damarların ve sinirlerin bulunduğu ince, gevşek az hücre içeren stroma vardır. Ayrı bir kapsülü yoktur ve retroperitoneal yağ dokusu ile birleşmektedir. Pankreas sol böbreğin ve adrenal bezin yakınında bulunmakta ve onlardan yumuşak dokularla ayrılmaktadır. Pankreasın kuyruğunun ucu dalak hilusuna yaklaşmaktadır (7). Anatomik olarak, 3,5–5,5 cm kalınlığında (hacmin yaklaşık % 60–70'i) olan ve duodenumu kaplayan pankreas başı ayırt edilmektedir. **(Resim 4.2.)**

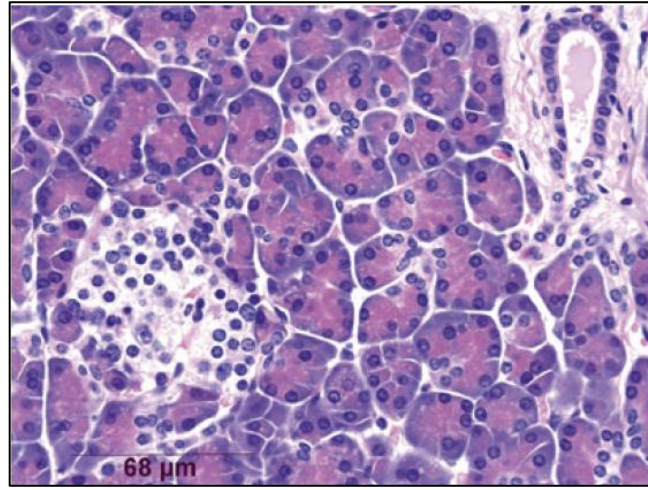


Resim 4.2. Pankreas Anatomisi (7)

Topografik olarak pankreas, superior mezenterik (SMV) ve portal venlerin (PV) damarlarının birleştiği yerin sağında yer almaktadır. SMV'yi çevreleyen pankreas bölgesi vasküler sulkus olarak bilinmektedir. Başın devamı yumuşak dokularda yer alan processus uncinatus'dur. Başın devamı ise 1-2 cm kalınlığındaki pankreas boynudur. Pankreas boynunun posteriorunda PV oluşturulmakta ve bu sınır boyunca pankreatoduodenal rezeksiyon yapılmaktadır. Pankreasın devamı, ön-arka boyutta daha yassı olan 13 cm uzunluğundaki gövde ve kuyruktur (7, 8). PV'nin ve boynun sağından pankreasın başına akan ekstrapankreatik birleşik safra kanalı (EBSK) geçmektedir. İntrapankreatik birleşik safra kanalı (İBSK), ana pankreatik kanal (APK, Wirsung kanalı) ile birleşip (Ortak kanal) pankreas başını geçmekte ve duodenal mukoza yüzeyinde nodüler bir yapı şeklinde, 1 cm uzun çaplı, pilordan 8 cm uzaklıkta bulunan büyük bir duodenal ampullada (Papilla Vateri) son bulmaktadır. Yaşla birlikte hafifçe genişleyen APK'nın çapı genellikle 1,5-3 mm'dir. Koledokun çapı ise yaklaşık 7 mm ve duvar kalınlığı da 1 mm'dir. Her iki kanal da duodenumun muskularis propriasında son bulan Oddi sfinkteri şeklinde sirküler bir kasla çevrilidir. Bazen küçük bir ampulla (minör duodenal papilla) ile biten ve büyük bir ampulladan 2 cm uzaklıkta bulunan ek bir pankreatik kanal (Santorini kanalı, 1 mm'den daha küçük) bulunmaktadır. Pankreas arterleri hem trunkus çölyakus hem de superior mezenterik arterden gelmektedir. Pankreas başının önünde ve arkasında anterior ve posterior pankreatikoduodenal venler bulunmaktadır. Bunlar portal ven ve superior mezenterik vene dökülmektedir. Lenf nodülleri (LN) pankreasın etrafındaki yumuşak dokularda bulunmaktadır. Koledokus çevresindeki LN, biliyer obstrüksiyona bağlı reaktif değişiklikler nedeniyle genellikle daha büyüktür. Whipple rezeksiyon spesmenlerinde, subpilorik ve perigastrik yağ dokusunda LN da bulunabilir ve distal pankreatektomi spesmenlerinde LN dalak hilusunun yumuşak dokularında yer almaktadır (8).

4.1.3. Pankreas Histolojisi

Pankreasın %85'i asinidir, bunlar içinde asiner hücrelerin bulunduğu yuvarlak yuvalardır. Asininin lümeni normalde görülmezken patolojik genişleme ile daha belirgin hale gelebilmektedir (**Resim 4.3.**). Asiner hücreler piramidal formlu, bazalde yerleştirilmiş, yuvarlak homojen bir nukleusa ve berirsiz nukleollere sahiptir. Hücrenin sitoplazması bazal kısımda bol miktarda kaba endoplazmik retikulum olması nedeniyle bazofilik, apikal kısımda periyodik asit Schiff boyaması (PAS) ile reaksiyon gösteren zimojen granüllerin birikmesi nedeniyle eozinofiliktir. (7)



Resim 4.3. Pankreas histolojisi (7).

Asiner hücreler, sindirim (pro) enzimlerini sentezlemekte ve salgılmaktadır. Bu nedenle pankreas enzimlerine karşı antikorlarla pozitif boyanmaktadır. Asiner hücreler ayrıca farklı epitel belirteçlerine de yanıt göstermektedir (CAM5.2/CK 8 ve 18 ile pozitif; CK 7, 19, 20; AE1/AE3 ile negatif). Kanalların epiteli farklı seviyelerde farklılık gösterir, ancak kanalların her seviyesinde düz kas tabakası yoktur (**Resim 4.3**). Kanalin çapı ne kadar büyük olursa, epitel o kadar yüksek olur, ancak her zaman alçak şekilde kalmaktadır. Santral yerleşimli asiner hücreler, kanal sisteminin en periferik dallarıdır. Bu hücreler şeffaf sitoplazmaya sahip, küçük boyutludur. Daha sonrasında asinüslerin dışında yer alan ve alçak küboidal epitel ile döşeli interkale duktal kanallar vardır. İntralobüler kanallar daha büyüktür ve ince bir fibröz doku kılıfı ile çevrilidir. Bu kanallar, APK'ye akan interlobüler kanalları oluşturmak için birleşmektedir. Kanal sistemi bir drenaj ve salgılama işlevi gerçekleştirir. Su, klor ve bikarbonat salgılayan duktal epitel hücreleri, pankreas suyunu yaklaşık 6.5 pH'ta tamponlamakta ve asiner hücreler tarafından salgılanan proenzimleri stabilize etmektedir. Müsin ile boyandığında, APK'nin, intra ve interlobüler kanalları kaplayan epitelyumun sitoplazmasında pozitif bir reaksiyon tespit edilebilmektedir (7).

Duktal epitel, sitokeratinler ile (CK7, 8, 18, 19) ve EMA ile pozitif boyanma göstermektedir. MUC6 ile sentroasiner hücrelerde pozitifdir. MUC1 ile küçük intralobüler kanallarda pozitif boyanma saptanmaktadır. MUC6 ve MUC1 ile intercalated duktal epitelinde pozitif reaksiyon izlenmektedir. APK duvarında müsküler bir tabakası bulunmayışıyla koledoktan ayırt edilebilmektedir. Bununla birlikte, koledoktaki düz kas liflerinin tabakası eksik ve ince olabilir ve genellikle sadece ampulla ve Oddi sfinkteri ile birleştiği yerde daha belirgin hale gelmektedir. Her iki kanalın diğer bir ayırt edici histolojik özelliği, koledoğa akan kanalların olmamasıdır (7).

Endokrin bölüm yaklaşık olarak pankreasın %2'ni oluşturmakta (yenidoğanda asiner dokunun az gelişmesi nedeniyle %10), lobüllere dağılmış halde esas olarak kaudal bölgede yoğunlaşmaktadır (**Resim 4.3.**). Normalde pankreasta yaklaşık 100 adacık bulunmaktadır. Bu adacıkların %90'ı net konturlu ve yuvarlak şekli olan, kapsülsüz ve daha fazla sayıda β -hücresi içeren kompakt adacıklardır. Geriye kalan %10, gevşek bir şekilde düzenlenmiş, orta büyüklükte ve oval şekilli, soluk eozinofilik veya amfofilik sitoplazmalı, oval nükleuslu, kaba kromatinli ve küçük bir nükleoluslu diffüz adacıklardır. Birkaç endokrin hücre tipi ayırt edilir: insülin üreten ve adacığın merkezine daha yakın konumlanmış β -hücreleri (yetişkinlerde %60-80, yenidoğanlarda %50). Bunun dışında α -hücreleri (%15-20) glukagon üretmekte, δ -hücreleri (yetişkinlerde %5-10, yenidoğanlarda %30) somatostatin üretmekte ve adaların çevresinde bulunmaktadır. %2'den azı pankreatik polipeptit salgılayan PP-hücreleri ve ghrelin salgılayan ϵ -hücreleridir. Diffüz adacık hücreleri daha büyük, düzensiz şekilli ve çevredeki asinüslerden zayıf bir şekilde ayrılmış ve PP hücreleri açısından zengindir.

Adacık immün boyama, nöroendokrin belirteçler (Sinaptofizin, Kromogranin, CD56), PDX1, progesteron reseptörü ve CD99 için pozitifdir. Pankreas ayrıca ışık mikroskobu altında görünmeyen, ancak SMA ile boyanan yıldız şeklinde Stellat hücreler bulunmaktadır. İstirahat halindeki bu hücreler A vitamini depolamaktadır. Aktive edildiklerinde ekstrasellüler matriks üretmekte ve kronik pankreatitte fibroz gelişmekte ve pankreasın duktal adenokarsinomunda desmoplastik bir stroma oluşmasına yol açmaktadır. Ek olarak, pankreasın interstisyumunda pacemaker Cajal hücreleri bulunmaktadır (7, 8).

4.2. Pankreas Nöroendokrin Neoplazilerde Tarihçe, Klinik Özellikler, Epidemiyoloji, Risk Faktörleri, Prognoz, Moleküler Değişiklikler ve Tedavi.

4.2.1. Tarihçe

Pankreasın sindirim işlevi Claude Bernard tarafından keşfedilmiştir. Fizyolog buna "Karin tükürük bezi" adını vermiştir. Rudolf Virchow, "Pankreasın hem dışarıya hem de içeriye kan salgıladığını" keşfetmiştir. Paul Langerhans Jr., 9 hücre tipini ve pankreas adacıklarını tanımlamıştır. Adacık hücre tümörü ilk defa 1902'de Nicholson tarafından belirtilmiştir. Fakat ilk karsinoid tümör 1888'de ileumda keşfedilmiştir (9). Karsinoid tümör ifadesi ise ilk kez 1907'de Oberndorfer tarafından, gastrointestinal sistemdeki adenokarsinomlara benzeyen ama daha az agresif seyreden tümörler için, daha benign nitelikte olduklarını belirtmek amacıyla kullanılmıştır (10). 1924'te insülinoma keşfedilmiş ve 1940'ta patolog Virginia K. Franz, Allan

Whipple tarafından gerçekleştirilen pankreatikoduodenal rezeksiyon materyalinde ortaya çıkan bir glukagonoma olgusu tanımlanmıştır. Daha sonra gastrinoma ve vipoma tescillenmiştir. 1969'da Anthony Pierce, APUD sisteminin nöroendokrin hücrelerindeki tümörleri tanımlamıştır (9). Nöroendokrin tümörlerin kökeni konusunda William ve Sandler 1963 yılında, embriyolojik olarak bu tümörleri 3 gruba ayırmıştır. Bu sınıflandırma sistemi, ön bağırsak-foregut (bronkopulmoner, mide, duodenum, safra kanalları, pankreas), orta bağırsak-midgut (ince bağırsak, apendiks, sağ kolon, over, testis) ve arka bağırsak-hindgut (transvers ve sol kolon, rektum) meydana gelen NET'leri birbirinden ayırmaktadır (11).

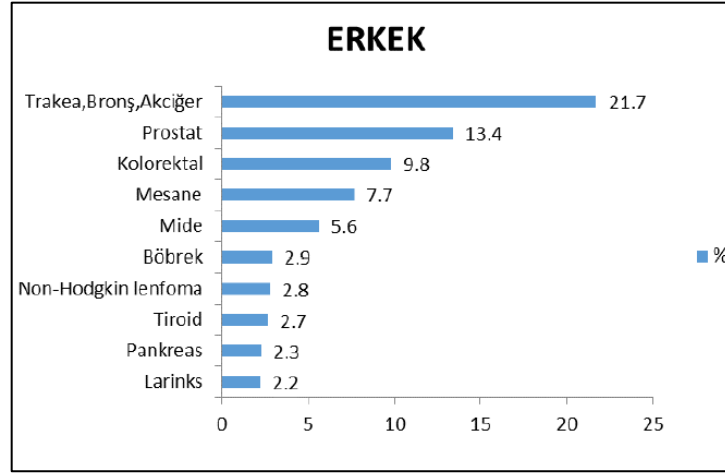
4.2.2. Klinik Özellikler

PNET yavaş büyüme hızına sahip tümörlerdir. Genel sağkalım 5 yılda %33, 10 yılda %17 ve 20 yılda %10'dur. Bununla birlikte, hızlı büyüyen pankreas nöroendokrin karsinomaları (PNEK) ortalama bir yıllık bir hayatta kalma süresine sahiptir. Fonksiyonel (F-PNET) ve non-fonksiyonel-PNET'i (NF-PNET) ayırmaktadır. Anormal hormon salgılanması nedeniyle bir klinik sendromla ilişkili olan tümörler F-PNET olarak kabul edilmektedir. Bunlara insülinomalar, gastrinomlar, glukagonomlar, VIPomalar ve serotonin, ACTH, GHRH, PTHrP ve CCK üreten tümörler de dahildir. Hormon hipersekresyonunun klinik sendromu ile ilişkili olmayan, ancak peptid hormonları ve biyolojik-aktif madde salgılayan (PP, somatostatin ve kromograninler) PNET'ler NF-PNET olarak adlandırılmaktadır. Bu tür tümörler tesadüfen veya büyük boyutlara ulaştığında invaziv büyüme veya metastaz ile saptanır (12).

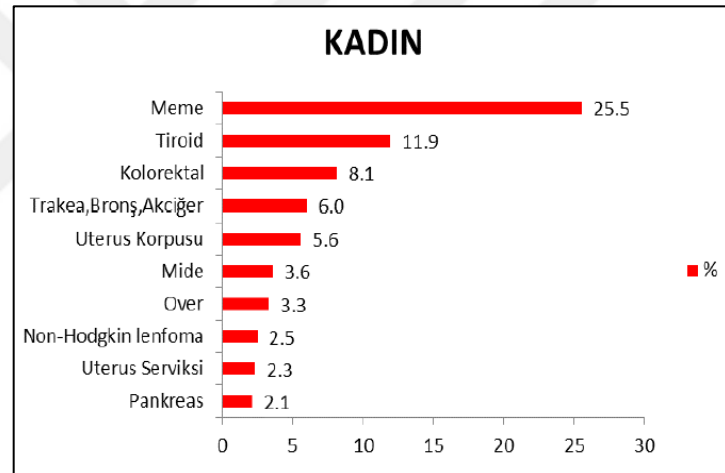
4.2.3. Epidemiyoloji

ABD'de NEN insidansı son 4 yılda 6 kattan fazla artmıştır. Metastatik tümörlerden ziyade lokalize tümör oldularında bir artış görülmüştür. ABD'de NEN olgu sayısı yılda yaklaşık 170.000 hastadır. Gastroenteropankreatik NEN'ler (GEP-NEN) diğerlerinden daha sık kaydedilmekte ve tüm NEN'lerin %55-70'ini oluşturmaktadır. National Cancer Institute'nin gözetim, Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) veri tabanına göre, 1973 ve 2012 yılları arasında 6291 GEP-NEK olgusu rapor edilmiştir. Bunların %23'ü pankreastır. Aynı zamanda, GEP-NEK sıklığı sürekli artış göstermektedir. 2012'de 1.000.000'de 4,6 olgu seviyesine ulaşmıştır. Histopatolojik raporlara göre olguların %34'ü küçük hücreli karsinomlardır (12). PNEN önemli cinsiyet farklılıklarına sahip değildir ve 30-60 yaş arası hastalarda en yüksek sıklıkta olmak üzere geniş bir yaş aralığında ortaya çıkmaktadır (13). Türkiye'de 2017 yılı istatistiklerine göre pankreas kanseri erkeklerde 9. sırada, kadınlarda 10.

sırada yer almaktadır (**Resim 4.4. ve 4.5.**) (14). Bununla birlikte ülkemizde henüz GEP-NEN'lerine ait insidans veya prevalans çalışması bulunmamaktadır.



Resim 4.4. Tüm Yaş Gruplarındaki Erkeklerde En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2017)(14).



Resim 4.5. Tüm Yaş Gruplarındaki Kadınlarda En Sık Görülen Bazı Kanserlerin Bu Grup İçindeki Yüzde Dağılımları (Türkiye Birleşik Veri Tabanı, 2017)(14).

4.2.4. Risk Faktörleri

GEP-NEN gelişimi için en olası 2 risk faktörü bulunmaktadır. Birincil risk faktörü, Multipl Nöroendokrin Neoplazi tip 1 (MEN1), Nörofibromatozis tip 1, Von Hippel Lindau sendromu (VHL Sendromu) veya Tüberoskleroz (TSK) gibi kalıtsal sendromlardan birinin varlığıdır. İkinci risk grubu, ailesinde kanser öyküsü olan hastaları içermektedir. Bununla birlikte, çoğu sporadik GEP-NEN'de, risk faktörleri henüz net bir şekilde tanımlanmamıştır. Ancak PK'inde olduğu gibi GEP-NEN için de potansiyel klinik risk faktörleri vardır. Sigara içmek bilinen bir risk faktörüdür. Sigara içenlerde, içmeyenlere göre 1,74 kat daha fazla görülmektedir. Sigarayı bıraktıktan 10 ila 20 yıl sonra, PK riski hiç sigara içmemiş kişilerle

hemen hemen aynıdır. Obezitenin PK riskini arttırdığı gözlemlenmiştir. 2001'de Michaud ve arkadaşları, Health Professional ı Nurse's Health çalışmasında Vücut Kitle İndeksi >30 kg/m² olan bireylerde PK için 1,72'lik göreceli bir risk bildirmiştir. Diyabet, PK için bir risk faktörüdür. Uzun süreli diyabette (3 yıldan fazla), PK riski 1,5-2,4 kat artmaktadır (15).

4.2.5. Prognoz

PNEN'lerde daha kötü prognozla ilişkili klinik bulgular, ileri yaş, NF-PNEN varlığı ve cerrahi tedavi öyküsü olmamasıdır. CgA ve NSE'nin kan seviyelerinde bir artış, hastalığın nüksetmesinin bir göstergesidir ve tedaviden sonra seviyelerde bir azalma sağkalım ile ilişkilidir (29). NEN'in prognozunu etkileyen kriterler 2017 yılında "DSÖ Endokrin Sistem Tümörleri" ve 2019 yılında "DSÖ Sindirim Sistem Tümörleri" sınıflamasında tanımlanmıştır (13). Kriterler, Ki67 indeksi ve mitoz sayısı ile ölçülen, hücre çoğalmasına dayalı nöroendokrin oluşumun farklılaşma derecesi olarak ifade edilen tümör morfolojisine dayanmaktadır. Beş yıllık hayatta kalma oranı PNET G2 için %62, PNET G3 için %29 ve PNEK için %16'dır. Bir diğer önemli faktör tümörün boyutudur. 2 cm'den küçük tümörler nadiren klinik agresiflik gösterirken, 3 cm'den büyük tümörler daha yüksek metastaz riskine sahiptir. Diğer faktörler arasında invaziv büyüme (özellikle vasküler invazyon), nekroz varlığı ve bölgesel LN'nin durumu yer almaktadır. (13). İki farklı yayında, Haynes A.B ve Hackeng W. M ve arkadaşları, tümör boyutunun da prognostik bir kriter olduğunu ileri sürmektedir ancak bu büyük çalışmalarda tam olarak doğrulanmamıştır. Bazı retrospektif çalışmalara göre, asemptomatik ve 2 cm'ye kadar olan düşük dereceli bir NET'in, aktif gözlem şeklinde tedavi edildiğinde yüksek bir sağkalım oranı verdiği bulunmuştur. Metastatik bir lezyon olması durumunda, ne kadar çok tümör rezeke edilirse, hayatta kalma oranı o kadar yüksek olmaktadır. Bu verilerin prospektif çalışmalarla doğrulanması gerekmektedir (16). PET görüntülemeye pozitif somatostatin 2 reseptörü (SSTR-2) ekspresyonu, peptid reseptörü radyonüklid tedavisine (PRRT) yanıtı öngören bir belirteç olarak bildiren çalışmalar bulunmakla birlikte, immünohistokimyasal çalışmalarında bu tam olarak gösterilmemiştir. Ayrıca PNET'li hastaların H3K36me3, DAXX veya ATRX mutasyonları saptanması, histon H3 lizin 36 trimetilasyonu kaybı, ARID1A ekspresyonu ve/veya CDKN2A delesyonu bulunması durumunda prognoz daha kötü olduğu görülmektedir (16). Hastalığın prognozu büyük ölçüde seçilen tedavi tipine bağlıdır. Düşük dereceli PNET olgularından somatostatin analogları tedavisi ile yüksek hastalıksız sağ kalım bildirilmiştir. Everolimus (bir mTOR inhibitörü) veya sunitinib (bir tirozin kinaz inhibitörü) veya PRRT (sadece SSTR-pozitif hastalık için) ile hedefe yönelik tedavinin kullanılması da progresyonsuz yüksek bir medyan sağ kalıma sahip olduğu bildirilmektedir

(16). Tekrarlayan G1/G2 PNET, G3 PNET ve PNEK olgularında, temozolomid ve/veya kapesitabin ile sitotoksik kemoterapi kullanımı daha yüksek yanıt oranı ile ilişkilidir. Ayrıca PNEK için 5-fluorourasil ve platinf içeren sitotoksik kemoterapi önerilmektedir. ALT'nin (Alternative Lengthening of Telomeres) varlığı ve/veya ATRX/DAXX proteinindeki değişiklikler gibi birkaç moleküler değişiklik, PNET'te hastaliksız hastalıktaki azalma ile ilişkilidir. Ek olarak, kötü prognoz H3K36me3 proteininin baskılanması, ARID1A protein ekspresyonunun kaybı ve bir CDKN2A delesyonunun varlığı ile ilişkilendirilmektedir (16).

NF-PNET'leri sınıflandırmak için endokrin farklılaşmaya odaklanan son epigenetik çalışmalar, onları hastalık prognozunda farklılık gösteren 3 farklı epigenetik alt tipe ayırmıştır. Yakın zamana kadar NF-PNET'ler tek bir biyolojik antite olarak kabul edilmekte iken; yapılan araştırmalar, NF-PNET'in benzer epigenetik alt tiplerini, spesifik yapısal değişikliklerin ve mutasyonların bulunduğu α -hücrelerini veya β -hücrelerini anımsatan benzerliklerle tanımlamıştır. (Resim 4.6.)

	NF-PanNET 1	NF-PanNET 2	NF-PanNET 3	Insulinoma 1	Insulinoma 2	Insulinoma 3 ^a
Epigenetic similarities	α -cell-like	α -cell-like> β -cell-like	β -cell-like/other	β -cell-like	β -cell-like	α -cell-like> β -cell-like
Epigenetic signature	Well-differentiated	Dedifferentiated	Unknown	Well-differentiated	Well-differentiated	Dedifferentiated?
<i>MEN1</i>	++	+++	+/-	-	-	U
<i>ATRX/DAXX</i>	+	+++	-	-	-	++
<i>YY1</i>	-	-	-	+++	-	U
<i>mTOR</i>	+	+++	+	-	-	U
Copy number profiles	Copy number neutral	Copy number amplifications/ deletions	Copy number neutral	Copy number neutral	Recurrent amplifications	U
Predominant Grade	G1	G2	G1	G1	G1	G2
Mean size	3 cm	4 cm	3 cm	< 2 cm	< 2 cm	> 3 cm
Prognosis	Favorable	Poor	Favorable	Favorable	Favorable	Poor
<i>Approximate overlap of PanNET epigenetic and copy number subtypes</i>						
Sadanandam et al, ⁹³ 2015	MLP/Intermediate-type		Insulinoma-like			
Chan et al, ⁹¹ 2018	ADM-mutant		ADM-wild-type			ADM-mutant
Di Domenico et al, ⁹⁴ 2020	α -tumors	Intermediate-tumors	β -tumors			
Boons et al, ⁹⁷ 2020	Subtype A		Subtype B			
Lakis et al, ⁹⁸ 2021	T3	T2	T1			
Cejas et al, ⁹² 2019	PDX-negative		PDX1-positive			
Hackeng et al, ⁹⁶ 2020	-		-			
Hong et al, ⁷⁸ 2020	NF-Neutral	NF-Amp/Del	NF-Neutral	Ins-Neu	Ins-Amp	-

Resim 4.6. Genetik ve epigenetik imzalara dayalı pankreas nöroendokrin tümör sınıflandırması (16).

Birinci alt grup, α -hücresi özelliklere sahip, tekrarlayan MEN1 mutasyonları, kısıtlı CNV, ATRX veya DAXX mutasyonları içermeyen ve nispeten iyi bir prognozludur. İkinci alt grup, hem α -hücrelerine hem de β -hücrelerine değişen derecelerde benzerlik sunmakta ve sınırlı CNV'ler ve nispeten iyi bir prognoz göstermektedir. Üçüncü alt grup, β hücrelerine daha yakın özelliklere sahiptir. Bu grup neredeyse tamamen insulinomdan oluşur, ALT aktivasyonu,

önemli CNV'ler ve nispeten kötü bir prognoz ile sonuçlanan MEN1, ATRX veya DAXX mutasyonlarına sahiptir (16).

4.2.6. Moleküler Değişiklikler

İyi diferansiye NET'lerin karakteristik özelliği olan spesifik genetik değişiklikler (MEN1, ATRX, DAXX'teki değişiklikler, SETD2, PTEN ve TSC1/2 genlerinin inaktivasyonu; PI3K/mTOR yolunun hiperaktivasyonu; ve alternatif telomer uzaması) PNEK'in özellikleri değildir. NET'te tanımlanan epigenetik modifikasyonların ve miRNA ekspresyonunun modifikasyonlarının veya artmış CDK4 veya CDK6'nın rolü ortaya çıkmıştır. Sporadik PNET'te MUTYH, CHEK2 ve BRCA2 mutasyonları bulunmaktadır. PNET'de p53'ün aşırı ifadesi, RBI veya SMAD4'ün ifade kaybı görülmemektedir. PNEK'lerde ise TP53 mutasyonlarının varlığı ve RB1/p16 yolunun inaktivasyonu ile karakterize edilmekte ve bazı durumlarda BRCA1 mutasyonu saptanmaktadır (13).

4.2.7. Tedavi

Cerrahi olarak total eksizyon PNET'ler için en önemli tedavi yöntemidir. Lokalize “mass-effect” veya aşırı hormon seviyeleri ile ilişkili semptomları hafifletmek için de kullanılabilir. PNET'in cerrahi olarak çıkarılması için pankreasta çeşitli ameliyat yöntemleri kullanılmaktadır. Bu temel cerrahi yöntemler: 1- Enükleasyon: Pankreas başındaki küçük F-PNET'ler için kullanılmaktadır. 2- Distal pankreatektomi: Splenektomi olsun ya da olmasın, pankreasın gövdesinin ve kuyruğunun çıkarılmasını içermektedir. 3- Pankreatoduodenektomi (Whipple rezeksiyonu): The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) kılavuzlarının önerdiği şekilde, > 2 cm NF-PNET'ler, invaziv tümörler veya pankreas başında yer alan pozitif bölgesel lenf nodülleri olan tümörler için uygulanabilmektedir. F-PNET'de cerrahi tedavi daha büyük önem taşımaktadır.

İlaç, kontrolsüz aşırı hormonları tedavi etmek ve semptomları hafifletmek için kullanılmaktadır. Semptomatik tedavi öncelikle inoperabl tümörü olan hastalarda uygulanabilmektedir. Bunun için birçok fonksiyonel tümörde etkili olan somatostatin analogları kullanılmaktadır. Tümör büyümesini kontrol etmek için somatostatin analogları (oktreotid, lanreotid), moleküler hedefe yönelik tedavi (everolimus ve sunitinib ve diğerleri), sitotoksik kemoterapi (kapesitabin, 5-fluorourasil, streptozotosin ve temozolomid ve diğerleri) kullanılmaktadır. Peptid reseptörü bazlı radyonüklid radyoterapi (PRRT) radyasyon tedavisi, tümör büyümesine neden olmak için somatostatin reseptörlerini eksprese eden malign

nöroendokrin tümör hücrelerini hedeflemeyi içermektedir. Uzak metastaz varsa metastazektomi uygulanmaktadır (17).

4.3. Pankreas Nöroendokrin Neoplazilerde İmmünohistokimyasal İncelemesinin Önemi, Pankreas Nöroendokrin Neoplazi Klassifikasyonu.

4.3.1. Pankreas Nöroendokrin Neoplazilerde İmmünohistokimyasal İncelemesinin Önemi

4.3.1.1. Nöroendokrin Differansiyasyonu Gösteren İmmünbelirteçler

Nöroendokrin differansiyasyonu belirlemek için PNEN'in% 95'inde boyanan ve rutinde de en sık kullanılan immünbelirteçler Kromogranin A (CgA) ve Sinaptofizin (SPY)'dir. CgA, endokrin ve nöroendokrin sistemlerin normal ve tümör hücreleri tarafından ve ayrıca nöroendokrin farklılaşma yeteneğine sahip bazı kanser türlerinin hücreleri tarafından ifade edilen, granin ailesinden bir glikoproteindir. CgA, yoğun granüller üreten Golgi trans-ağı membranın tomurcuklanmasını destekler. Oluşan granüller, plazma membranı ile temas etmekte, onunla birleşmekte, ekzositozu oluşturmakta ve ardından salgı granüllerinden peptit hormonları salınmaktadır. SPY, sinaptik veziküllerde bulunan sinaptik veziküler bir proteindir ve endositoz sırasında VAP2'nin (vasküler adezyon proteini-1) tekrar sinaptik veziküllere transferinde yer almaktadır. Her iki belirteç de endokrin hücrelerin sitoplazmasında lokalizedir (18). CgA, nörosekresyon granüllerinin konumuna karşılık gelen granüler olarak boyanır ve boyama spesifik değildir. SPY salgı granülleri içermediğinden daha diffüz boyanmaktadır ve bu malign hastalıkta PNET'e göre daha zayıf boyandığı görülmektedir. NF-PNET ile SPY diffüz ve belirgin şekilde boyanırken, CgA daha fokal ve apikal olarak boyanır (13, 18). PNEK için SPY boyanması daha duyarlıdır. CgA, sitoplazmada daha az granül içermesi nedeniyle küçük hücreli NEK'de oldukça spesifik olarak boyanmaktadır. PNEK'te, SPY ile diffüz fakat zayıf, CgA ile zayıf ve fokal boyanma göstermektedir. Ancak genellikle SPY ve CgA multifokal olarak boyanmaktadır. Nadir durumlarda, küçük hücreli NEK ile hem SPY hem de CgA ile negatiflik gösterebilmektedir (13).

INSM1 (insulinoma-associated-protein1) bir “çinko parmak” transkripsiyon faktörüdür. INSM1 -protein embriyonik nöroendokrin hücrelerin farklılaşmasında rol oynamaktadır. Duggan A ve arkadaşları, INSM1 ekspresyonunun doğumdan sonra dramatik bir şekilde azaldığını ve yetişkinlikte neredeyse kaybolduğunu, INSM1'in ise hem progenitör nöronlarda hem de yeni oluşan nöronlarda geçici olarak eksprese edildiğini göstermiştir. Birçok çalışmada

da INSM1'in hem neoplastik hem de normal pankreas endokrin dokularında nöroendokrin farklılaşmasında kritik bir rol oynadığını belirtilmiştir. INSM1'e bağımlı endokrin farklılaşması, anahtar hücre dışı matris proteinlerinin ve sinyal moleküllerinin ekspresyonunu indükler. Bu, pankreas adacıklarında yeni farklılaşmış endokrin hücrelerinin göçünü ve toplanmasını teşvik eder. INSM1, pankreas β hücrelerinin nöroendokrin farklılaşmasında bir transkripsiyon faktörüdür. Ek olarak INSM1, neoplastik lezyonlarda nöroendokrin farklılaşması için tanısal bir nükleer biyobelirteç olarak kullanılır (19). Masahiko Tanigawa ve arkadaşları INSM1'in NET'te CD 56 (NCAM) ve CgA'ya göre daha duyarlı olduğunu göstermiştir. SYP ile duyarlılıkta fark bulunamamıştır. INSM1 ile solid PNET'inde SYP'nin özgülüğünden farklı olmayan yüksek özgülüğü kaydedilmiştir (20).

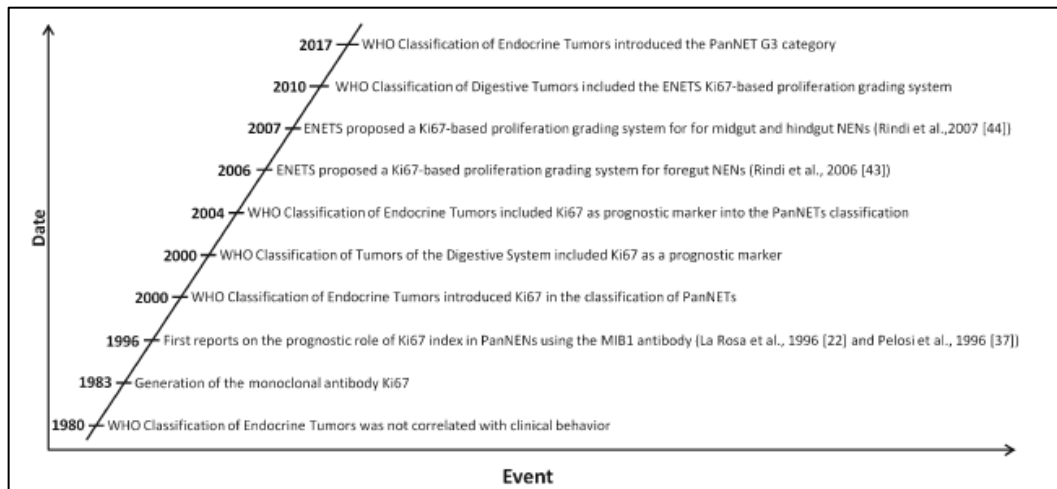
Spesifik nöroendokrin farklılaşma belirteçlerine (SPY, CgA, INSM1) ek olarak, pankreasın NEN'inin non-spesifik biyobelirteçleri de vardır. NSE, nöronlarda ve nöroendokrin hücrelerde bulunan bir enzimdir ve yüksek dereceli PNET'in %30-50'sinde bulunmaktadır. NSE seviyeleri tümör differansiyasyonu, agresif büyüme paterni ve tümör boyutu ile ilişkilidir. Bunun nedeni, NSE seviyelerinin genel sağkalım ile ters orantılı olmasındandır. (NSE ne kadar yüksekse sağ kalım o kadar düşüktür.) NSE, düşük duyarlılık nedeniyle nadiren kullanılmaktadır (18). CD56, bir nöral hücre adezyon molekülüdür (NCAM). CD56, sinir ve nöroendokrin sistemlerin hücre adezyonunda rol oynamaktadır. Tümör CD56'yı ifade edemezse, hücrelerin birbirleri veya hücre matriksi arasında agregasyon yeteneği kaybolmaktadır. Böylece tümör hücreleri kitleden kolayca ayrılmakta, bu da tümörün hızlı büyümesine ve invazyonuna katkıda bulunmaktadır. PNET'lerde CD56 ifadesi her zaman pozitif değildir. Fuksiewicz ve arkadaşları, PNET G3'ün %25'inde CD56 boyamasının bulunmadığını göstermektedir. Xin Chen ve diğerleri, CD56'nın G1/G2 PNET'lerin %98-100'ünde pozitif olduğunu ve PNET'lerin %31'inde CD56 ifadesi göstermediğini belirtmiştir. Liu B ve arkadaşlarının çalışmasında üçlü negatif (CgA, Syn ve CD56) boyama ile PNET'in prognozunun üçlü pozitif boyamadan daha kötü prognoz olduğunu ve ayrıca daha büyük tümör boyutları, yüksek Ki67 indeksi ve yüksek mitoz sayısı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, CD56 ekspresyonunun, iyi farklılaştırılmış PNET G3 ve PNET arasındaki ayrım için potansiyel bir biyobelirteç olabileceğine dair veriler bulunmaktadır. Ancak, bu daha fazla araştırma gerektirmektedir (21). CD57 glikoprotein, insan “natural killer” hücrelerinin yüzeyinde bulunan spesifik bir antijendir. İmmünoreaktif CD57 hücreleri pankreas boyunca bulunur: çoğu pankreas adacık hücrelerinde, enterokromaffin hücrelerde, asiner hücreler arasında, pankreas kanallarının epitelinde ve adacık hücre tümörlerinde ve PNET'te

izlenmektedir. CD57 çok duyarlı olmayan bir immünbelirteç olduğundan diğer nöroendokrin belirteçlerle birlikte kullanılması önerilmektedir (22, 23).

F-PNET'lar fazla salgıladıkları hormonlar ile pozitif boyanmaktadır. Tümörlerin yaklaşık %40'ı multihormonaldir. İnsulinomların yarısı, insuline ek olarak glukagon, PP, somatostatin salgılayıcıdır. Gastrinoma hücreleri, gastrin ve SSTR2'nin yanı sıra insülin, glukagon, PP ve somatostatin sekretasyon etmektedir. VIPomalar PP, AE1/AE3, CK8/18, CK19, PDX1 ve SSTR2 ile boyanmaktadır Glukagonomalar glukagon salgılayan tümörlerdir. Somatostatinoma somatostatin, PP, kalsitonin, gastrin, ACTH, glukagon ve insülin ile boyanırken, CgA ile hemen hemen boyanmaz. ACTH üreten tümörler, POMC, melatotropin, Beta-endorfin ve met-enkefalin gibi ACTH ve ACTH ile ilişkili peptid hormonlarının yanı sıra CD117 ve Galektin 3 ile boyanmaktadır. SSTR2 neredeyse hiç boyanmaz. Ektopik Kushing sendromu ile ilişkili PNET'te ACTH boyanmaz, ancak CRH boyanması saptanır. Serotonin üreten tümörler, immünohistokimyasal olarak serotonin ve VMAT2 ile pozitif ama SSTR2 ile negatiftir (13).

4.3.1.2. Pankreas Nöroendokrin Neoplazilerde Ki67 Proliferasyon İndeksinin Önemi

PNEN'de Ki67 proliferatif aktivite hesaplanmasını sistematik kullanımı 1990'larda başlamıştır (**Resim 4.7.**). Mitoz sayısı ile birlikte Ki67 indeksinin GEP-NEN prognozunu belirlediği kanıtlanmıştır. Ki67 ilk olarak 2000 yılında DSÖ Gastrointestinal NEN sınıflandırmasına ve 4 yıl sonra da pankreasın DSÖ sınıflandırmasına prognostik bir parametre olarak dahil edilmiştir. Bundan sonra, ENETS ve AJCC klavuzlarında GEP-NEN'i sınıflandırmak için Ki67 indeksi kullanılmaktadır.



Resim 4.7. PNEN için öngörücü bir belirteç olarak Ki67'nin tanıtılmasının zaman çizelgesi (24).

Monoklonal antikor Ki67, hücre proliferasyonunun kontrolünde yer alan histon olmayan bir nukleer proteini tanımlamaktadır. Ki67, hücre döngüsünün tüm fazlarında, maksimum G2 ve M fazlarında ifade edilirken, mitoz yalnızca G1 fazında tespit edilebilmektedir. Böylece mitoz sayısı her zaman proliferatif indeksten azdır ve bir alandaki mitozların proliferatif indekse oranı yaklaşık 1:10 olabilmektedir. Ki67 indeksini hesaplamak için, boyamanın yoğunluğuna ve homojenliğine bakılmaksızın, tüm immünohistokimyasal olarak işaretlenmiş tümör hücresi nukleuslarının sayılması gerektiği bildirilmektedir. Ki67 proliferasyon indeksi, immünoreaktif hücrelerin yüzdesi olarak ifade edilmektedir. En yoğun boyamanın olduğu alanlarda (“hot spot”) 500 ila 1000 tümör hücresinin sayılması önerilmektedir (24).

Ki67 Proliferasyon İndeksini Hesaplama

Yakın zamana kadar, Ki67'yi saymanın tek yöntemi ışık mikroskobu kullanarak gözle sayım yapmaktı. Ancak son zamanlarda, Ki67 proliferasyon indeksini belirleyebilmek için görüntüleme sistemlerinde taranan bir tümör alanı üzerinde pozitif boyanan tümör hücrelerinin manuel sayımı yanı sıra özel yazılımlar kullanılarak yeni nesil görüntüleme sistemlerinde otomatik hücre sayımları da yapılmaktadır. 2019 yılında DSÖ Sindirim Sistem Tümörleri sınıflamasında, Ki67 proliferasyon indeksinin değerinin, dijitalize görüntü kullanılarak değerlendirilebilir (13). 2019 yılında DSÖ “Recommendations on digital interventions for health system strengthening” rehberi adlı bir fikir birliği belgesi yayınladı. Bu tavsiyelerin ana teması, yapay zeka ve dijital teknolojileri kullanarak sağlık yönetiminin iyileştirilmesi alanında daha fazla fırsat sağlamaktadır. Böylece, son zamanlarda “hangi hücrelerin pozitif olduğu” değil, “pozitif hücrelerin nasıl sayılacağı” sorusu ortaya çıkmıştır (25). NEN hücrelerinin histomorfolojik özellikler açısından oldukça monoton olduğu dikkate alındığında, otomatik teknolojilerin kullanılması mümkündür. Oldukça yaygın bir Ki67 sayma yöntemi, taranan bir görüntüden manuel olarak saymaktır. Cihazın sayısallaştırılmış bir görüntüden Ki67'yi sayma yöntemi de yaygındır. NEN'de Ki67 tahmini için dijital ve otomatik puanlama yöntemlerine ait bir kombinasyonunun çok doğru ve tekrarlanabilir olduğu gösterilmiştir. Dijital görüntü analizi ile Ki67 hesaplanması ile manuel hesaplama arasındaki sonuçları karşılaştıran bir meta-analiz bulunmaktadır. Bu çalışmada iki yöntem arasında çok yüksek bir uyum olduğu (genel uyum oranı: 0,94, %95 CI: 0,83–0,98) gösterilmektedir. Bu sonuçlar, PNEN'de Ki67 değerlendirmesi için kanıtlanmış yöntemlerinin yaygın olarak benimsenmesini desteklemektedir. Otomatik sayım kullanılırken, yazılımı değiştirerek veya patolog olmayan operatörleri eğiterek, yalnızca tümör hücrelerinin sayıldığından emin olunmalıdır. Ayrıca, sayım için standart alanların seçiminde koşul dikkate alınmalıdır (25).

4.3.2. Pankreas Nöroendokrin Neoplazi Klassifikasyonu. Ki67'ye ve Mitoz Sayısına Göre Sınıflandırılması, TNM Klassifikasyonu

4.3.2.1. Pankreas Nöroendokrin Neoplazi Klassifikasyonun Genel Bilgiler

Tarihsel olarak, çeşitli organların NEN'leri ayrı ayrı sınıflandırılmıştır. Şu anda PNEN için DSÖ sınıflandırma şeması, European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS) sınıflandırması ve American Joint Committee on Cancer (AJCC) dahil olmak üzere üç kılavuz bulunmaktadır. 2010'dan önceki DSÖ sınıflaması, hasta sağkalımını öngören grupları etkili bir şekilde gruplamaktadır. Mitoz sayısına ve Ki67 proliferatif aktivitesine bağlı olarak, tümörler üç dereceye ayrılmaktadır. Grade 1 ve 2 iyi diferansiye NET olup, grade 3 neoplazmalar az diferansiye NEK olarak sınıflandırılır (**Resim 4.8.**) (13).

Classification/Grade	Ki-67 Proliferation Index (%)*	Mitotic Index†
2010 WHO Tumor Classification		
Well-differentiated endocrine tumor, G1	< 3	< 2
Well-differentiated endocrine tumor, G2	3-20	2-20
Poorly differentiated neoplasm: neuroendocrine carcinoma, G3 (small cell and large cell type)	> 20	> 20

Resim 4.8. DSÖ 2010 Pankreas nöroendokrin neoplazmalarının sınıflandırması (26).

Bu sınıflamadan sonraki dönemde PNET morfolojik özelliklerine sahip bazı PNEN'lerin Ki67 proliferasyon indeksinin >20 olabildiği kaydedilmiştir. Bu, özellikle metastatik tümörlerde daha fazla bildirilmiştir. 2010 DSÖ kriterlerine göre, histolojik olarak agresif olmayan ancak mitotik olarak aktif olan bu tümörler PNEK olarak sınıflandırılmaktaydı. Aynı zamanda, G2 PNET'ten daha kötü bir prognozları varken PNEK'ten daha az agresif kliniğe sahip oldukları biliniyor. Bu tümörler, hormon ekspresyonu ve genetik sendromlarla ilişki göstermekte iken TP53 ve RB1'in ekspresyonu ve mutasyonlarında farklılık göstermemektedir. Ayrıca, 2010 DSÖ sınıflandırmasına göre, Ki67 proliferasyon indeksi < 55 olan PNEK hastalarının Ki67 proliferasyon indeksi > 55 olan hastalara göre, birinci basamak Platina içeren kemoterapiye daha düşük yanıt oranı verdikleri ancak daha yüksek hayatta kalma oranına sahip oldukları görülmektedir. Bu nedenle, iyi diferansiye NET G3'ler ile az diferansiye NEK G3'ler arasında bir ayrım bulunmaktadır. Dolayısıyla, 2019'da yayınlanan DSÖ sınıflandırması,

morfolojik olarak iyi diferansiye, Ki67 proliferasyon indeksi > %20'ye ve genellikle <%55'e sahip olan ve Platina içeren kemoterapiye zayıf yanıt veren G3 PNET adlı yeni bir tümör kategorisi olarak sınıflandırılmıştır (**Resim 4.9.**). Önceden, G3 kategorisinin yalnızca az diferansiye karsinom grubu olarak tanımlanmıştı. Bununla birlikte, son çalışmalarla her zaman yüksek derecede bir malignitenin az diferansiye olmayacağı görülmüş; buna bağlı olarak, bu tür tümörler kanser değil "tümör" olarak kategorize edilmeye başlamıştır (13).

Table 4 Several editions of World Health Organization (pathological classification)			
Edition	Grading standards		
2000/2004	G1: Well-differentiated NET; ≤ 2 cm in size, Ki-67 $\leq 2\%$	G2: Well-differentiated NEC; > 2 cm in size, Ki-67 3%-20% or angioinvasive	G3: Poorly differentiated NEC; Ki-67 $> 20\%$
2010	NET-G1: Well-differentiated, mitotic count $< 2/2$ mm ² , Ki-67 $\leq 2\%$	NET-G2: Well-differentiated, mitotic count 2-20/2 mm ² , Ki-67 3%-20%	NET-G3: Poorly differentiated, mitotic count $> 20/2$ mm ² , Ki-67 $> 20\%$
2017/2019	NET-G1: Well-differentiated, mitotic count $< 2/2$ mm ² , Ki-67 $\leq 2\%$	NET-G2: Well-differentiated, mitotic count 2-20/2 mm ² , Ki-67 3%-20%	NET-G3: Well-differentiated, mitotic count $> 20/2$ mm ² , Ki-67 $> 20\%$
			NET-G3: Poorly differentiated, mitotic count $> 20/2$ mm ² , Ki-67 $> 20\%$

NET: Neuroendocrine tumor; NEC: Neuroendocrine carcinoma.

Resim 4.9. Pankreatik Nöroendokrin Neoplazmaların 2017 ve 2010 DSÖ Sınıflandırması ve Derecelendirmesinin Karşılaştırılması (22).

G3 PNET'ler ayrıca düşük dereceli komponent içerebilmekte, ayrıca önceden G1 veya G2 PNET'leri olan hastalarda da metastazlar görülebilmektedir (27). Üstelik, primer tümörün belirlenmesi sırasında ve metastaz şeklinde ilerleme sürecinde tümörün derecesinin değişebileceği görülmektedir. Aynı bir PNET grubunda hem yüksek dereceli hem iyi diferansiye bir neoplazm olarak kaldığının kanıtıdır. Böylece NET'ler, proliferatif aktivite derecesine bağlı olarak G1, G2 veya G3 olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır.

4.3.2.2. Mitoz Değerlendirilmesi

Mitotik aktivite, mitoz sayısı/2 mm² olarak belirlenir. Işık mikroskopunda x40 büyütmede 10 büyük büyütme alanında (BBA) ve 0.5 mm alan çapına karşılık gelmektedir. PNET G1, 10 BBA'da < 2 mitoz; PNET G2, 10 BBA'da 2 ila 20 mitoz; PNET G3 tümörleri, her 10 BBA'da > 20 mitoz. NEC'ler $> 20/2$ mm² mitoz sayısı ve küçük veya büyük hücrelerin differansiyasyonu ile karakterize edilmektedir.

4.3.2.3. Ki 67 Proliferasyon İndeksinin Değerlendirilmesi

Ki 67 proliferasyon indeksine göre: PNET G1 Ki67 $< 3\%$ proliferasyon indeksine sahiptir. PNET G2 3% ila 20% aralığında Ki67 proliferasyon indeksi olan tümörleri içermektedir. PNET

G3 tümörleri proliferasyon indeksi Ki67 > %20'ye sahiptir ve küçük veya büyük hücrelerin differansiasyonu özelliklerine sahip değildir (26). Bununla birlikte, bir kemoterapi küründen sonra proliferasyon indeksinin %20'den fazla arttığı kaydedilmiştir ve bu nedenle NET'i NEK'den Ki67 ile ayırmak her zaman mümkün olmamaktadır. NEK'ler Ki67 > %20 proliferasyon indeksi ile karakterize edilmektedir. NEK morfolojik olarak küçük hücreli NEK (KHNEK) ve büyük hücreli NEK (BHNEK) olarak alt gruplara ayrılmaktadır. NEK'te derecelenme bulunmamaktadır zira her iki NEK tipi de oldukça yüksek dereceli neoplazidir (13).

4.3.2.4. TNM Klassifikasyonu

Amerikan AJCC ve Avrupa ENET TNM evreleme sistemleri bulunmaktadır. Ancak bu iki sistem “T” evre gruplarında birbirinden farklılık göstermektedir. Luo ve ark. ENETS T, N ve M kategori tanımlarını destekleyen ve AJCC sisteminin aşama tanımlarını benimseyen değiştirilmiş bir ENETS sistemi (mENETS) geliştirmiştir. Araştırmacılar, PNET hastalarını sınıflandırmada mENETS evreleme sisteminin ENETS ve AJCC evreleme sistemlerinden daha iyi performans gösterdiğini kanıtlamışlardır (**Resim 4.10.**) (24).

Table 2 Definitions of American Joint Committee on Cancer and European Neuroendocrine Tumor Society staging for pancreatic neuroendocrine tumors

AJCC 7 th staging classification			AJCC 8 th and ENETS staging classification	
T1	Limited to the pancreas, ≤ 2 cm in greatest dimension	T1	Tumor limited to the pancreas, ≤ 2 cm	
T2	Limited to the pancreas, > 2 cm in greatest dimension	T2	Tumor limited to the pancreas, 2-4 cm	
T3	Beyond the pancreas but without involvement of the superior mesenteric artery	T3	Tumor limited to the pancreas, > 4 cm, or invading the duodenum or common bile duct	
T4	Involvement of the celiac axis or superior mesenteric artery (unresectable tumor)	T4	Tumor invades adjacent structures	
N0	No regional lymph node metastasis	N0	No regional lymph node metastasis	
N1	Regional lymph node metastasis	N1	Regional lymph node metastasis	
M0	No distant metastasis	M0	No distant metastasis	
M1	Distant metastasis	M1	Distant metastasis	
		M1a	Metastasis confined to liver	
		M1b	Metastasis in at least one extrahepatic site	
		M1c	Both hepatic and extrahepatic metastases	

AJCC: American Joint Committee on Cancer; ENETS: European Neuroendocrine Tumor Society.

Table 3 Definitions of American Joint Committee on Cancer, European Neuroendocrine Tumor Society, and modified European Neuroendocrine Tumor Society staging for pancreatic neuroendocrine tumors

AJCC 7 th staging classification				AJCC 8 th and ENETS staging classification			mENETS		
Stage	T	N	M	T	N	M	T	N	M
IA	T1	N0	M0	T1	N0	M0	T1	N0	M0
IB	T2	N0	M0	T2	N0	M0	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0	T3	N0	M0	T3	N0	M0
IIB	T1-3	N1	M0	T4	N0	M0	T1-3	N1	M0
III	T4	Any N	M0	Any T	N1	M0	T4	Any N	M0
IV	Any T	Any N	M1	Any T	Any N	M1	Any T	Any N	M1

AJCC: American Joint Committee on Cancer; ENETS: European Neuroendocrine Tumor Society; mENETS: Modified European Neuroendocrine Tumor Society.

Resim 4.10. PNET için AJCC evreleme sisteminin 7. ve 8. baskısının özeti ve karşılaştırması

8. Baskı AJCC sınıflandırmasında ENTS sistemine uyacak şekilde değişiklikler yapılmıştır. (Resim 4.11.). İyi diferansiye PNET G1 ve G2 için ayrı bir sınıflandırma önerilmiştir. Buna göre: PNET artık boyuta (>2 cm, ≤ 4 cm ve >4 cm) dayalı TNM evreleme sistemi kullanılarak evrelendirilmiş ve peripankreatik yumuşak doku invazyonu kriteri kaldırılmıştır. N'nin tanımı metastatik lenf nodülü sayısı göz önünde bulundurularak revize edilmiştir. M1, M1a, karaciğerle sınırlı metastazlar, M1b, en az bir ekstrahepatik bölgeye metastaz (örneğin, akciğer, over, non-bölgesel lenf düğümleri, periton, kemikler) ve M1c, hem hepatik hem de ekstrahepatik metastazlar olarak alt gruplara ayrılmıştır. Evreleme ile ilgili olarak, T4, herhangi bir N ve M0 olan tümörlere ek olarak, herhangi bir N, T2 ve M0 olan tümörler de evre III olarak sınıflandırılmıştır. (28, 29) Bu sınıflandırma, belirli bir lokalizasyona göre gastrointestinal sistemin iyi diferansiye (G1 ve G2) nöroendokrin tümörlerine uygulanabilmekte iken: yüksek

dereceli nöroendokrin karsinomlar (G3), uygun yerleşimli karsinom kriterlerine göre sınıflandırılmaktadır (13).

4.4. Pankreas Nöroendokrin Neoplaziler: PNET, PNEK ve MiNENs, PNET ve Herediter Sendromlar, Fonksiyonel PNET

4.4.1. PNET- İyi Diferansiye Pankreas Nöroendokrin Tümör

Nöroendokrin tümörler (NET), morfolojik ve immünohistokimyasal nöroendokrin farklılaşma gösteren epitelyal neoplazmalardır. PNET'ler adalar şeklinde, insular, asiner, trabeküler veya giriform patern gösteren gevşek kohezyonlu gösteren poligonal-yuvarlak şekilli hücrelerde oluşmaktadır. Neoplastik hücre grupları arasında ince duvarlı damarlar bulunmaktadır. PNET'lerin çoğu hiperselüler ve stromadan fakir olarak izlenirken, bazı tümörler yoğun hyalinize stroma ve az hücreli konponent içeren formda izlenmektedir. Bazen hücre sınırları net olarak seçilememektedir. Nukleus santralde veya periferde bulunmakta ve bu da plazmasitoid bir görünüme neden olmaktadır. Nukleuste hiperkromatik ("tuz- biber") manzarası kromatin ve küçük, belirsiz bir nukleol yer almaktadır. Hücreler eozinofilik granüller sitoplazmaya sahiptir. Granülleri nörosekresyon aktivitesine sahip iken hücrenin vasküler polüne doğru yönlendirilmiştir. Nekroz nadir ve minimaldir. PNET'te tümör hücreleri tarafından asiner yapı oluşumu olabilmektedir. 1 cm'ye kadar olan küçük PNET boyutları genellikle çevredeki parankimden iyi bir şekilde ayrılmıştır. Bununla birlikte, büyük boyutlarda damar ve sinirlerin invazyonu ile infiltratif büyüme gelişmektedir. Daha nadir de olsa, pankreasta sık olarak metastaz yapan renal hücreli karsinomdan ayırt edilmesi gereken olan onkositik bir fenotip içeren PNET'in morfolojik varyantı da bulunmaktadır. Berrak hücreli veya lipid açısından zengin varyant, von Hippel-Lindau sendromlu hastalarda daha sık görülmektedir. Ayrıca hepatoid, paraganglioma benzeri varyantları da vardır. Onkositik, hepatoid varyant tümörler, lipid açısından zengindir ve plazmasitoid/rabdoid NET'ler daha agresif davranış göstermektedir. Pleomorfik varyant PNET'te şiddetli nükleer atipi saptanır, ancak artmış proliferatif aktivite veya olumsuz klinik seyir saptanmaz (9, 13, 30). Tüm NET'ler malign potansiyeli olan neoplaziler olarak kabul edilmelerine rağmen, çoğunlukla yavaş seyri ile karakterizedir ve erken bir dönemde cerrahi olarak tamamen çıkarılırlarsa düşük bir metastaz riskine sahiptirler. Bununla birlikte, daha büyük NET'ler daha sık metastaz yapar ve tedavi edilmesi daha zordur, ancak yine de sonraki aşamalarda bile prognoz olumludur. F-NET, artan hormonal sekresyon ile karakterize edilmektedir. NF- NET'ler hormon üretebilir, ancak önemli klinik semptomlara neden olmaz (13).

4.4.1.1. Non Fonksiyonel Pankreas Nöroendokrin Tümör (NF-PNET).

Bu terminoloji, pankreasın paraneoplastik semptomları olmayan iyi diferansiye epitelyal nöroendokrin neoplazmaları için kullanılır ve bu nedenle geç teşhis edilmektedir (13, 23). 50-55 yaş arası kadın ve erkeklerde eşit sıklıkta görülmektedir. Bu tümörlerin yaklaşık %55-75'i kötü huylu davranmaktadır. Tümörün boyutu 0,5 cm'ye ulaşmıyorsa, oluşum "mikroadenom" olarak adlandırılır. Prognostik olarak iyi huyludur, çoklu tümörlerde "mikroadenomatoz" terimi kullanılmaktadır (13). Bu tümörler genellikle sporadik olarak ortaya çıkar, ancak %10'u infiltratif büyüme paternleri olmadan yavaş büyüyen, predispozan genetik sendromlarla ilişkilidir. (13, 23). Bazen NF-PNET'ler CEA ve CA19-9 ile immunhistokimyasal olarak pozitifdir (13).

4.4.1.2. Fonksiyonel Pankreas Nöroendokrin Tümör (F-PNET)

Fonksiyonel PNET'ler, klinik olarak çeşitli hipersekresyon sendromları ile kendini göstermektedir. Anormal miktarlarda peptid hormonları ve diğer biyoaktif bileşikler salgılamaktadır (23). F-PNET'ler arasında insülinoma, gastrinoma, VIPoma, Glukagonoma, Somatostatinoma, ACTH-Salgılayan NEN ve Serotonin- salgılayan NET yer almaktadır.

İnsülinoma iyi huylu (%90) ve en sık görülen F-PNET'tir (%35-40). İnsülinomalar, aşırı insülin salgılayan insülin ve proinsülin üreten β -hücrelerinden köken almaktadır. İnsidans 100.000 kişide 0,4 olgu ve %4-7'si MEN1 ile ilişkilidir (7). İnsülinoma her yaşta ortaya çıkar, ancak 60 yaşında pik yapar, daha sık olarak kadınlarda teşhis edilir, ancak malign formu erkeklerde daha sıktır (26). Sporadik insülinomaların etiyolojisi bilinmemektedir. Bilinen risk faktörü diyabettir (7). Morfolojik olarak olguların yaklaşık %5'inde adacık amiloid polipeptidinin (amilin olarak da adlandırılır) stromal birikimi gelişebilmektedir. Tek bir tümörün tanısını doğrulamak için immünohistokimyasal boyama gerekli olmamakla birlikte, ancak çoklu tümörler için insülin boyaması önerilmektedir (13). Ekstrapankreatik insülinoma nadir, daha sıklıkla duodenumdadır. Ailesel insülinomatoz olgularında, yakın zamanda MAFA geni mutasyonu tanımlanmıştır. İnsülinomatoz, hiperinsülinemi ile ilişkili hipoglisemiye neden olan multipl santral insülinomaların senkron veya metakron oluşumu ile karakterize edilen daha yaygın olarak iyi huylu bir hastalıktır. İnsülinomatoz, sporadik ve MEN1 ile ilişkili insülinomlardan farklı ve mutlaka insülin boyamasını gerektirmektedir (7, 13). Moleküler özellikler, insülinomaların bağımsız bir PNET grubu olarak RNA seviyesinde kümelenmesini içermektedir. Sporadik insülinomaların %30'unda, diğer PNET'lerde bulunmayan p.T372R tekrarlayan mutasyon bulunmaktadır (13).

Gastrinoma, tüm F-PNET'lerin ikinci en sık görülenleridir (%30) ve tüm PNET'lerin %4-8'ini oluşturmaktadır. Olguların %90'nı kötü huyludur. (7, 23) Sporadik tümörler MEN ilişkili tümörlere göre 10 yıl daha erken saptanmaktadır. Yaşamın 5.-6. dekadlarda daha sık tespit edilebilmekte ve her iki cinsiyette de eşit sıklıkta görülmektedir. (13) Çoğu durumda %70 oranında gastrinomlar duodenumda yerleşiktir, %25 sıklıkla MEN1 ile ilişkilidir ve yaklaşık %25 pankreasta bulunmaktadır (7, 13, 23). Gastrinomalar, G hücrelerinin aşırı gastrin üreterek yüksek gastrik asit salgılamasına yol açan ve Zollinger-Ellison sendromu ile ilişkilidir. Sporadik gastrinomalar somatik MEN1 mutasyonları içerebilmekte ve daha malign olabilmektedir. (13) Gastrinomalarda, metastatik LN tümörün boyutunu aşabilir, bu nedenle LN'nin primer gastrinoma tanısı, gizli bir duodenal gastrinomdan metastazların dikkatli bir şekilde dışlanması gerektirmektedir (7, 13). Pankreas gastrinomunda karaciğer metastazları diğer bölgelere göre daha sıktır (13).

VIPomalar nadir görülen tümörlerdir (tüm PNET'lerin %0,6-1,5'i), olguların %85'inde pankreasta, daha sıklıkla kuyrukta lokalizedir ve fonksiyon gösteren PNET'lerin %3 ila %5'ini oluşturmaktadır. Hipersekresyonu mide asidinin inhibisyonuna neden olan ve Werner-Morrison sendromu (veya WDHA sendromu) gösteren vazoaktif bir bağırsak polipeptidi salgılayan non- β adacık hücrelerinden kaynaklanmaktadır (7). Sıklıkla çocukta olmak üzere sempatik paraganglia ve adrenal bezlerde daha küçük bir VIPoma odağı bulunur. VIPomaların yaklaşık %50-80'i karaciğer metastazı ile geç evrelerde teşhis edilmekte, buna rağmen 5 yaşında %68'e kadar çıkmaktadır (7, 26).

Glukagonoma, ileri evrelerde teşhis edilen, malign potansiyeli (%70 ila %90) olan, yavaş büyüyen bir tümördür. Dördüncü sıklıkta görülen fonksiyonel PNET'tir (%8-12). Nadir bir tümör olarak (tüm PNET'lerin %1-2'si), kontrolsüz miktarlarda glukagon salgılayan pankreatik a-adalarından ve preproglukagon'dan türetilen bir peptitten oluşmaktadır. Glukagon karaciğere etki eder ve amino asit oksidasyonunu ve ardından amino asit substratlarından glukoneogenezi arttırmaktadır (13). Tanı ortalama 50'li yaşlarda konulmakta ve kadınlarda daha sık görülmektedir (13, 23). Çoğu glukagonoma, DAXX'in bialelik inaktivasyonu ile belirlendiğinde sporadiktir ve yalnızca %3'ü, içinde FOXA2 geninin saptandığı MEN1 sendromu ile ilişkilidir (13, 23). Tümör daha çok pankreas kuyruğunda yerleşir ve büyük boyutludur (7). Kistik dejenerasyon görülmektedir. Metastazlar nadirdir. 5 yıllık hayatta kalma oranı yaklaşık %70'tir (13).

Glukagon hücre hiperplazisi ve neoplazisi (GHHN) veya Mahvash sendromu, kromozom 17q25.3'te bulunan GCGR (glukagon reseptörü) geninin bir germ line mutasyonunun neden olduğu, oldukça nadir (bilinen 10 olgu) otozomal resesif kalıtsal bir hastalıktır. Bununla birlikte, sporadik olgular da bulunmaktadır. Hastalık iyi huyludur, ancak metastazlar bildirilmiştir. Bu durumda, glukagonoma sendromu olmadan yüksek glukagon seviyeleri tespit edilmektedir. Hastaların yaşı cinsiyete bakılmaksızın 25 ile 68 arasında değişmektedir. GCGR genindeki mutasyonlar, reseptörün yetersiz ekspresyonuna neden olur, bu da hepatik glukagon sinyalinin eksikliğine ve ardından karaciğer ve glukagon hücreleri arasındaki “feedback” mekanizmasının bozulmasına sebebiyet vermekte; glukagon hücrelerinin hiperplazisine ve glukagon düzeylerinde de artışa yol açmaktadır. Bu durum ilerde neoplazi durumu gelişmektedir. Bu hastalıkta pankreas diffüz olarak büyümüştür, farklı boyutlarda çoklu nodüller saptanır, mikroadenomlar ile PNEN belirlenir ve proliferatif aktivite düşük olarak saptanmaktadır (7, 13).

Somatostatinoma, somatostatinin kontrolsüz aşırı salgılanmasından sorumlu olan Δ hücrelerinden oluşan tümördür. Somatostatinomalar, F-PNET'lerin <%5'ini ve tüm PNET'lerin %2'sini oluşturmaktadır. Daha çok insidental saptanmakta ve semptomatik seyir olması durumunda “mass-effect” belirtisi ön plana çıkmaktadır. Ayrıca, somatostatinoma sendromunun semptomları olmayan, ancak somatostatin ile immunhistokimyasal boyanma gösteren tümörler, ampula veya duodenumda daha sık lokalize olmaktadır. Bu durumda bu tümörler somatostatinoma yerinde “Somatostatin üreten iyi diferansiye NET” olarak isimlendirilmektedir. (23) Yaşamın 5. dekadlarında ve kadınlarda daha sık görülür. Daha çok pankreas başında lokalizedir (7). Somatostatinomaların %70 kadarı maligndir ve olgular metastatik dönemde geç tanı almaktadır. Histomorfolojik olarak, belirgin glandüler büyüme paterni göstermektedirler ve duodenal somatostatinomalarda daha sık olan psammom cisimcikleri tespit edilmektedir (7, 23). Vasküler ve perinöral invazyon da sıklıkla görülmektedir (13). Somatostatinoma, NF1 ve MEN1 olgularında da görülebilmektedir. Son zamanlarda bu tümörlerde, hipoksiye hücresel yanıtın kontrolünde yer alan HIF2A geninin somatik bir mutasyonu tanımlanmıştır. Bu nedenle polisitemi, somatostatinoma sendromu ve paraganglioma ile sıklıkla birlikte görülmektedir. Genel 5 yıllık sağ kalım oranı yaklaşık %75 olarak bildirilmektedir (26).

ACTH-Salgılayan NET, Cushing sendromuna neden olan aşırı ACTH salgılayan hücrelerinden gelişen, genç veya orta yaşlı kadınlarda ve ayrıca çocuklarda daha sık görülen pankreasın nadir (tanımlanan 150'den az olgu) bir PNET'tir. Ayrıca hastaların %40'ında

Zollinger-Ellison sendromu bulunurken, semptomlar senkron değil, daha çok metakronudur. Histomorfolojik olarak sık vasküler ve perinöral invazyon izlenir. ACTH'nin immünohistokimyasal ekspresyonuna ek olarak, CD117 boyaması kötü prognoz ile ilişkilidir. ACTH üreten PNET'ler agresiftir ve 5 yıllık genel hayatta kalma oranı %35 olarak bildirilmektedir (13, 26).

Serotonin- salgılayan NET, Enterokromaffin ve Kulchitsky hücrelerinden veya serotonin üreten multipotent progenitor hücrelerden oluşan (yaklaşık 100 olgu), karaciğere metastaz varlığında karsinoid sendroma neden olan nadir bir NEN'dir. Orta yaşlı kadınlarda daha sık görülmektedir. Tümör hücreleri, intraduktal papiller müsinöz neoplazmi taklit edebilen pankreas kanalı boyunca yerleşmektedir. Toplam 1 yıllık sağ kalım %84 olarak bildirilmektedir (13, 26).

4.4.2. PNEK- Az Diferansiye Pankreas Nöroendokrin Karsinoma

PNEK, yüksek dereceli malign ve yüksek proliferatif aktiviteye sahip az diferansiye bir nöroendokrin neoplazidir. PNEK'ler nadirdir, tüm pankreatik tümörlerin <%1'ini meydana getirmektedir. Erkeklerde daha sık ve 50-60 yaşlarında daha fazla görülmekle birlikte daha genç hastalarda da görülebilirler. PNEK'ler nöroendokrin sendromlarla ilişkili değildir. PNEK genellikle hormon ekspresyonu ve asiner hücre belirteçleri ekspresyonu yoktur. NEK'ler morfolojik özelliklerine göre küçük hücreli NEK (KHNEK) ve büyük hücreli NEK(BHNEK) olarak sınıflandırılmaktadır. KHNEK organoid bir patern oluşturmeyen yapraksı görünümde bir arktitektur içermektedir. Tümör hücreleri küçük boyutlu (boyut lenfositin 3 kat daha küçük), oval veya fusiform nükleuslu, dar sitoplazmalı, yüksek nükleer sitoplazmik oranı görünümde, ince granüler kromatinli ve belirsiz nükleolle sahiptir. Nükleer "molding" ve tümör nekrozu yaygındır. BHNEK yapraklar ve solid/adalar şeklinde gelişim gösteren periferik palizatlama oluşturabilen hücrelerden oluşur. Tümör hücreleri büyük nükleuslu (boyut lenfositin 3 kat daha büyük), noktalı veya veziküler kromatinli, poligonal ve genellikle belirgin nükleollü karakterizedir. Konfluent nekroz sıktır. NEK, NET'ten gelişmez, ilgili organların nöroendokrin olmayan karsinomlarına neden olan prekürsör lezyonlardan kaynaklanır ve adenokarsinom veya skuamöz hücreli karsinom gibi diğer neoplazilerin komponentlerini içerebilmektedir. PNEK'ler oldukça agresif malign neoplazidir. Tanı anında hastaların büyük çoğunluğunda metastaz mevcuttur. Rezeksiyon ve platin tedavisi şansına sahip olgularda bile medyan sağkalım süresi çok kısadır (<1 yıl). BHNEK'li hastaların hayatta kalma oranı, KHNEK'li hastalardan daha yüksektir (13, 30).

4.4.3. Pankreatik Mikst Nöroendokrin- Non-Nöroendokrin Neoplaziler (MiNEN)

Mikst Nöroendokrin- Non-Nöroendokrin Neoplaziler (MiNEN) > %30 nöroendokrin komponent ve > %30 duktal adenokarsinom veya asiner hücreli karsinomdan oluşan neoplazilerdir. Her komponentlerin malignite derecesi ayrı ayrı belirlenir, ancak prognozu nöroendokrin komponenti belirlemektedir. Tümörde KHNEK komponent varsa daha agresif seyredebilir ve tanıda belirtilmelidir. MiNEN nadir olarak görülür. Tanı için az diferansiye nöroendokrin komponent spesifik nöroendokrin belirteçlere karşı immünoreaktivite göstermelidir. Mikst duktal-nöroendokrin karsinomlar, tüm duktal adenokarsinomların yaklaşık %0.5-2'sini kapsar, mikst asiner-nöroendokrin karsinomlar, tüm asiner hücreli karsinomların %15-20'sini oluşturur. Ayrıca, NEK'te yaklaşık %18'i adenokarsinom komponente sahiptir. Her iki cinsiyette de olabilmektedir. MiNEN' nöroendokrin komponent non-fonksiyoneldir. Prognoz çok kötüdür. Hastalar nadiren > 3 yıl hayatta kalırlar (13, 31).

4.4.4. PNET ve Herediter Sendromlar

PNET'ler %10-20'de kalıtsal sendromlar ve hastalıklar, glukagon hücre hiperplazisi ve neoplazisi ve ailesel insülinomatozis ile ilişkilidir. MEN 1 ve 4 tip, Hippel-Lindau hastalığı (VHL), Nörofibromatozis tip 1 (NF1), Tüberoskleroz (TSK) gibi otozomal dominant hastalıklarda PNET gelişebilmektedir. Ayrıca glukagon reseptörünün bialelik heterozigot mutasyonu ile karakterli bir otozomal resesif Mahvash hastalığı saptanmaktadır. PNET frekansı MEN1'de %30-80 ve VHL'de %17 olarak bildirilmektedir. NF1 ve TSK'de daha az oranda PNET izlenmektedir. Somatostatinomalar VHL'de daha yaygındır ve Mahvash hastalığı çoklu glukoganomalarla ilişkilidir. (9) MEN-1'de endokrin tümörler 40 yaşına yakın gelişir ve paratiroid bezlerinde, ön hipofiz bezinde, pankreas adacıklarında ve duodenumda (%40 ila %80) öncelikle gelişir. Aynı zamanda, pankreas tümörleri multifokal, farklı boyutlarda, iyi huylu veya metastatik olabilir. Ancak tümörün boyutu, özellikle tümör 2 cm'den büyükse, hastalığın prognozunu etkileyecektir. VHL sendromu, retina ve kraniyospinal hemanjiyoblastom, pankreas tutulumu (%35 ila %72), böbrek tümörü, feokromositoma ile karakterizedir. PNET genç yaşta multifokal lezyonlar şeklinde teşhis edilmektedir. VHL geninin rolü, doku hipoksisinin gelişimi ile ilişkilidir. Mutasyona uğradığında dokuda, psödohipoksi durumu ile ilişkili histolojik özellikler tespit edilmektedir. Bu özellikler arasında hipervaskülarizasyon, nükleer atipi ve şeffaf/çoklu vakuoler gibi hücrel değişiklikler ortaya çıkmaktadır. NF1 olgularında nörofibromlar, kafe-au-lait lekeleri, Lisch nodülleri, çiller, optik sinir gliomu gelişebilmektedir. Sadece %10 olguda, dağınık psammoma cisimciklerinin varlığı ile karakterize olan somatostatinomalarla kendini gösteren nöroendokrin tümörler

görülebilmektedir. Sporadik somatostatinomalara göre daha proliferasyon düşüktür, boyutları daha küçük ve daha iyi bir prognoz ile karakterize tümörlerdir. Tuberoskleroz sendromu multipl hamartomatöz lezyonlar, fasiyal anjiyofibrom, tırnak fibromunun varlığı ve PNEN ile karakterizedir (26).



5. GEREÇ VE YÖNEM

5.1. Olgu Seçimi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında, Ocak 2000 – Ağustos 2023 yılları arasında 18 yaş üstü, erkek ve kadın olguları içeren Pankreas Nöroendokrin Neoplazi tanısı almış tüm olgulara “Hastane Bilgi Sistemi” kayıtlarından ulaşıldı. Bu tarihler arasında, Whipple pankreatikoduodenektomi, Distal pankreatektomi ve Pankreas enükleasyon materyallerinden histopatolojik inceleme ve immünohistokimyasal değerlendirme sonucunda Pankreas Nöroendokrin Tümör veya Pankreas Nöroendokrin Karsinom tanısı alan hastalar bilgilendi. Bu hastalarda HE kesit ve immünohistokimya ile Sinaptofizin, Kromogranin A ve Ki67 boyalı kesitlerine ulaşan 87 hasta çalışmaya dahil edildi.

Çalışmamızda, pankreas “mikroadenomu” olarak değerlendirilen 5 mm'den küçük pankreas neoplazisi tanısı alan olgular, MiNEN, nüks tümörler ve duodenal duvarda lokalize olan, ancak pankreasa invazyonu olmayan nöroendokrin neoplaziler çalışma dışı bırakıldı.

5.2. Histomorfolojik Değerlendirme

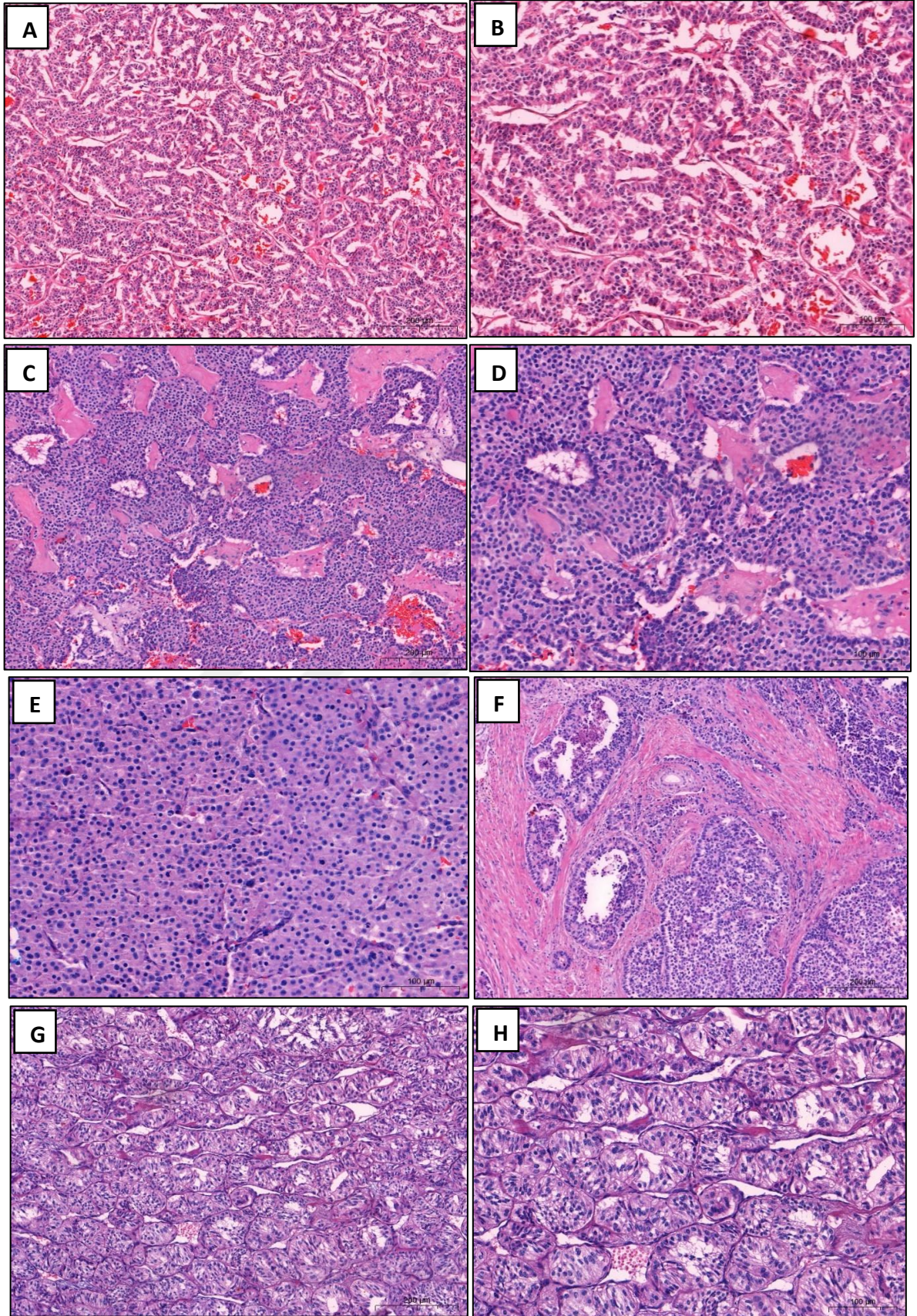
Patoloji arşivinde bulunan 87 Pankreas Nöroendokrin Neoplazi olgusuna ait HE boyalı preparatlar yeniden değerlendirildi. Tümörlerde farklı histomorfolojik paternler (asiner, insular, solid, trabekular, kribriform) (**Resim 5.1**) ve onların kombinasyonları belirlendi. Az diferansiye olan tümörler morfolojik olarak küçük veya büyük hücreli karsinomlar olarak sınıflandırıldı. Tümörlerin sınırları (iyi sınırlı veya infiltratif) (**Resim 5.2**) ve pankreas dışındaki invazyonlar değerlendirildi (**Resim 5.3**). Tümörde nekroz, lenfovasküler ve perinöral invazyon varlığı değerlendirildi (**Resim 5.4**). Cerrahi sınırların durumuna yeniden bakıldı. Metastatik lenf nodülleri varlığı ve uzak metastaz varlığı yeniden değerlendirildi. Kanamalı, koter artefaktlı sahalar ve dökülmüş veya katlanmış doku değerlendirmeye alınmadı.

Mitoz sayısı HE boyalı kesitlerde, ışık mikroskopunda x40 büyütmede 10BBA'da sayıldı. Mitoz sayısı DSÖ 2019 göre: 2'den az, 2-20 arasında veya 20'den fazla olmak üzere olgular üç gruba ayrıldı.

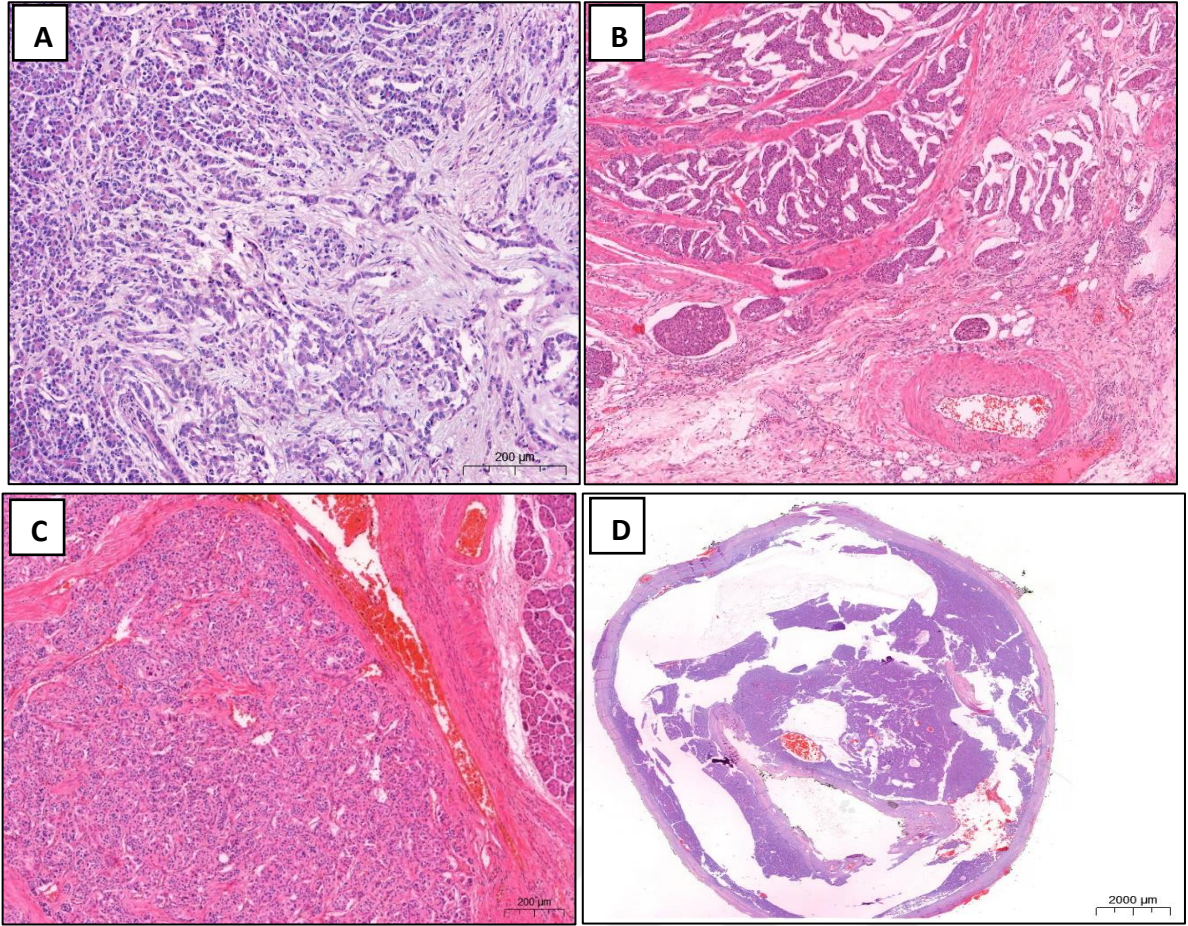
Çalışmaya dahil edilen olguların yaşları, tümör boyutları, çok odaklı olgularda tümör sayısı, lenf nodu metastaz ve/veya uzak metastaz durumları, operasyon tipi (Whipple prosedürü, distal pankreatektomi veya pankreas enükleasyonu) (**Resim 5.5**) gibi verilerin eski

patoloji raporlarından, “Hastane Bilgi Sistemi” taranarak elde edildi. PNET G1 ve G2, iyi diferansiye PNEN için belirlenen TNM kriterlerine göre sınıflandırıldı; PNET G3 ve PNEK G3, az diferansiye PNEN için belirlenen TNM kriterlerine göre sınıflandırıldı. Makroskopik tariflerden tümörün lokalizasyon bilgisine ulaşılabilen olgular tümörler yerleşim yerlerine göre; “pankreas başı/processus uncinatus yerleşimli, pankreas gövdesinde yerleşimli, pankreas kuyruk yerleşimli” olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Çalışmaya dahil edilen olguların, sağkalım bilgileri (hayatta/ölü), takip süreleri (ay), postoperatif tedavi bilgileri (var/yok), nüks/metastaz durumları (var/yok), Tıbbi Onkoloji bölümü ile bağlantı kurularak tekrar sorgulandı. Sağkalım süresi, ilk tanı tarihinden son takip teması tarihine veya ölüm zamanına kadar geçmiş ay sayısı olarak hesaplandı.

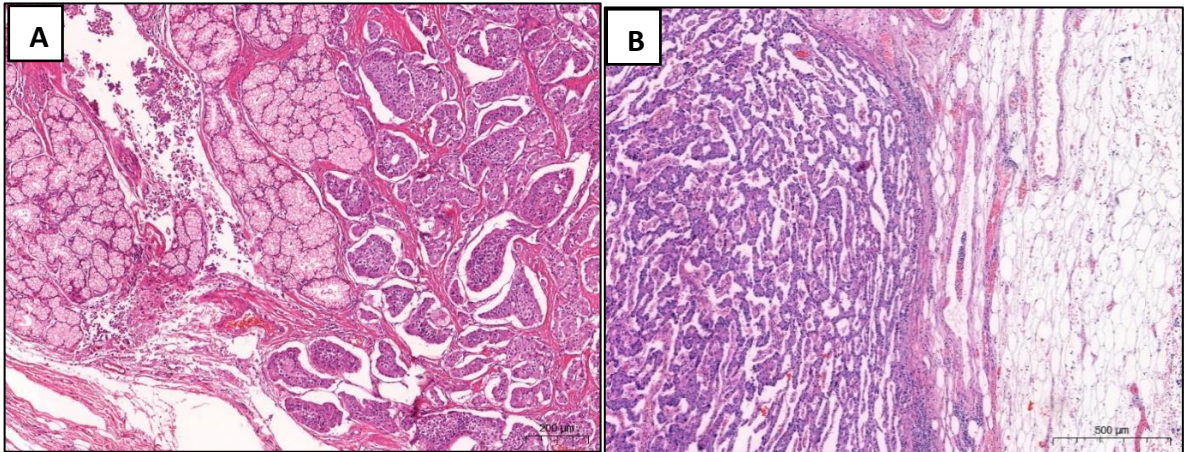
Sendromlarla ilişkili ve patolojik olarak hormonların aşırı salgılanmasıyla kendini gösteren komorbiditeler hakkında da sistemden elde edilen veriler kaydedildi.



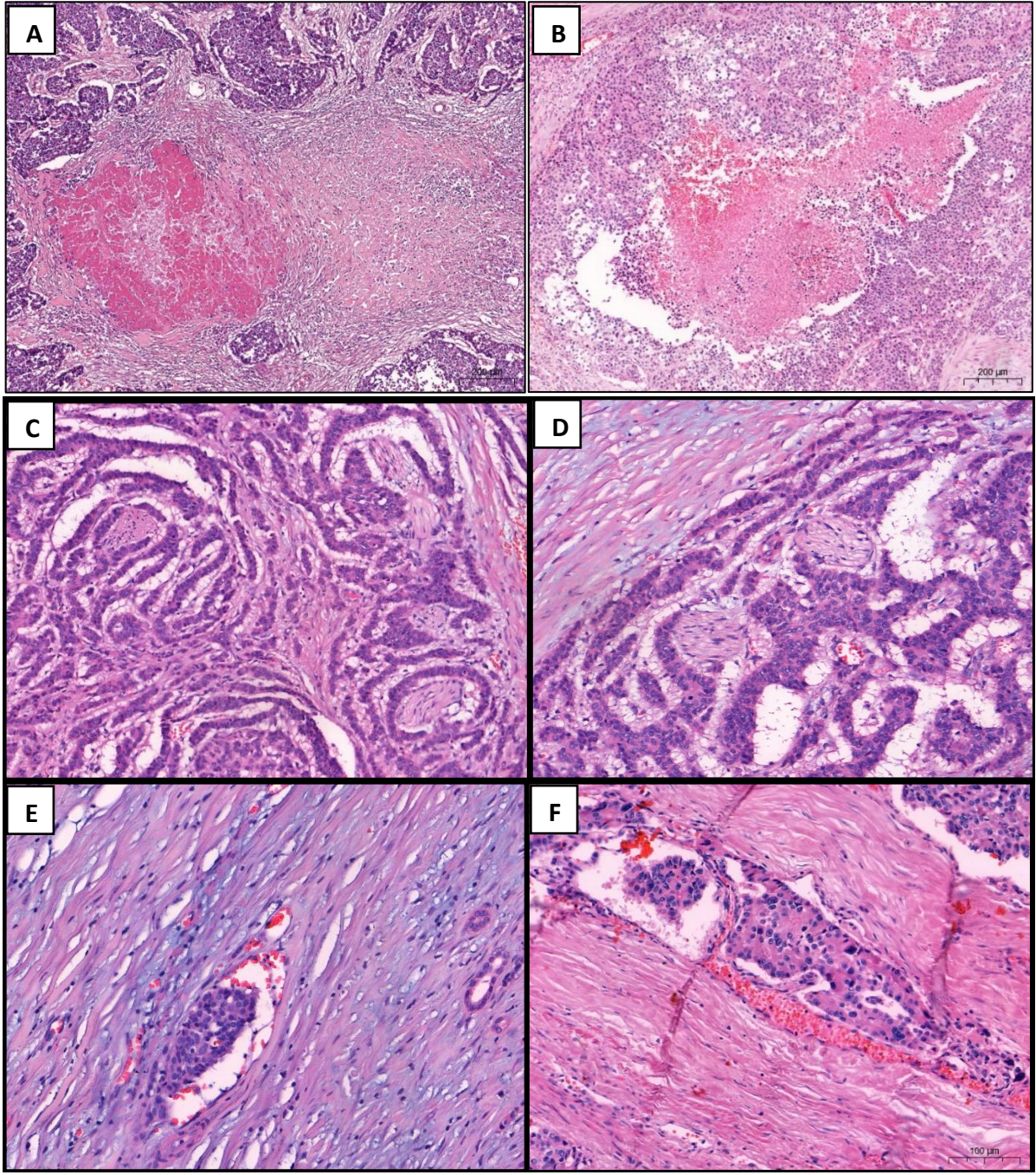
Resim 5.1. Histolojik paternler. (A-B) Asiner patern (HE x20 ve 40x). (C-D) İnsular patern (HE x20 ve x40). (E) Solid patern (HE x40). (F) Solid ve Kribriform patern (HE x40). (G-H) Trabeküler patern (HE x20 ve x40).



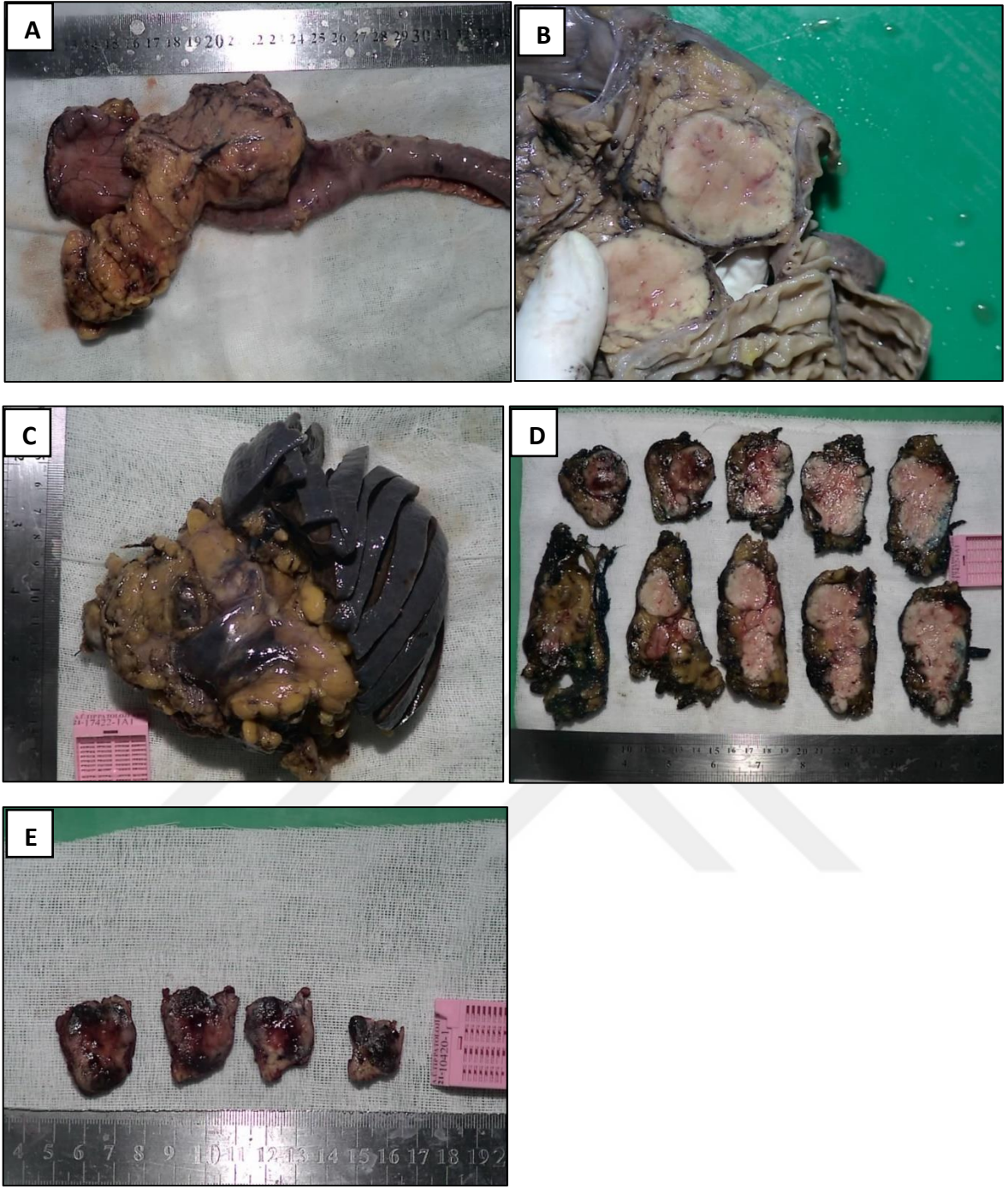
Resim 5.2. (A-B) İnfiltratif sınırlı PNEN (HEx10). (C) İyi sınırlı PNEN (HE x10). (D) İyi sınırlı kistik PNEN (HEx 0,7).



Resim 5.3. (A) Ampulaya ve Duodenuma invazyon gösteren PNEN (HEx10). (B) Peripankreatik Yumuşak dokuya invazyon gösteren PNEN (HEx10).



Resim 5.4. (A-B) Nekroz gösteren PNEN (HE $\times$ 10). (C-D) PNI gösteren PNEN (HE $\times$ 10 ve $\times$ 20). (E) LVI gösteren PNEN (HE $\times$ 20). (F) Tümör trombüsü içeren PNEN (HE $\times$ 20).



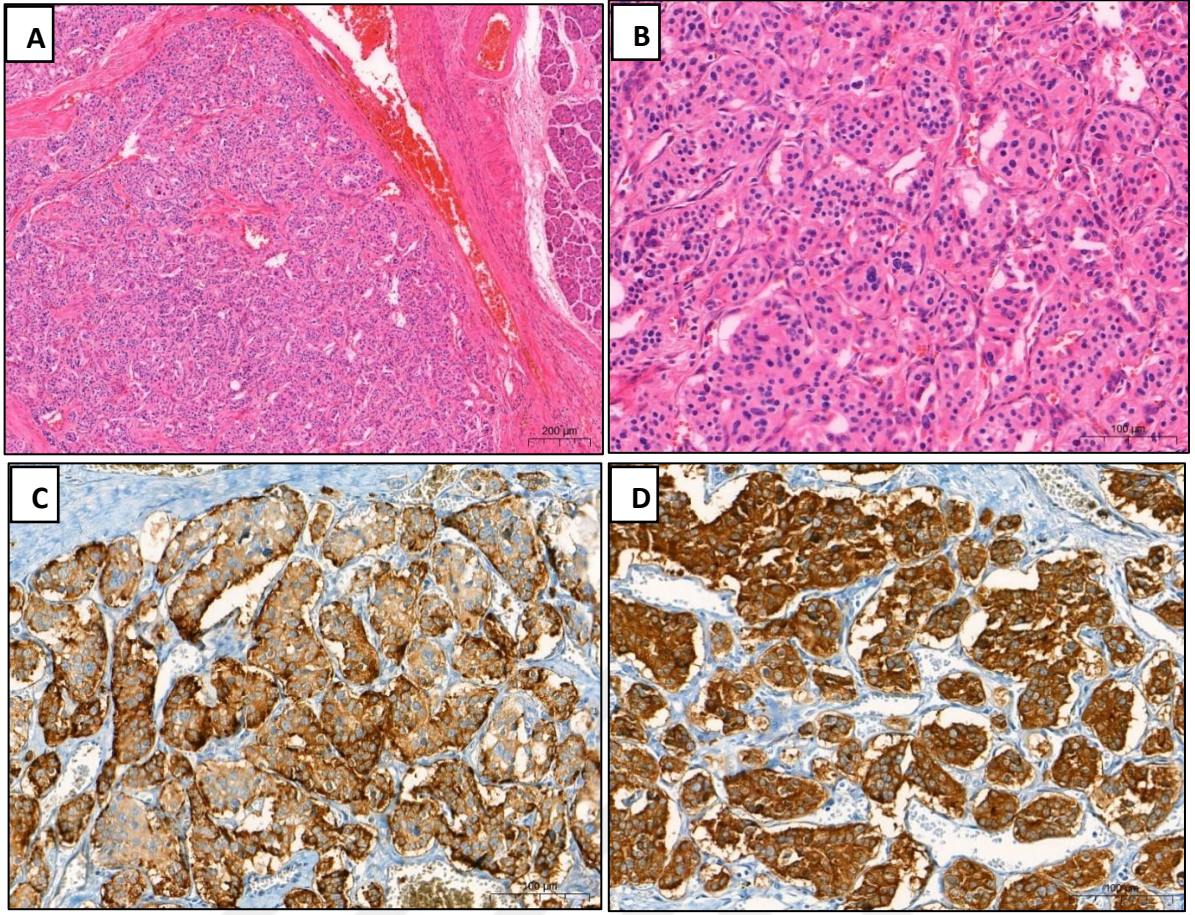
Resim 5.5. Makroskopik görünüm. (A-B) Whipple operasyon materyali, (C-D) Distal pankreatektomi, E- Pankreas Enükleasyonu

5.3. İmmünohistokimyasal Boyalı Kesitlerin Değerlendirilmesi ve Ki67 Proliferasyon İndeksinin Belirlenmesi

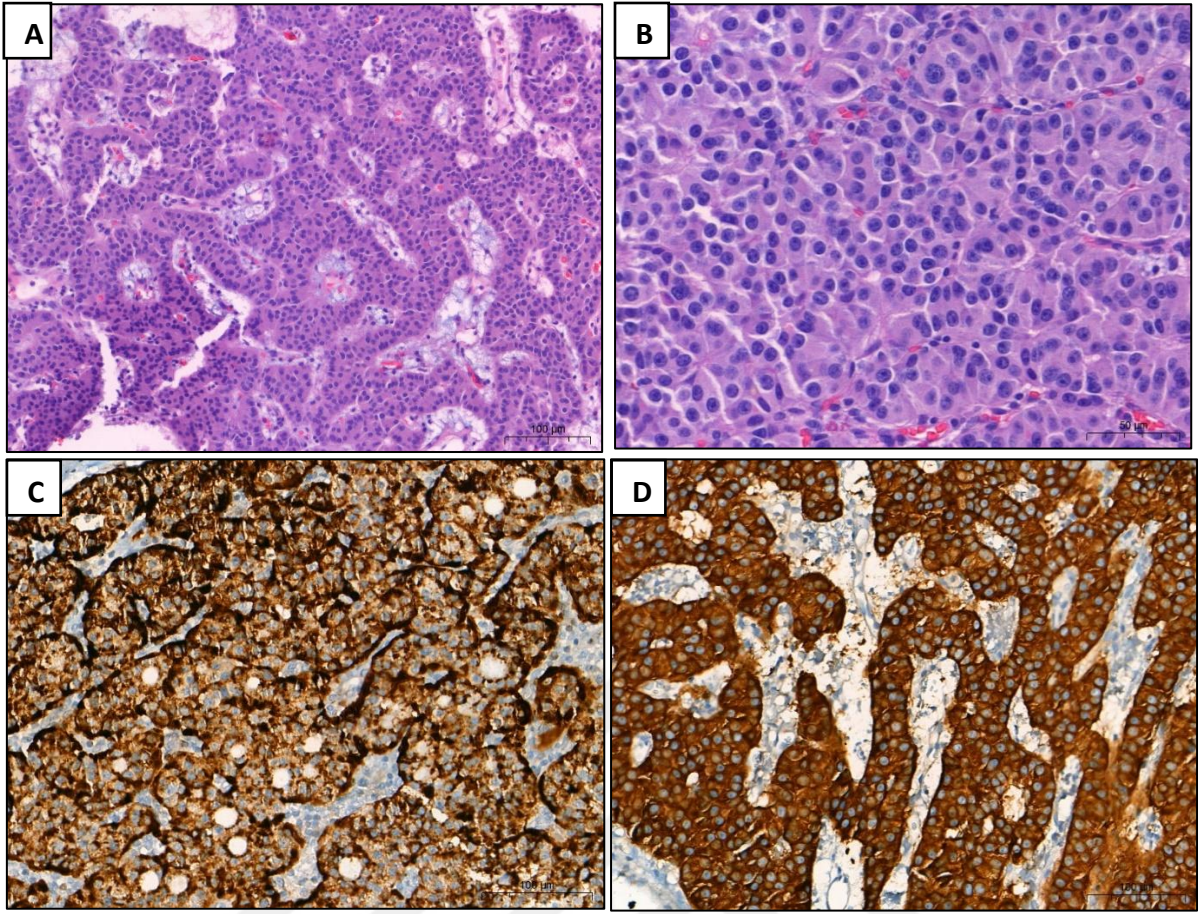
5.3.1. Işık Mikroskopla Manuel Değerlendirme

Önceden boyanan Sinaptofizin, Kromogranin A ve varsa CD56 boyalı kesitler immünohistokimyasal olarak tekrar değerlendirildi. Bu nöroendokrin belirteçlerden en az ikisinin boyanması durumunda PNEN tanısı doğrulandı (**Resim 5.6, 5.7,5.8,5.9,5.10**).

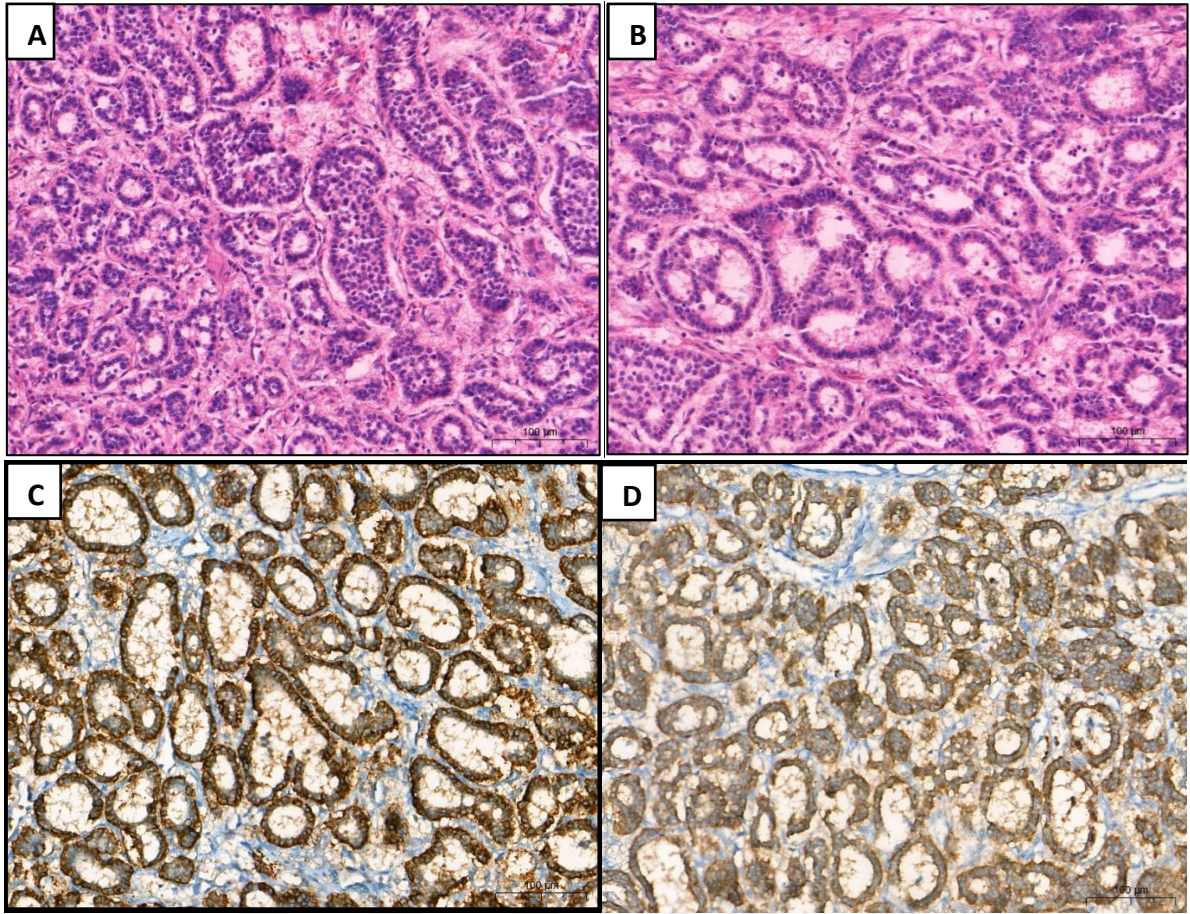
Proliferasyon aktivite için hazır immünohistokimyasal olarak Ki67 ile boyalı kesitler, ışık mikroskopunda yeniden değerlendirildi. DSÖ 2019'a göre proliferasyon indeksi değerlendirmesi için Ki67 ile en yoğun boyamanın olduğu alan ("hot spot"/"sıcak nokta") seçildi. Bu alanlarda x40 büyütme ile toplam 2000 tümör hücresinde pozitif nükleer boyanan tümör hücreleri sayıldı. Sayımı yapıldığı alanda boyanan lenfositler, endotelial ve stromal hücreler sayım dışı bırakıldı. Pozitif boyanan tümör hücre sayısının, toplam tümör hücre sayısına oranı yüzde olarak da hesaplandı (Pozitif tümör hücresi/Toplam tümör hücre sayısı x 100). Boyanma yüzdesine göre tüm olgular 3 farklı gruba (<%3-grade 1, %3-20 arasında grade 2, >%20 ise grade 3) ayrıldı.



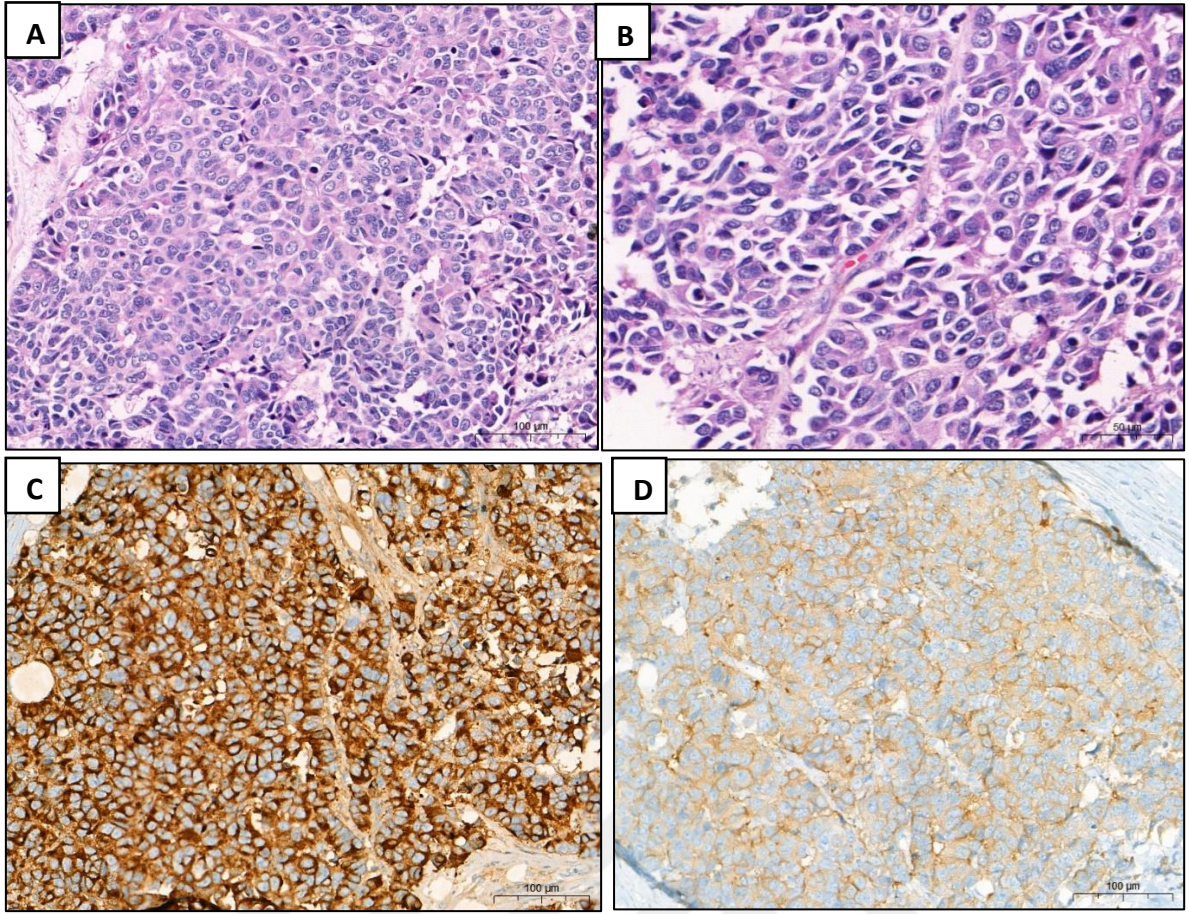
Resim 5.6. (A-B) PNET G1 (HE x10 ve x20). (C) Kromogranin A (İHKx20). (D) Sinaptofizin (İHKx20)



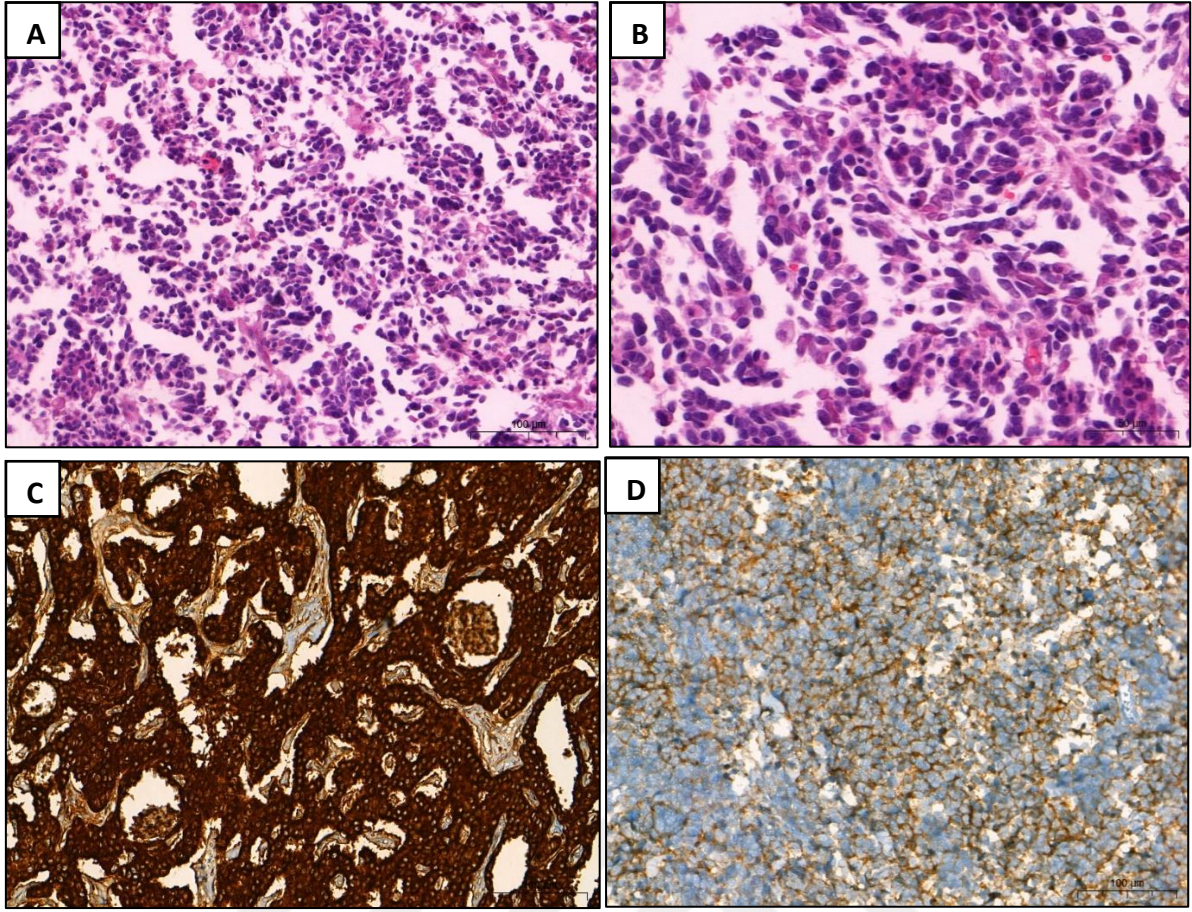
Resim 5.7. (A-B) PNET G2 (HEx20 ve x40). (C) Kromogranin A (İHKx20). (D) Sinaptofizin (İHKx20).



Resim 5.8. (A-B) PNET G3 (HEx40). (C) Kromogranin A (İHKx20). (D) Sinaptofizin (İHKx20)



Resim 5.9. (A-B) Büyük Hücreli PNEK (HE x20 ve x40). (C) Kromogranin A (İHK x20). (D) Sinaptofizin (İHKx20).



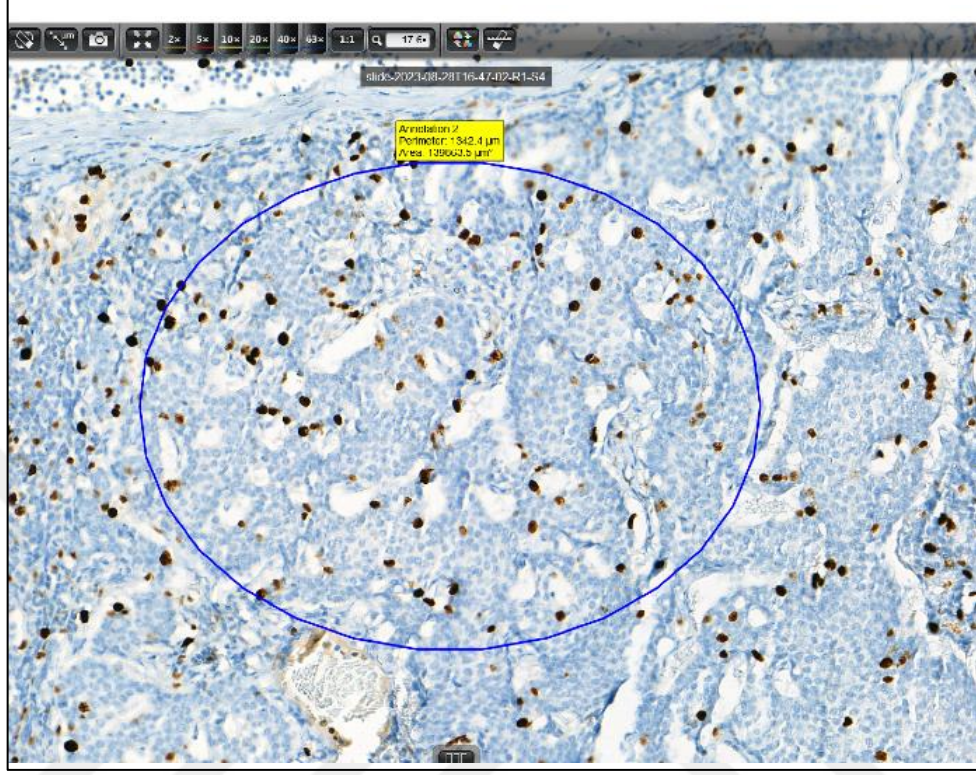
Resim 5.10. (A-B) Küçük Hücreli PNEK (HE x20 ve x40). (C) Kromogranin A (İHKx 20). (D) Sinaptofizin (İHK x20).

5.3.2. Dijital Görüntü Üzerinde Manuel Değerlendirme

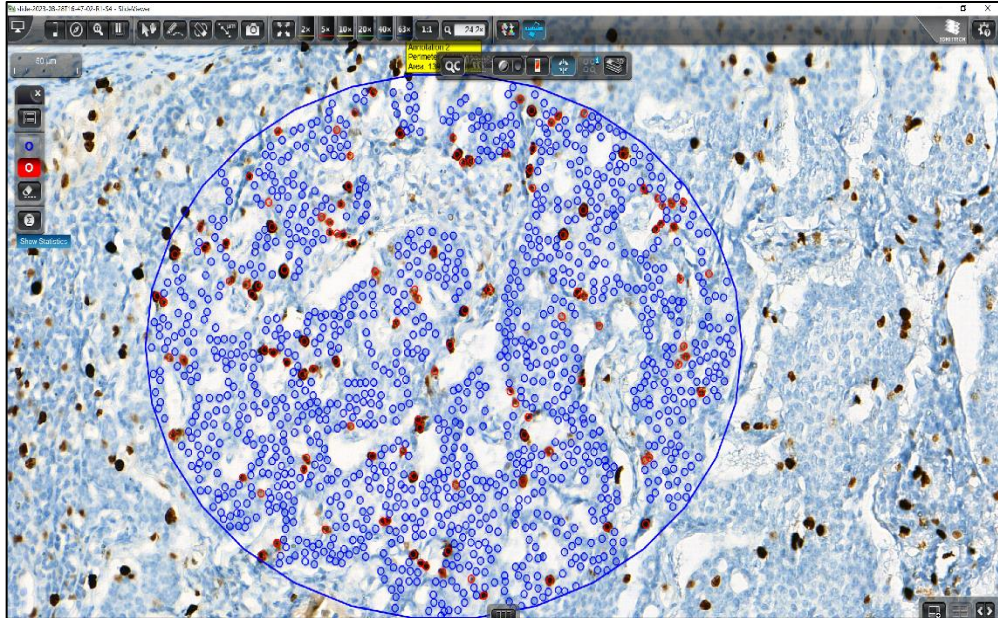
Ki67 boyalı kesitler, Sinaptofizin ve Kromogranin A ile boyalı kesitler ve tümöre ait HE ile boyanmış kesitler, 3D HISTECH, Panoramic P250 Flash 3 Panoramic scanner 3.0.2, CaseViewer 2.5., 3DHISTECH Ltd., Budapeşte, Macaristan sistemi kullanılarak dijital olarak tarandı. Ki67 değerlendirmesi için “Quant Center” yardımı ile pozitif boyanan hücrelerin tümör hücresi olduğundan emin olmak için değerlendirmenin yapılacağı alanlar HE, Sinaptofizin ve Kromogranin A boyalı preparatlara ait görüntüler bir arada değerlendirildi.

Işık mikroskopuyla manuel değerlendirmeye benzer şekilde monitör ekranında Ki67 ile en yoğun boyamanın olduğu alan (“hot spot”/“sıcak nokta”) seçildi. Tüm tümör hücreleri ve nükleer pozitif boyalı tümör hücreleri, ayrı renkler kullanılarak işaretlendi. Pozitif tümör hücreleri kırmızıyla, negatif olan mavi ile belirlendi. Seçilen alanlarda x40 büyütme ile toplam 2000 tümör hücresinde pozitif nükleer boyanan tümör hücreleri sayıldı. Non-tümöral hücreleri işaretlenmedi. Tümör hücrelerindeki her türlü nükleer boyanma pozitif kabul edildi. Pozitif boyanan tümör hücre sayısının, toplam tümör hücre sayısına oranı yüzde olarak da hesaplandı

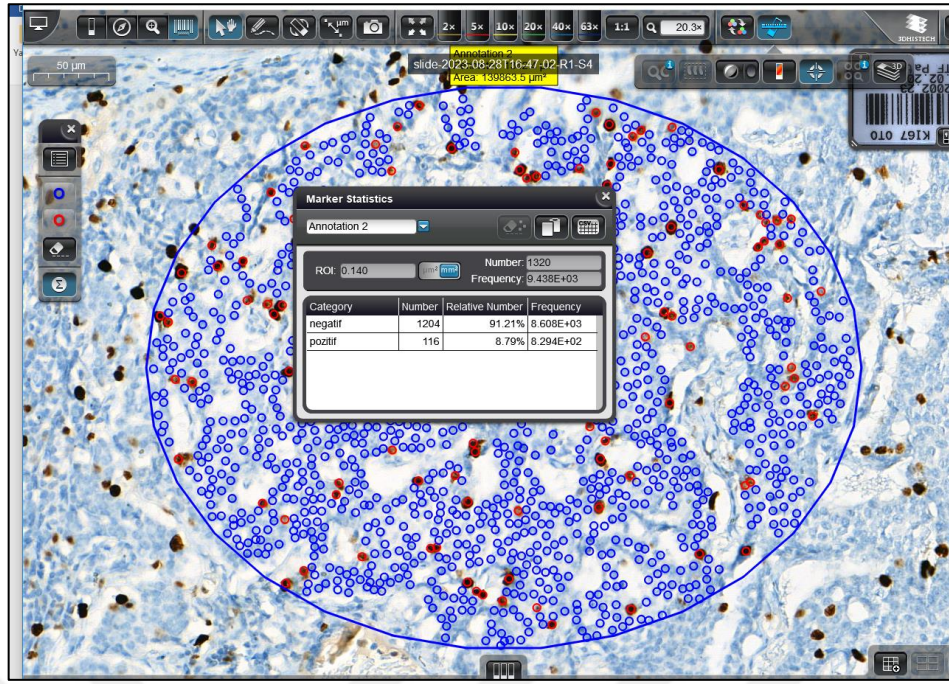
(Pozitif tümör hücresi/Toplam tümör hücre sayısı x 100). Boyanma yüzdesine göre olgular DSÖ 2019 Nöroendokrin Tümör sınıflaması kullanılarak gruplandı (<%3-grade 1, %3-20 arasında grade 2, >%20 ise grade 3).



Resim 5.11. Dijital olarak manuel değerlendirme (hot spot işaretlenmesi) örneği.



Resim 5.12. Dijital olarak manuel değerlendirme (hot spot işaretlenmesi ve kantitatif analiz) örneği.

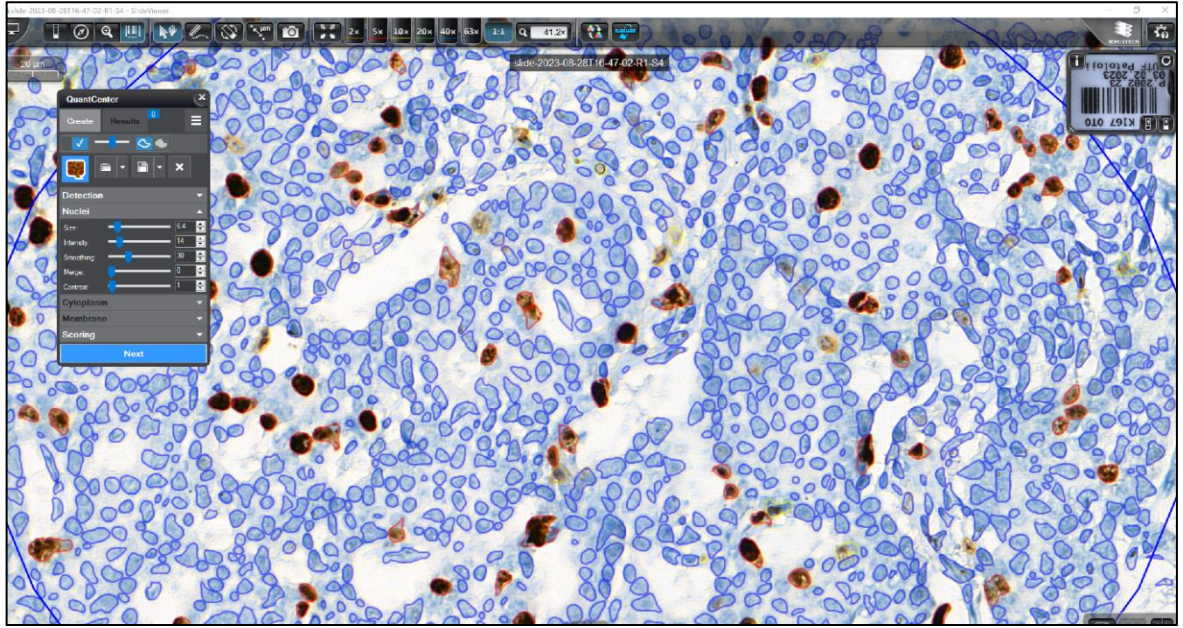


Resim 5.13. Dijital olarak manuel değerdendirmenin sonuç örneği.

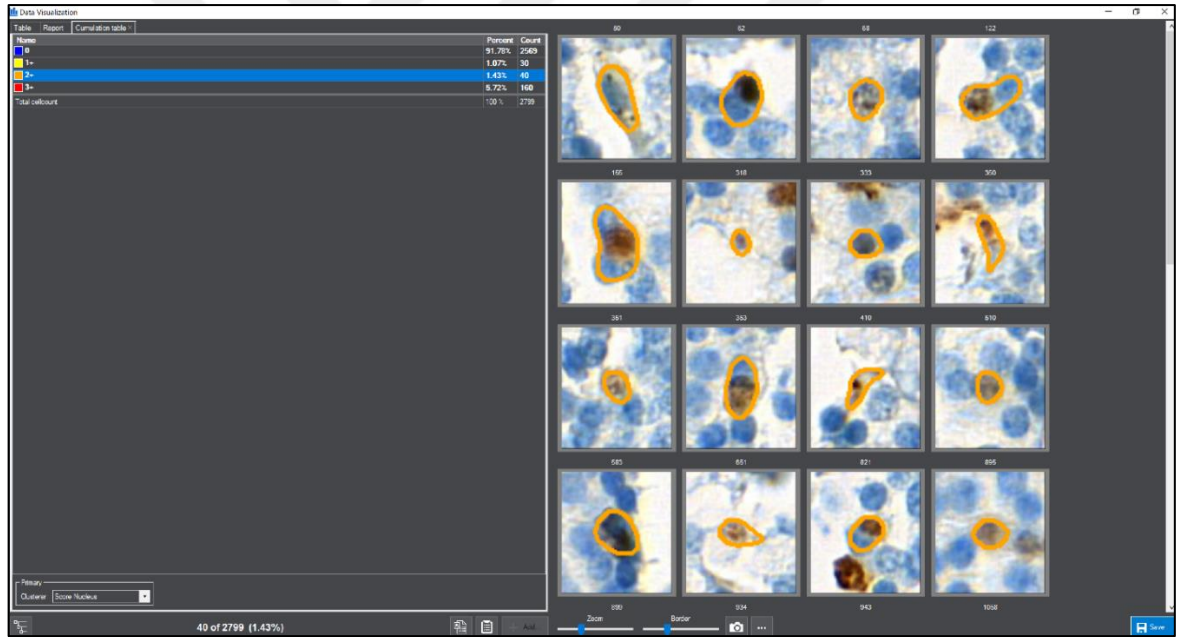
5.3.3. Dijital Olarak Otomatik Değerlendirme

Dijitalize edilmiş Ki67 boyalı kesitler üzerinde işaretlenen alanlar 3DHitech içerisinde yer alan “Quant Center” tarafından analiz edildi. Olgu başına değerdendirilen toplam tümör hücre sayısı dijital görüntüleme platformunda yer alan “Quant Center” kullanılarak milimetre kare cinsinden hesaplandı. Dijital görüntü analizi platformu olan “Quant Center” içerisinde bulunan “Cell Quant” ile patolog tarafından yapılan manuel sayımı içeren “hot spot” alanlar tekrar değerdendirmeye alındı. Bu analizler sırasında, hücre boyutunun ve immünohistokimya boyalarının yoğunluk düzeyi manuel olarak optimize ve standardize edildi. Boya yoğunluğu +1’den +3’e kadar “Quant Center” tarafından kategorize edildi. Program tarafından sayılan +1 ve +2’ye yanlış pozitiflikler sayımları (fibroblast, endotel hücresi ve inflamatuvar hücreler) patolog tarafından manuel olarak çıkartıldı. Bu sayımlar sonucunda her “hot spot” ve olguya ait toplam pozitif ve negatif hücre sayısını içeren tablo elde edildi. Sonuçlar benzer şekilde DSÖ 2019 Nöroendokrin Neoplazi sınıflaması kullanılarak 3 farklı gruba (<%3-grade 1, %3-20 arasında grade 2, >%20 ise grade 3) ayrıldı.

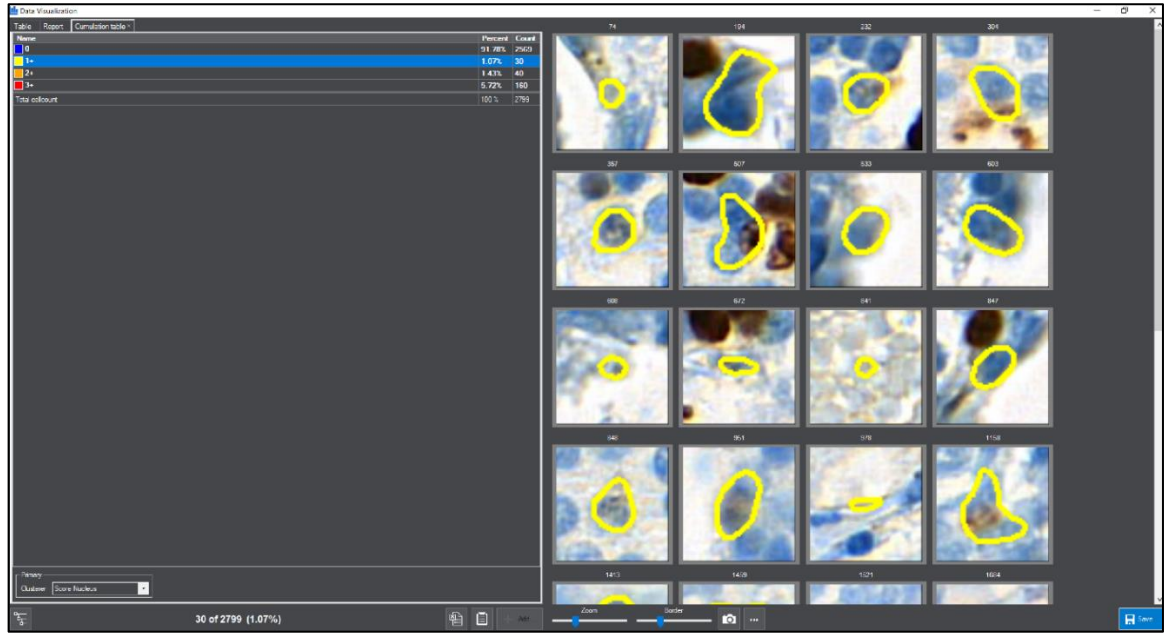
Daha sonra her üç yöntemle yapılan sayımların sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırıldı.



Resim 5.14. Dijital görüntüde “hot spot” alanında otomatik olarak işaretleme ve kantitatif analiz örneği.



Resim 5.15. Dijital otomatik değerlendirmede +2 pozitif olarak değerlendirilen Ki67 pozitif tümör hücresi.



Resim 5.16. Dijital otomatik değerlendirmede Ki67 +1 pozitif olarak değerlendirilen tümör hücresi.



3DHISTECH

CellQuant Measurement Report

Patient Data

Name: _____ Sex: Male
 Social Insurance Number: _____ Date of Birth: _____

Sample Data

Biopsy ID: _____ Sample ID: _____
 Patient Clinical Status: _____ Onset Date: _____
 Sender Doctor's Name: _____ Sender Institute: _____
 Clinical History: _____

Measurement Data

Institute: _____ Examiner: _____
 Slide Name: slide-2023-08-28T16-47-02-R1-S4 Test Date: 9/20/2023 10:52:09 AM
 Test Region / Annotation Name: Annotation 1; Annotation 2

Results

Name	Percent	Value
0	91.83%	2045
3+	8.17%	182
Total cellcount	100 %	2227

Resim 5.17. Dijital görüntüde otomatik değerlendirmenin sonuç örneği.

5.4. İstatistiksel Değerlendirme

Ki67 proliferasyon indeksleri standart yöntemle hesaplandı: pozitif tümör çekirdekleri/toplam tümör çekirdekleri. Her karşılaştırma için Pearson korelasyon katsayısı (r) hesaplandı. Metodolojik gruplar arasındaki uyum ICC (Single measures) ölçümleriyle değerlendirildi.

Tüm istatistiksel analiz ve hesaplamalar için SPSS Win. Ver 20.0 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler, kategorik değişkenler için sayı ve yüzdelere, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum olarak değerler kullanıldı. Veriler için gruplar arasındaki karşılaştırmalar “Chi Square”, Kappa, McNemar-Bowker testler kullanılarak yapıldı. İstatistiksel olarak saptanan 0.05’in altındaki *p* değerleri anlamlı kabul edildi.

Sağkalım analizleri için Kaplan-Meier yöntemi kullanıldı.

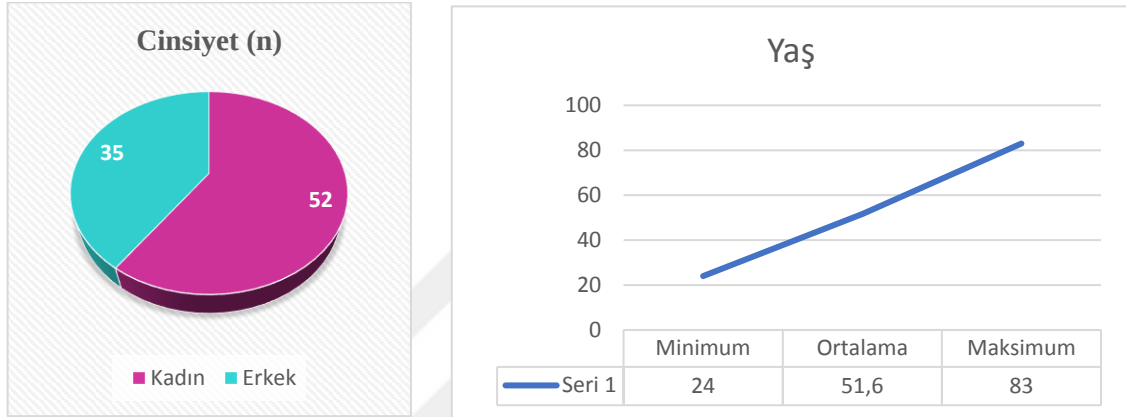
DESTEK-TEŞEKKÜR: Bu çalışmada mikroskopik değerlendirme aşaması **Ankara Üniversitesi BAP tarafından desteklenen altyapı projesi (14A0230003)** ile elde edilen dijital patoloji sistemi ile gerçekleştirilmiş.



6. BULGULAR

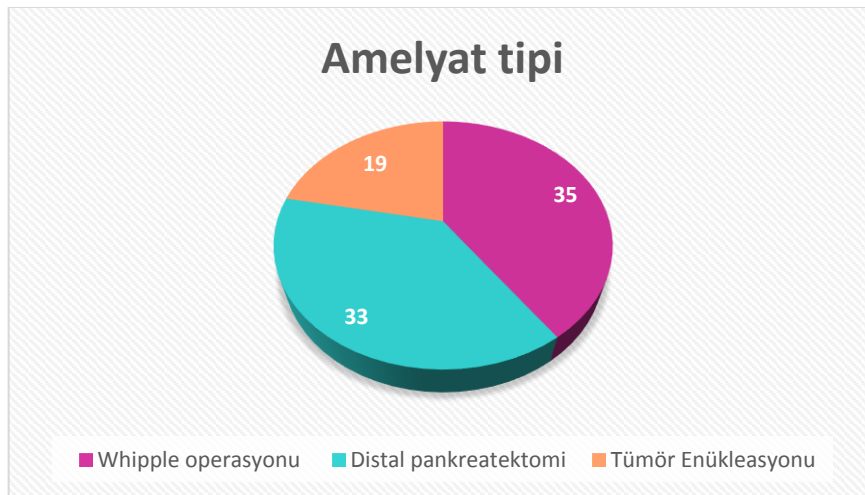
6.1. Vaka Profili

Çalışmaya 87 PNEN olgusu dahil edildi. Olguların 52'si (%59,8) kadın, 35'i (%40,2) erkekti. Tüm vakaların tanı anındaki ortalama yaşı 51,60 olarak bulundu. Yaş aralığı 24-83 yaş arasında değişmekteydi (Şekil 6.1.).



Şekil 6.1. PNEN olgularının cinsiyet ve yaş dağılımı.

Hastaların 35'ine (%40,2) whipple operasyonu, 33'üne (%37,9) distal pankreatektomi+splenektomi, ve 19'una (%21,8) tümör enükleasyonu uygulandığı tespit edildi (Şekil 6.2.).



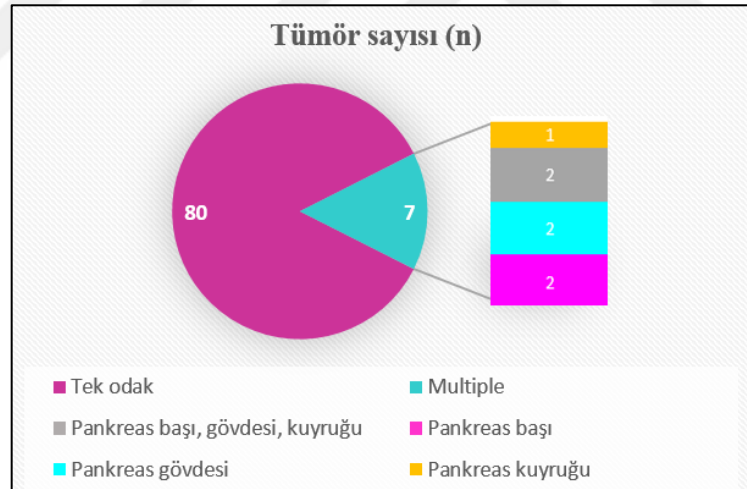
Şekil 6.2. PNEN olgularının geçirilmiş ameliyat tiplerine göre dağılımı.

45 hastanın (%52,9) pankreas başında (boyun ve/veya proçes uncinatus), 24 hastanın (%27,6) pankreas gövdesinde ve 17 hastanın (%19,5) pankreas kuyruğunda tümör saptandı (Şekil 6.3.).



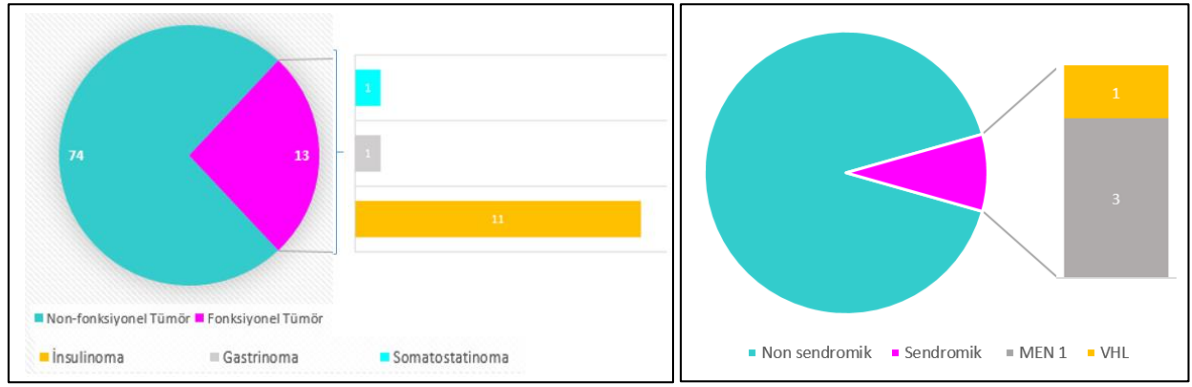
Şekil 6.3. Tümörlerin anatomik lokalizasyona göre dağılımı.

80 (% 92) olguda tek tümör izlenirken, 7 olguda (%8) birden fazla tümör saptandı. Birden fazla tümör bulunan 2 olguda (%2,3) tümörler pankreas başında, gövdesinde ve kuyruğunda izlendi. Multiple lezyonların olduğu diğer olgulardan 2'sinde, tüm tümörler pankreasın başında yerleşim göstermekteydi. İki olguda pankreas gövdesinde çok sayıda tümör izlenirken bir olguda sadece pankreasın kuyruğunda çok sayıda tümör saptandı (Şekil 6.4.).



Şekil 6.4. Tümör sayısına göre dağılım.

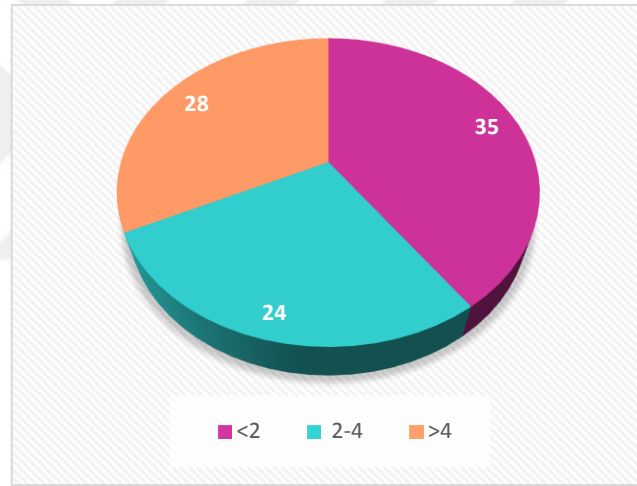
Tümörlerin fonksiyon göstermesi açısından bakıldığında; 13'ünün (%15) fonksiyonel olduğu, bunlardan 4 (%4,59) hastanın sendromik olduğu tespit edildi. Fonksiyonel tümörü olan olgulardan biri gastrinoma (%6,66), biri somatostatinoma (%6,66) olup diğer 11 olgu ise (%73) insülinomaydı. Sendromik hastalardan 3'ünde (%80) MEN 1 sendrom ve birinde VHL geninde mutasyon saptandı (Şekil 6.5.).



Şekil 6.5. Fonksiyonel ve Sendromik tümörlerin dağılımı

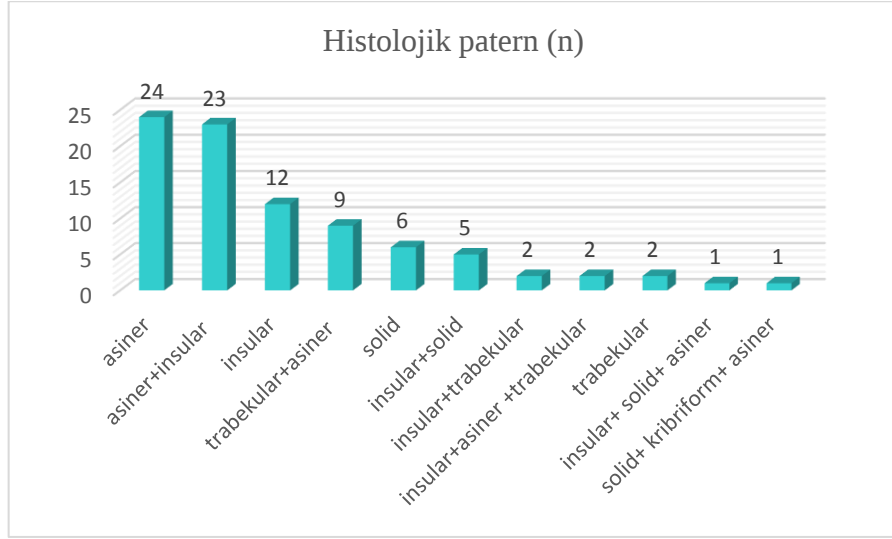
Tümör boyutu ortalama 3,34cm (minimum 0,6 cm-maksimum 13cm) olarak bulundu.

Tümör çapı <2 cm olan hasta sayısı 35 (%40,2), tümör çapı 2-4 cm arasında olan hasta sayısı 24 (%27,6), tümör çapı >4 cm olan hasta sayısı 28 (%32,2) olarak saptandı (**Şekil 6.6.**).



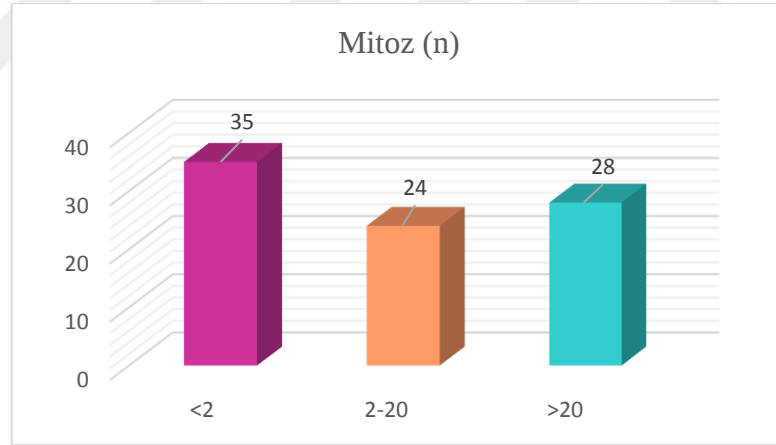
Şekil 6.6. Tümör boyutuna göre dağılım.

Histolojik özellikler ele alındığında 24 (%27,6) hastada asiner patern, 12 (%13,8) hastada insular patern, 6 (%6,9) hastada solid patern, 23 (%26,4) hastada hem asiner hem insular patern, 9 (%10,3) hastada hem trabekular hem asiner patern, 5 (%5,7) hastada insular ve solid patern, 1 (%1,1) hastada üç farklı patern (solid+ kribriiform+ asiner), 2 (%2,3) hastada insular ve trabekular patern, 2 (%2,3) hastada insular, asiner ve trabekular patern, 2 (%2,3) hastada sadece trabekular patern ve birinde (%1,1) insular+ solid+ asiner-üç farklı patern saptandı (**Şekil 6.7.**).



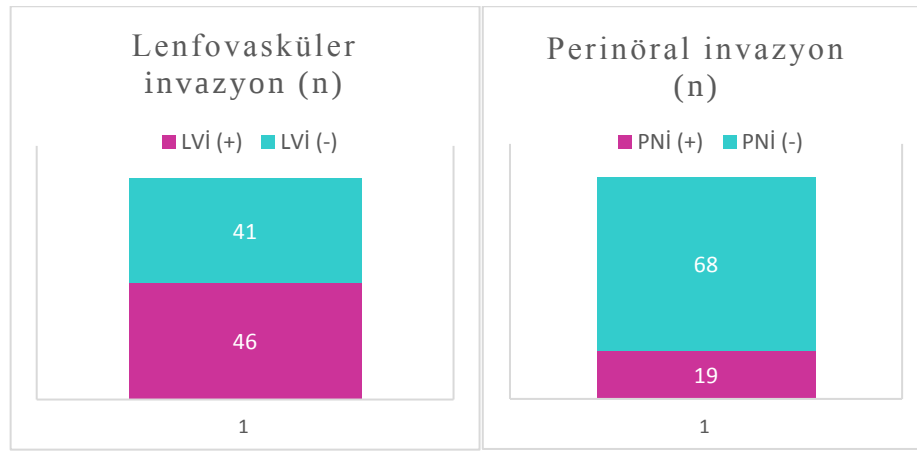
Şekil 6.7. Histolojik paternlere göre dağılım.

Mitoz sayısına bakıldığında ise; tüm olgular ele alındığında tümörlerde ortalama 5 mitoz (minimum 0-maksimum 61) olduğu tespit edildi. 48 (%55,2) tümörde mitoz sayısı <2, 28 (%32,2) tümörde 2-20 arasında ve 11 (%12,6) tümörde ise mitoz >20 olarak hesaplandı (**Şekil 6.8.**).



Şekil 6.8. Mitoz sayısına göre dağılım.

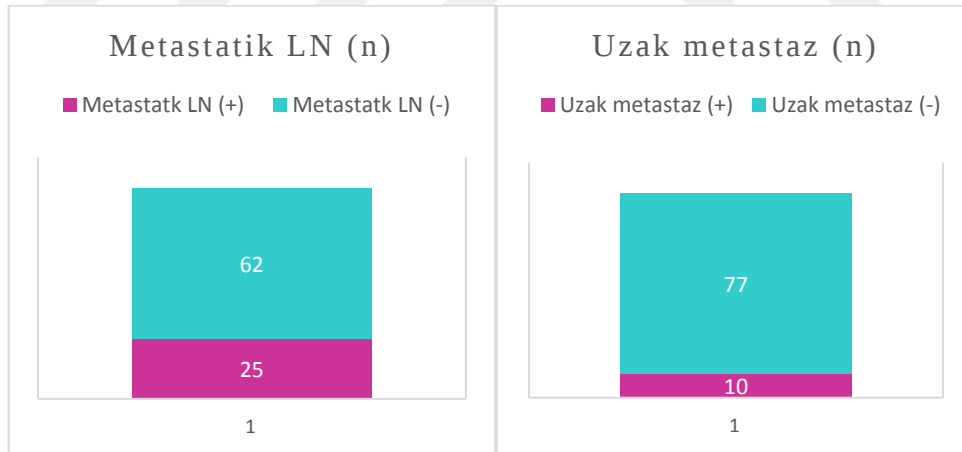
Lenfovasküler invazyon 46 (%52,9) hastada saptandı, 41 (%47,1) hastada izlenmedi. Hastalar perinöral invazyon açısından değerlendirildiğinde 19 (%21,8) hastada perinöral invazyon izlerken 68 (%78,2) hastada invazyon görülmedi (**Şekil 6.9.**).



Şekil 6.9. Lenfovasküler ve perinöral invazyona göre dağılımı.

Metastatik lenf nodülü varlığı değerlendirildiğinde 25 (%28,7) olguda lenf nodüllerinde metastaz olduğu, 62 (%71,3) olguda ise lenf nodüllerinde tümör bulunmadığı görüldü (**Şekil 6.10.**).

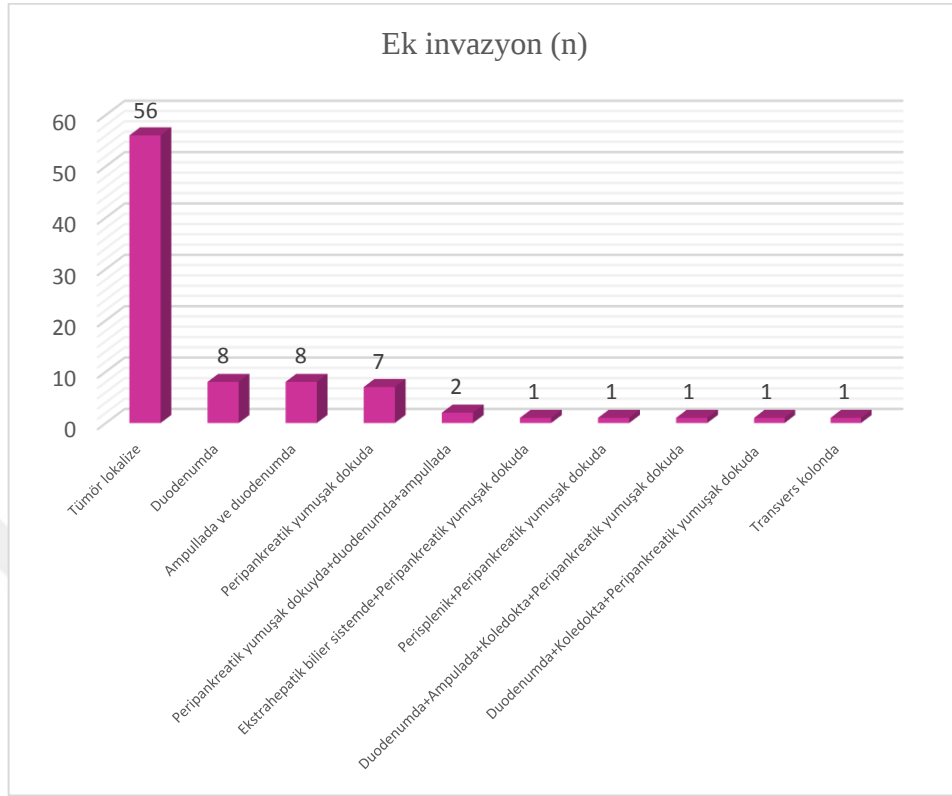
Uzak metastaz açısından bakıldığında 10 (%11,4) olguda uzak metastaz saptandı. Bunlarda, 9 (%10,3) olguda karaciğerde ve bir olguda ise (%1,1) kemik metastazı tespit edildi. 77 (%88,5) olguda metastaz saptanmadı (**Şekil 6.10.**).



Şekil 6.10. Olguların metastatik lenf nodülü ve uzak metastaz varlığına göre dağılımı.

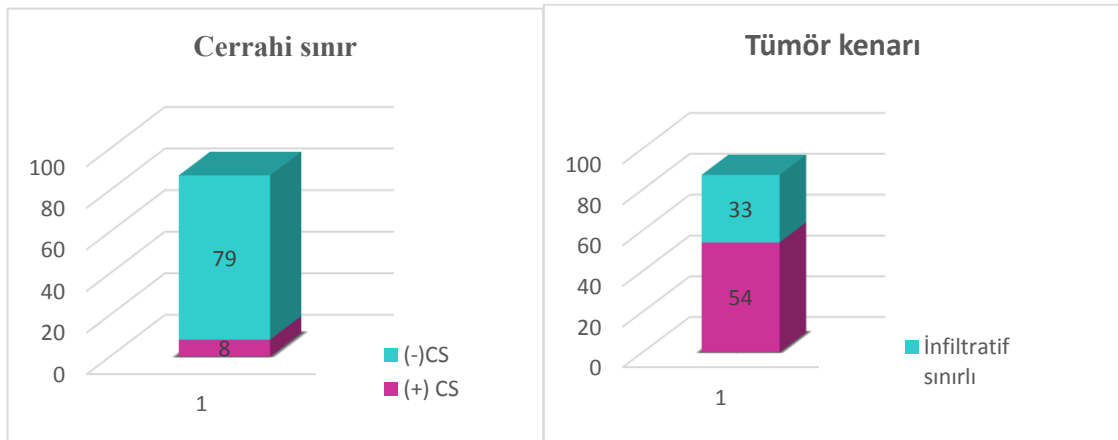
Tümörün invazyon özellikleri incelendiğinde; 56 (%64,4) hastada tümör sadece pankreasta saptandı. 7 (%8) hastada peripankreatik yumuşak dokuya, 8 (%9,2) hastada duodenuma, 8 (%9,2) hastada ampullaya ve duodenuma, iki hastada (%2,3) peripankreatik yumuşak dokuya, duodenuma ve ampullaya, bir hastada (%1,1) ekstrahepatik biliyer sisteme ve peripankreatik yumuşak dokuya, bir hastada (%1,1) hem perisplenik hem peripankreatik yumuşak dokuya, bir hastada (%1,1) duodenuma, ampulaya, koledoga ve peripankreatik

yumuşak dokuya, bir hastada (%1,1) duodenuma, koledoka ve peripankreatik yumuşak dokuya ve bir hastada (%1,1) kolona (transvers) invazyon izlendi (**Şekil 6.11.**).



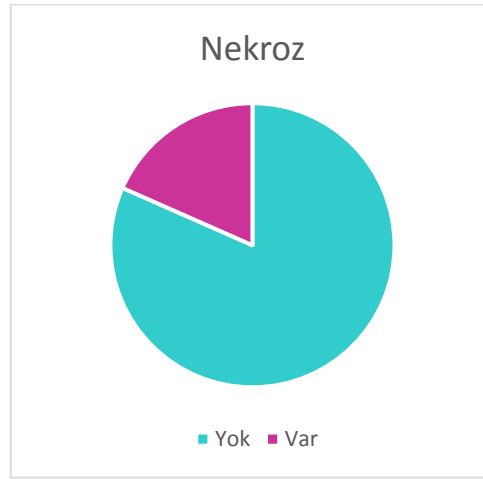
Şekil 6.11. Pankreas dışında invazyon durumuna göre dağılımı.

Cerrahi sınırlar değerlendirildiğinde 8 hastada (%9,2) cerrahi sınırda tümör izlendi. Diğer 79 hastada (%90,8) cerrahi sınırlarında tümör saptanmadı. Tümör sınırlaması değerlendirildiğinde 54 (%62,1) olguda tümör kenarlarının iyi sınırlama gösterdiği, 33 (%37,9) olguda ise tümör kenarlarının infiltratif büyüme patterni gösterdiği tespit edildi (**Şekil 6.12.**).



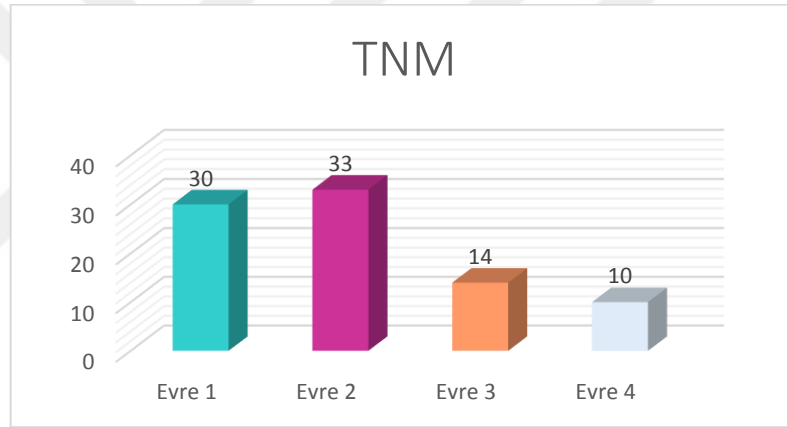
Şekil 6.12. Cerrahi sınır pozitifliği ve tümör sınırlarının dağılımı.

Nekroz 71 (%81,6) hastada negatif iken, 16 (%18,4) hastada pozitif bulundu (**Şekil 6.13.**).



Şekil 6.13. Nekroz varlığına göre dağılım.

TNM evresine göre olguların 30'u (%34,5) evre I, 33'ü (%37,9) evre II, 14'ü (%16,1) evre III ve 10'u (%11,5) evre IV'tü (**Şekil 6.14.**).



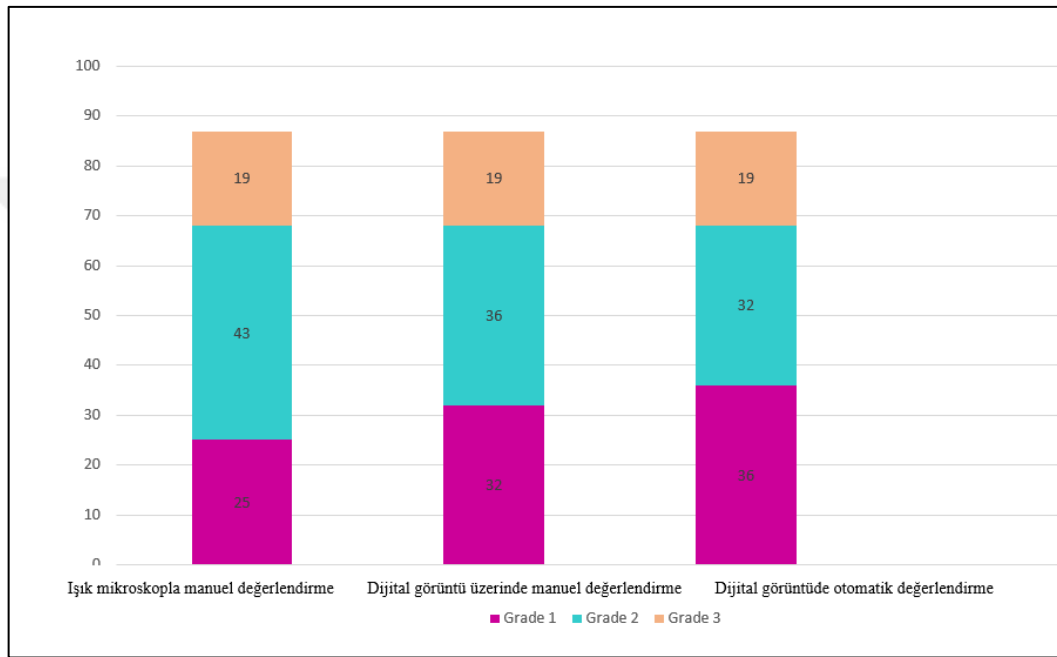
Şekil 6.14. PNEN olgularının TNM evresine göre dağılım.

6.2. Ki67 Proliferasyon İndeks Değerlendirme Sonuçları

Işık mikroskopla manuel Ki67 sayma yöntemi ile 25 G1 PNET olgusu, 43 G2 PNET olgusu ve 19 G3 PNET ve PNEK olgusu tanımlandı. Dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirmede, 32 olgu G1 PNET, 36 olgu G2 PNET ve 19 olgu G3 PNET ve PNEK olarak değerlendirildi. Dijital görüntüde otomatik değerlendirmede, 23 olgu G1 PNET, 32 olgu G2 PNET ve 19 olgu G3 PNET ve PNEK olarak değerlendirildi (**Tablo 6.1.**).

Tablo 6.1. Değerlendirilen vakaların DSÖ kriterlerine göre (Ki67 <%3, NET grade 1; %3–20, NET grade 2; >%20, NET grade 3) tablosu.

	Işık mikroskopla manuel değerlendirme (n)	Dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme (n)	Dijital görüntüde otomatik değerlendirme (n)
G1	25	32	36
G2	43	36	32
G3	19	19	19



Şekil 6.15. Değerlendirilen vakaların DSÖ kriterlerine göre (Ki67 <%3, NET grade 1; %3–20, NET grade 2; >%20, NET grade 3) dağılımı.

6.3. Ki67 Proliferasyon İndeksinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Yöntemlerin Korelasyon Analizi

Çalışmamızda her olgu için ışık mikroskopla manuel değerlendirme, dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme ve dijital görüntüde otomatik değerlendirme olmak üzere üç farklı yöntemle elde edilen Ki67 proliferasyon indeksi sonuçları arasındaki uyum değerlendirildi.

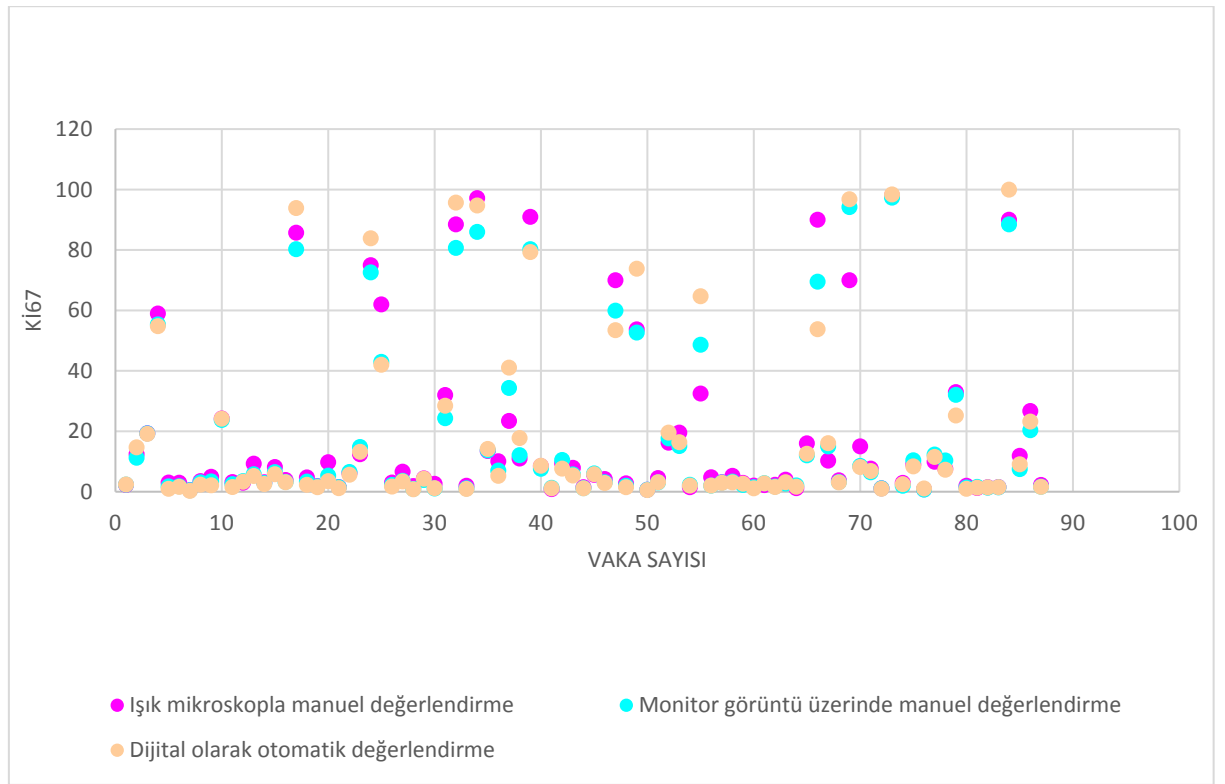
İstatistiksel olarak sınıf içi korelasyon katsayısı (Intraclass Correlation Coefficient-ICC) 0,964 ile 0,983 (ortalama 0,975) arasında değişmekteydi. Ki67 proliferasyon indeksini hesaplamaya yönelik üç yöntemin arasında yüksek düzeyde bir korelasyon olduğu görüldü.

Sonuçta her üç yöntemin kullanıldığı Ki67 ölçümlerinin birbirleriyle mükemmel uyum gösterdiği saptandı.

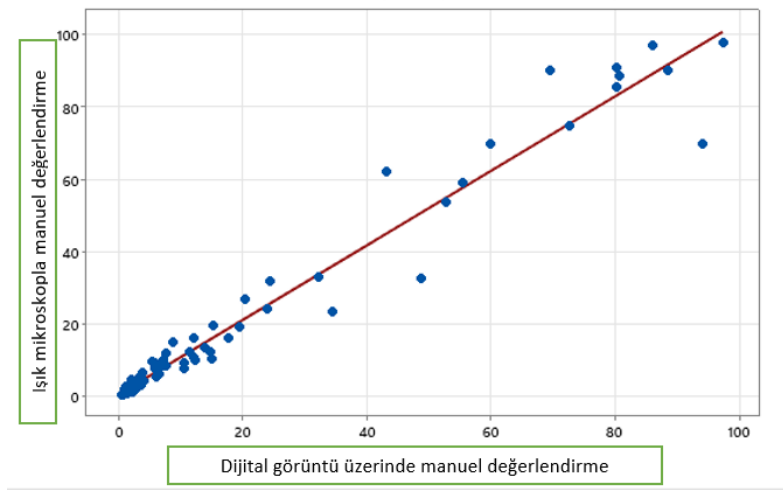
Tablo 6.2. Sınıf İçi Korelasyon tablosu.

Sınıf İçi Korelasyon (Intraclass Correlation Coefficient-ICC)

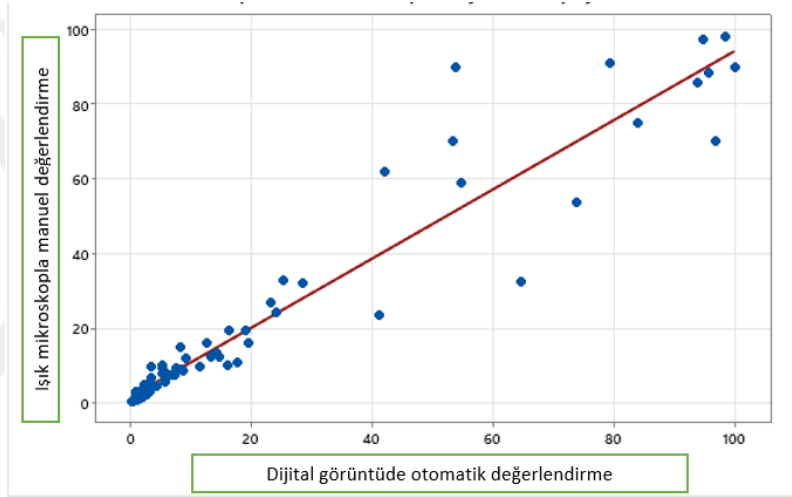
	Sınıf İçi Korelasyon	%95 Güven Aralığı		Gerçek Değeri 0 olan F Testi	
		Alt sınır	Üst sınır	Değer	df1
Tek ölçülü ICC	,975 ^a	,964	,983	117,174	86



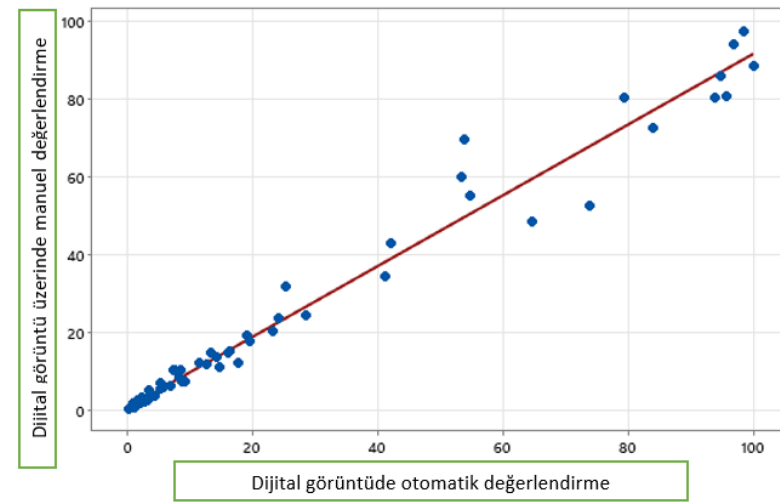
Şekil 6.16. Üç farklı yöntemle yapılan değerlendirme sonucunda elde edilen Ki67 indeks sonuçlarının korelasyonu.



Şekil 6.17. Işık mikroskopta manuel değerlendirme ile dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme arasındaki korelasyon.



Şekil 6.18. Dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme ile dijital görüntüde otomatik değerlendirme arasındaki korelasyon.

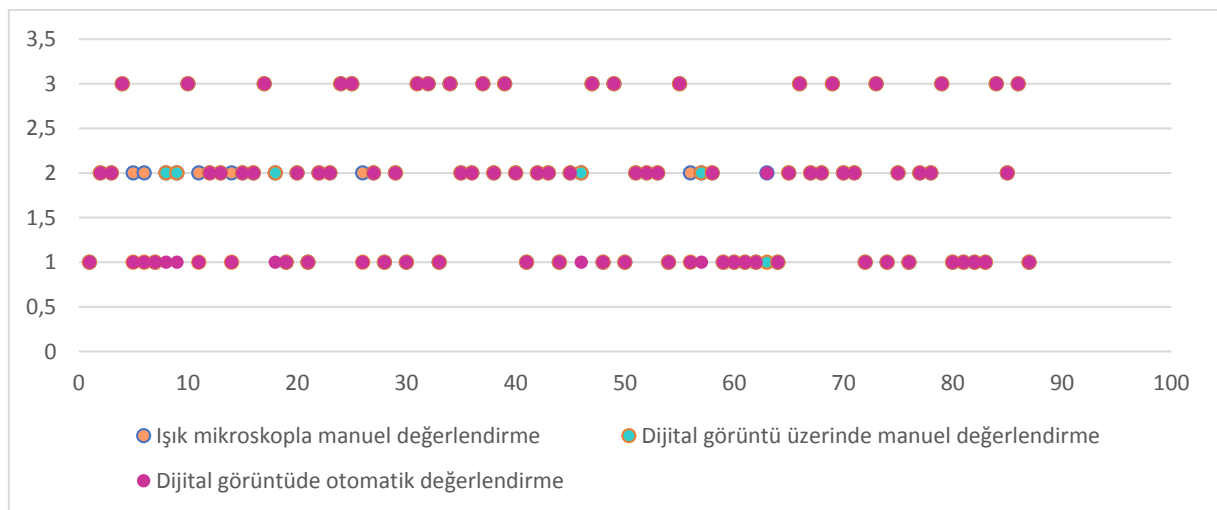


Şekil 6.19. Işık mikroskopta manuel değerlendirme ile dijital görüntüde otomatik değerlendirme arasındaki korelasyon.

6.4. Ki67 Sonuçları ile Tümör Derecesinin Belirlenmesi

Nöroendokrin tümör grade 3 tanısında her üç yöntem arasında tam uyum izlendi. Işık mikroskopla manuel değerlendirme kullanılarak yapılan Ki67 proliferasyon indeksi hesaplamasında diğer yöntemlerine göre NET grade 2 tümör tanısının daha sık verildiği görüldü. Dijital görüntü üzerinde yapılan manuel değerlendirmede ise, NET grade 2 tümör tanısı ışık mikroskopla manuel değerlendirmeye göre daha az verilmesine rağmen, dijital görüntüde otomatik değerlendirmeye göre daha fazla tümör grade 2 tanısı aldı. Dijital görüntüde otomatik değerlendirme ile grade 2 NET tanısının diğer iki yönteme göre daha az olarak verildiği saptandı. Buna ek olarak, dijital görüntüde otomatik değerlendirme kullanılarak proliferatif indeks hesaplanırken daha fazla sayıda NET grade 1 tümör tanısı verildiği tespit edildi.

Buna göre; dijital görüntüde otomatik değerlendirmeyle PNET grade 1 tümör olarak belirlenen 36 olgudan 11'i ışık mikroskopla manuel değerlendirme yöntemiyle PNET grade 2 tümör olarak tanı aldı. Dijital görüntü üzerinde otomatik değerlendirme ile dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme arasındaki PNET grade 1 tümör kategorisi hesaplamalara bakıldığında; dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme yöntemiyle 32 olgudan sadece 1 olgu, dijital görüntüde otomatik değerlendirme ile PNET grade 2 olarak tanımlandı. Işık mikroskopla manuel değerlendirmede 43 olgu grade 2 PNET olarak tanı alırken; dijital görüntüde otomatik değerlendirmeyle, bahsi geçen bu 43 olgunun 11'i grade 1 NET olarak değerlendirildi. Aynı olguların dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirmesi yapıldığında ise 43 olgudan 7'sinin grade 1 NET tanısı aldığı saptandı.



Şekil 6.20. Değerlendirilen vakaların DSÖ kriterlerine göre (Ki67 <%3, NET grade 1; %3–20, NET grade 2; >%20, NET grade 3) dağılımı.

Sonuç olarak, dijital görüntüde otomatik değerlendirme ve dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme yöntemleri kullanıldığında, tümör derecesinin daha düşük tespit edildiği; ışık mikroskopla manuel hesaplama yöntemiyle ise tümör derecesinin daha yüksek belirlendiği görüldü. Ancak bu tespit yalnızca grade 1 ve grade 2 için geçerli olurken, grade 2 ve 3 arasında herhangi bir uyumsuzluk görülmedi (**Tablo 6.3, 6.4, 6.5**).

Tablo 6.3. Işık mikroskopla manuel değerlendirme ve dijital görüntüde otomatik değerlendirme ile elde edilen Ki67 proliferasyon indeks sonuçlarına göre tümör derecelendirmesinin karşılaştırması.

		Tümör derecesi (Dijital görüntüde otomatik değerlendirme)			Toplam (n)
		G1	G2	G3	
Tümör derecesi (ışık mikroskopla manuel değerlendirme)	G1	25	0	0	25
	G2	11	32	0	43
	G3	0	0	19	19
Toplam (n)		36	32	19	87

Tablo 6.4. Dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme ve dijital görüntüde otomatik değerlendirme ile elde edilen Ki67 proliferasyon indeks sonuçlarına göre tümör derecelendirmesinin karşılaştırması.

		Tümör derecesi (Dijital görüntüde otomatik değerlendirme)			Toplam (n)
		G1	G2	G3	
Tümör derecesi (Dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme)	G1	31	1	0	32
	G2	5	31	0	36
	G3	0	0	19	19
Toplam (n)		36	32	19	87

Tablo 6.5. Işık mikroskopla manuel değerlendirme ve dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme ile elde edilen Ki67 proliferasyon indeks sonuçlarına göre tümör derecelendirme sonuçlarının karşılaştırması.

		Tümör derecesi (Dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme)			Toplam (n)
		G1	G2	G3	
Tümör derecesi (ışık mikroskopla manuel değerlendirme)	G1	25	0	0	25
	G2	7	36	0	43
	G3	0	0	19	19
Toplam (n)		32	36	19	87

Çalışmamızda kullanılan Ki67 proliferatif indeksi hesaplama yöntemlerinin sonuçlarının birbiri ile istatistiksel olarak anlamlı olarak uyumlu olduğu tespit edildi. Işık mikroskobu ile manuel değerlendirme ve dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme, ışık mikroskobu ile manuel değerlendirme ve dijital görüntüde otomatik sayım ve dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme ve dijital görüntüde otomatik sayım arasındaki uyumun p değeri **<0,0001** olarak hesaplandı.

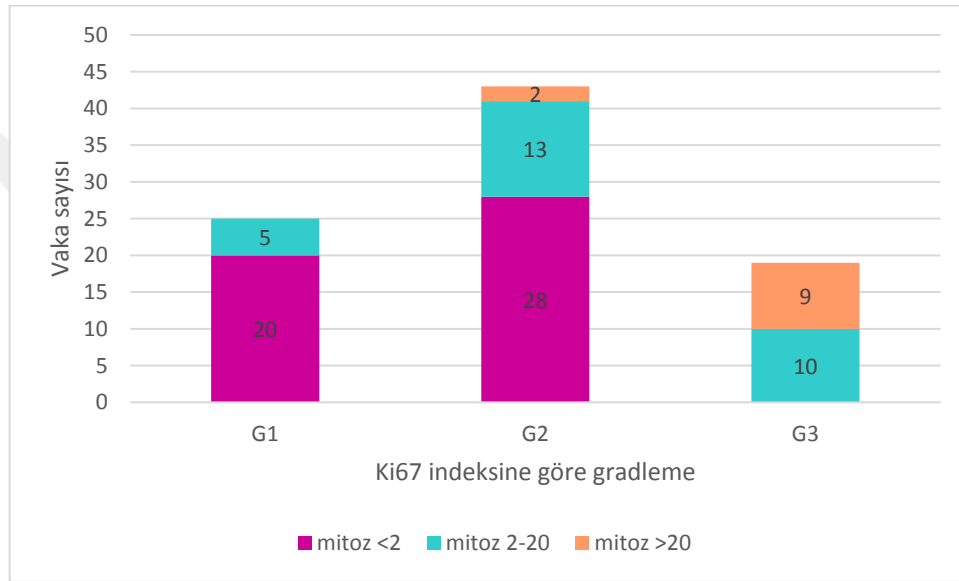
Bireysel kategoriler üzerindeki uyuma bakıldığında, proliferatif aktiviteyi belirlemek için PNEN'in üç farklı yöntem ve 3 farklı derecelendirme karşılaştırıldığında, G1 NET kategorisi için kappa değeri 0,80, G2 NET kategorisi için kappa değeri 0,812 ve G3 NET ve NEK kategorisi kappa değeri 1,000 olarak bulundu. Uyumun **p değeri <0,0001** olarak belirlendi.

6.5. Tümör Derecesinin Değerlendirilmesinde Mitoz Sayısının ve Ki67 Proliferasyon İndeksinin İlişkisi

Mitoz sayısına ilişkin elde edilen sonuçlar ile ışık mikroskobunda değerlendirilen Ki67 proliferatif indeks sonuçları karşılaştırıldığında mitoz sayısı ile Ki67 arasında yüksek bir korelasyon bulunduğu saptandı (**p<0,0001**).

Tablo 6.6. Mitoz sayısı ve Ki67 proliferasyon indeksine göre tümör derecelendirmesinin karşılaştırması.

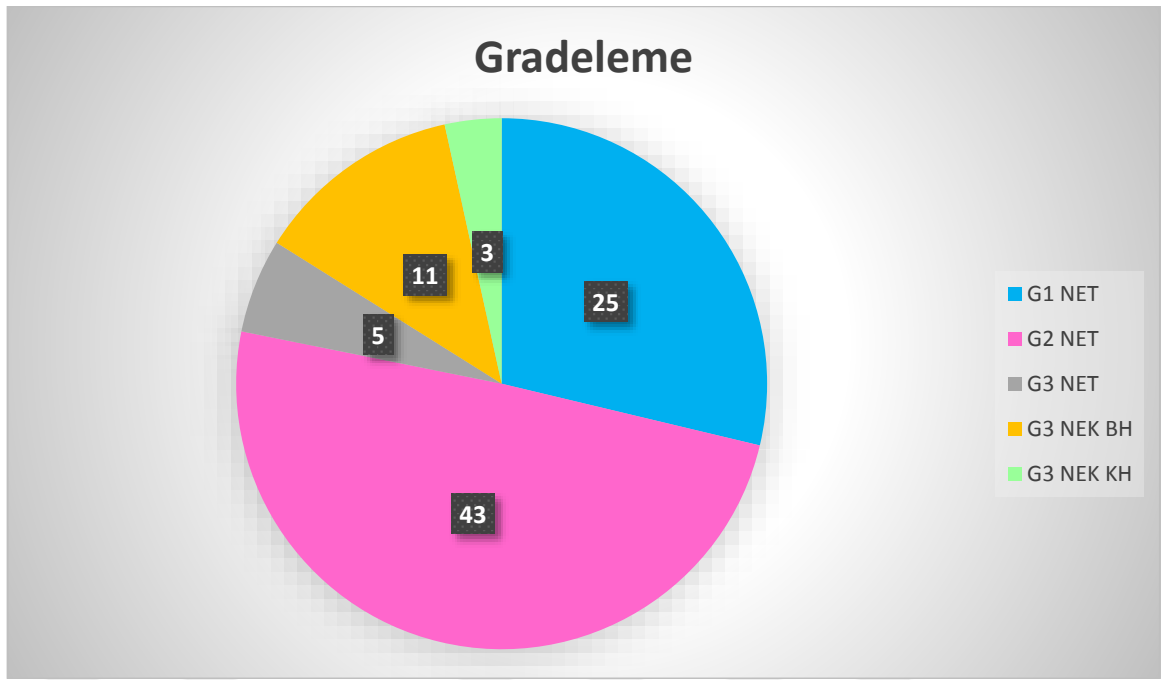
		Ki67 ile Tümör Derecesi			Toplam
		G1	G2	G3	
Mitoz ile Tümör Derecesi	G1	20	28	0	48
	G2	5	13	10	28
	G3	0	2	9	11
Toplam		25	43	19	87



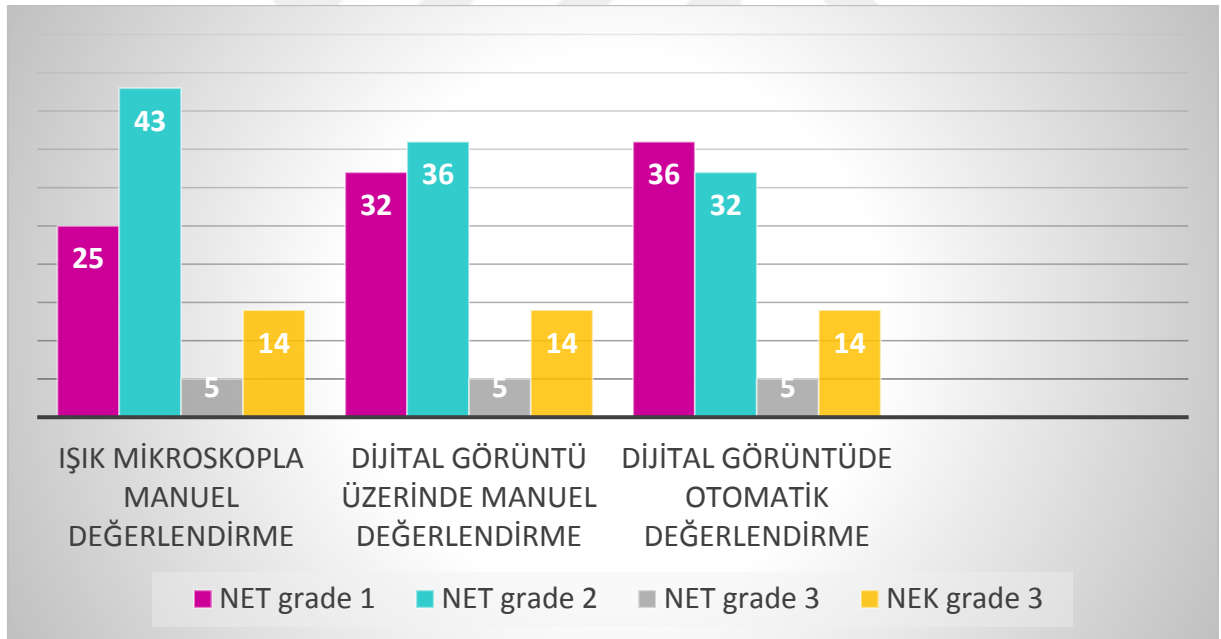
Şekil 6.21. Mitoz sayısı ve Ki67 proliferasyon indeksine göre tümör derecelerinin karşılaştırması.

6.6. PNET ve PNEK'nin Elde Edilen Klinik ve Morfolojik Verilerle Karşılaştırmalı Özellikleri

Olgularımızı üç farklı hesaplama yöntemiyle elde edilen Ki67 proliferatif indeksine göre NET grade 1, 2, 3 ve NEK olmak üzere 4 gruba ayırdık (Şekil 6.22, 6.23).



Şekil 6.22. PNEN'lerin DSÖ sınıflandırmasına göre tanımlanan morfolojik özelliklere göre dağılımı.



Şekil 6.23. Ki67 proliferatif indeksine göre dağılıma bağlı olarak NET grade 1, 2, 3 ve NEK olmak üzere 4 gruba ait dağılım.

Tablo 6.7. Proliferatif indeksi hesaplamak için üç yöntemle belirlenen derecelere göre pankreasın nöroendokrin neoplazmlarının klinikopatolojik özellikleri (Ki67 <%3- NET G1; Ki67 %3-%20- NET G2; Ki67 >%20-NET G3, Ki67>%20-NEK G3).

	NET G1			NET G2			NET G3			NEK G3			p		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Cinsiyet:															
Kadın	19 (76,0)	23 (71,9)	27 (75,0)	27 (62,8)	23 (63,9)	19 (59,4)	2 (40,0)	2 (40,0)	2 (40,0)	4 (28,6)	4 (28,6)	4 (28,6)	0,025	0,034	0,019
Erkek	6 (24,0)	9 (28,1)	9 (25,0)	16 (37,2)	13 (36,1)	13 (40,6)	3 (60,0)	3 (60,0)	3 (60,0)	10 (71,4)	10 (71,4)	10 (71,4)			
Yaş:															
<30	0 (0)	0 (0)	1 (2,8)	4 (9,3)	4 (11,1)	3 (9,4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (7,1)	1 (7,1)	1 (7,1)	0,107	0,363	0,664
30-60	12 (48,0)	19 (59,4)	21 (58,3)	31 (72,1)	24 (66,7)	22 (68,8)	4 (80,0)	4 (80,0)	4 (80,0)	8 (57,1)	8 (57,1)	8 (57,1)			
>60	13 (52,0)	13 (40,6)	14 (38,9)	8 (18,6)	8 (22,2)	7 (21,9)	1 (20,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	5 (35,7)	5 (35,7)	5 (35,7)			
Sendrom:															
Var	1 (4,0)	1 (3,1)	2 (5,6)	3 (7,0)	3 (8,3)	2 (6,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,684	0,528	0,755
Yok	24 (96,4)	31 (96,9)	34 (94,4)	40 (93,0)	33 (91,7)	30 (93,8)	5 (100)	5 (100)	5 (100)	14 (100,0)	14 (100,0)	14 (100,0)			
F-NET/NFNET:															
NF-NET	20 (80,0)	27 (84,4)	29 (80,6)	35 (81,4)	28 (77,8)	26 (81,3)	5 (100)	5 (100)	5 (100)	14 (100,0)	14 (100,0)	14 (100,0)	0,614	0,577	0,651
İnsulinoma	4 (16,0)	4 (12,5)	6 (16,7)	7 (16,3)	7 (19,4)	5 (15,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)			
Gastrinoma	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(2,3)	1(2,8)	1(3,1)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)			
Somatostatinoma	1(4,0)	1(3,1)	1(2,8)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)			
Lokalizasyon:															
Baş	11 (44,0)	17 (53,1)	18 (50,0)	20 (46,5)	14 (38,9)	13 (40,6)	4 (80,0)	4 (80,0)	4 (80,0)	9 (64,3)	9 (64,3)	9 (64,3)	0,553	0,441	0,527
Gövde	8 (32,0)	9 (28,1)	11 (30,6)	15 (34,9)	14 (38,9)	12 (7,5)	0 (0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1 (7,1)	1 (7,1)	1 (7,1)			
Kuyruk	5 (20,0)	5 (15,6)	6 (16,7)	7 (16,3)	7 (19,4)	6 (18,8)	1 (20,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	4 (28,6)	4 (28,6)	4 (28,6)			
Multiple	1(4,0)	1(3,1)	1(2,8)	1(2,3)	1(2,8)	1(3,1)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)			
Amelyat:															
Enukleasyon:	8 (32,0)	9 (28,1)	10 (27,8)	11 (25,6)	10 (27,8)	9 (28,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,080	0,021	0,052
Distal.Pankreatektomi	9 (36,0)	9 (28,1)	12 (33,3)	18 (41,9)	18 (50,0)	15 (46,9)	1 (20,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	5 (35,7)	5 (35,7)	5 (35,7)			
Whipple	8 (32,0)	14 (43,8)	14 (38,9)	14 (32,6)	8 (22,2)	8 (25,0)	4 (80,0)	4 (80,0)	4 (80,0)	9 (64,3)	9 (64,3)	9 (64,3)			
Cerrhi Sınır:															
Negatif	24 (96,0)	31 (96,9)	34 (94,4)	39 (90,7)	32 (88,9)	29 (90,6)	4 (80,0)	4 (80,0)	4 (80,0)	12 (85,7)	12 (85,7)	12 (85,7)	0,584	0,440	0,636
Pozitif	1 (4,0)	1 (3,1)	2 (5,6)	4 (9,3)	4 (11,1)	3 (9,4)	1 (20,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	2 (14,3)	2 (14,3)	2 (14,3)			

Tablo 6.7. Proliferatif indeksi hesaplamak için üç yöntemle belirlenen derecelere göre pankreasın nöroendokrin neoplazmlarının klinikopatolojik özellikleri (Ki67 <%3- NET G1; Ki67 %3-%20- NET G2; Ki67 >%20-NET G3, Ki67>%20-NEK G3). (devam)

	NET G1			NET G2			NET G3			NEK G3			p		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Tümörün kenarı İyi sınırlı İnfiltratif	20 (80,0) 5 (20,0)	24 (75,0) 8 (25,0)	26 (72,2) 4 (80,0)	31 (72,1) 12 (27,9)	27 (75,0) 9 (25,0)	25 (78,1) 7 (21,9)	1 (20,0) 4 (80,0)	1 (20,0) 4 (80,0)	1 (20,0) 4 (80,0)	2 (14,3) 12 (85,7)	2 (14,3) 12 (85,7)	2 (14,3) 12 (85,7)	0,000	0,000	0,000
Boyut,cm <2 2-4 >10	11 (44,0) 6 (24,0) 28 (32,0)	14 (43,8) 8 (25,0) 10 (31,3)	15 (41,7) 11 (30,6) 10 (27,8)	20 (46,5) 11 (25,6) 10 (27,9)	17 (47,2) 9 (25,0) 10 (27,8)	16 (50,0) 6 (18,8) 10 (31,3)	0 (0,0) 3 (60,0) 2 (40,0)	0 (0,0) 3 (60,0) 2 (40,0)	0 (0,0) 3 (60,0) 2 (40,0)	4 (28,6) 4 (28,6) 6 (42,9)	4 (28,6) 4 (28,6) 6 (42,9)	4 (28,6) 4 (28,6) 6 (42,9)	0,432	0,433	0,320
TNM Evresi I II III IV	7 (28,0) 12 (48,0) 5 (20,0) 1 (4,0)	10 (31,3) 13 (40,6) 8 (25,0) 1 (3,1)	11 (30,6) 16 (44,4) 8 (22,2) 1 (2,8)	19 (44,2) 13 (30,2) 7 (16,3) 4 (9,3)	16 (44,4) 12 (33,3) 4 (11,1) 4 (11,1)	15 (46,9) 9 (28,1) 4 (12,5) 4 (12,5)	0 (0,0) 1 (20,0) 0 (0,0) 4 (80,0)	0 (0,0) 1 (20,0) 0 (0,0) 4 (80,0)	0 (0,0) 1 (20,0) 0 (0,0) 4 (80,0)	4 (28,6) 7 (50,0) 2 (14,3) 1 (7,1)	4 (28,6) 7 (50,0) 2 (14,3) 1 (7,1)	4 (28,6) 7 (50,0) 2 (14,3) 1 (7,1)	0,001	0,000	0,000
Histolojik pat: -asiner -insular -solid -asiner+insular -trabeküler+ asiner -insular+solid -soid +kribriform+asiner -insular+ trabeküler -insuler +asiner+ trabeküler -trabekular -ins+sol+ asin	9(36) 4(16) 1(4,0) 8(32) 3(12) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0)	12(37,5) 5(15,6) 2(6,3) 10(31,3) 3(9,4) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0)	15(41,7) 5(13,9) 2(5,6) 10(27,8) 4(11,1) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0)	15(34,9) 7(16,3) 1(2,3) 11(25,6) 6(14,0) 1(2,3) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 1(2,3) 1(2,8) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0)	12(33,3) 6(16,7) 0(0,0) 9(25,0) 6(16,7) 1(3,1) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 1(2,8) 1(3,1) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0)	9(28,1) 6(18,8) 0(0,0) 9(28,1) 5(15,6) 1(3,1) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 1(3,1) 1(3,1) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0)	0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 3(60) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 1(20) 1(20) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0)	0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 3(60,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 1(20,0) 1(20,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0)	0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 3(60,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0) 1(20,0) 1(20,0) 0(0,0) 0(0,0) 0(0,0)	0(0,0) 1(7,1) 4(28,6) 1(7,1) 0(0,0) 4(28,6) 1(7,1) 1(7,1) 0(0,0) 0(0,0) 1(7,1) 1(7,1) 1(7,1) 1(7,1) 1(7,1)	0(0,0) 1(7,1) 4(28,6) 1(7,1) 0(0,0) 4(28,6) 1(7,1) 1(7,1) 0(0,0) 0(0,0) 1(7,1) 1(7,1) 1(7,1) 1(7,1) 1(7,1)	0(0,0) 1(7,1) 4(28,6) 1(7,1) 0(0,0) 4(28,6) 1(7,1) 1(7,1) 0(0,0) 0(0,0) 1(7,1) 1(7,1) 1(7,1) 1(7,1) 1(7,1)	0,000	0,000	0,000
Nekroz: Yok Var	24(96) 1(4)	31(96,9) 1(3,1)	35(97,2) 1(2,8)	37(86) 6(14)	30(83,3) 6(16,7)	26(81,3) 6(18,8)	3(60,0) 2(40,0)	3(60,0) 2(40,0)	3(60,0) 2(40,0)	7(50,0) 7(50,0)	7(50,0) 7(50,0)	7(50,0) 7(50,0)	0,002	0,001	0,001
Mitoz: <2 2-10 >10	20(80) 5(20) 0(0,0)	26(81,3) 6(18,8) 0(0,0)	29(80,6) 7(19,4) 0(0,0)	28(65,1) 13(30,2) 2(4,7)	22(61,1) 12(33,3) 2(5,6)	19(59,4) 11(34,4) 0(0,0)	0(0,0) 5(100) 0(0,0)	0(0,0) 5(100) 0(0,0)	0(0,0) 5(100) 0(0,0)	0(0,0) 5(35,7) 9(64,3)	0(0,0) 5(35,7) 9(64,3)	0(0,0) 5(35,7) 9(64,3)	0,000	0,000	0,000

Tablo 6.7. Proliferatif indeksi hesaplamak için üç yöntemle belirlenen derecelere göre pankreasın nöroendokrin neoplazmlarının klinikopatolojik özellikleri (Ki67 <%3- NET G1; Ki67 %3-%20- NET G2; Ki67 >%20-NET G3, Ki67>%20-NEK G3). (devam)

	NET G1			NET G2			NET G3			NEK G3			p		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
İnvazyon durumu:															
-Tümör lokalize	20 (80,0)	25 (78,1)	28 (77,8)	34 (79,1)	29 (80,6)	26 (81,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (14,3)	2 (14,3)	2 (14,3)	0,000	0,000	0,000
-Peripankreatik YD ^a	1(4)	1(3,1)	1(2,8)	2(4,7)	2(5,6)	2(6,3)	1(20)	1(20,0)	1(20,0)	3(21,4)	3(21,4)	3(21,4)			
-Duodenum	1(4)	1(3,1)	2(5,6)	2(4,7)	2(5,6)	1(3,1)	2(40)	2(40,0)	2(40,0)	3(21,4)	3(21,4)	3(21,4)			
-Ampula ve Duodenum	2(8)	3(9,4)	3(8,3)	1(2,3)	1(2,8)	1(3,1)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	4(28,6)	4(28,6)	4(28,6)			
-Peripankreatik YD	0(0,0)	0(0,0)	1(2,8)	0(0,0)	1(2,8)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(7,1)	1(7,1)	1(7,1)			
+Duodenum+Ampula															
-Ekstrahepatik	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(7,1)	1(7,1)	1(7,1)			
biliyer+PeripankreatikYD															
-Peripankreatik ve	1(4)	1(3,1)	1(2,8)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)			
perisplenik YD															
-Duodenum, Ampula,	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(20)	1(20,0)	1(20,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)			
Koledok, Peripankreatik YD															
-Duodenum, Koledok,	0(0,0)	1(3,1)	0(0,0)	1(2,3)	0(0,0)	1(3,1)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)			
Peripankreatik YD															
-Kolon (transvers)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(2,3)	1(2,8)	1(3,1)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)			
-Duodenum, Koledok,															
Peripankreatik YD	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	1(20)	1(20,0)	1(20,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)			
PNİ:															
Pozitif	0(0,0)	2(6,3)	2(5,6)	11(25,6)	9(25,0)	9(28,1)	2(40)	2(40,0)	2(40,0)	6(42,9)	6(42,9)	6(42,9)	0,008	0,025	0,012
Negatif	25 (100)	30 (93,8)	34 (94,4)	32 (74,4)	27 (75,0)	23 (71,9)	3 (60,0)	3 (60,0)	3 (60,0)	8 (57,1)	8 (57,1)	8 (57,1)			
LVİ:															
Pozitif	7 (28,0)	11 (34,4)	12 (33,3)	21 (48,8)	17 (47,2)	16 (50,0)	5 (100)	5 (100,0)	5 (100,0)	13 (92,9)	13 (92,9)	13 (92,9)	0,000	0,000	0,000
Negatif	18 (72,0)	21 (65,6)	24 (66,7)	22 (51,2)	19 (52,8)	16 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (7,1)	1 (7,1)	1 (7,1)			
Met.LN:															
Yok	21 (84,0)	25 (78,1)	29 (80,6)	33 (76,7)	29 (80,6)	25 (78,1)	2 (40,0)	2 (40,0)	2 (40,0)	6 (42,9)	6 (42,9)	6 (42,9)	0,015	0,017	0,017
Var	4 (16,0)	7 (21,9)	7 (19,4)	10 (23,3)	7 (19,4)	7 (21,9)	3 (60)	3 (60,0)	3 (60,0)	8 (57,1)	8 (57,1)	8 (57,1)			
Uzak met. :															
Var	1(4,0)	1(3,1)	1(2,8)	4(9,3)	4(11,1)	4(12,5)	4(80,0)	4(80,0)	4(80,0)	1(7,1)	1(7,1)	1(7,1)	0,000	0,000	0,000
Yok	24 (96,0)	31 (96,9)	35 (97,2)	39 (90,7)	32 (88,9)	28 (87,5)	1 (20,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	13 (92,9)	13 (92,9)	13 (92,9)			

(A) Işık mikroskop altında manuel sayım. (B) Dijital görüntü üzerinde manuel sayım. (C) Otomatik sayım. (YD^a) -yumuşak doku.

Proliferatif indeksi hesaplamada kullanılan her üç yöntemin istatistiksel olarak benzer değerler gösterdiği tespit edildi. Karşılaştırmalı analizlerde olgularda cinsiyet ($p<0,05$), tümör sınırları ($p<0,0001$), TNM evresi ($p<0,001$), histolojik patern ($p<0,0001$), nekroz varlığı ($p<0,05$), mitoz sayısı ($p<0,0001$), ek invazyon varlığı ($p<0,0001$), PNI ($p<0,05$), LVI ($p<0,0001$), metastatik LN ($p<0,05$) ve uzak metastaz ($p<0,0001$) varlığı açısından istatistiksel farklılıklar olduğunu saptandı ($p<0,05$) (Tablo 6.7, 6.8).

Tablo 6.8. Morfolojik özellikler ile tümör derecesi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değerlerinin tablosu.

Parametreler	P değeri		
	Işık mikroskopla manuel değerlendirmeye göre	Dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirmeye göre	Dijital görüntüde otomatik değerlendirmeye göre
Cinsiyet	0,025	0,034	0,019
Tümör sınırları	0,0001	0,0001	0,0001
TNM evresi	0,001	0,001	0,001
Histolojik patern	0,0001	0,0001	0,0001
Nekroz	0,002	0,001	0,001
Mitoz	0,0001	0,0001	0,0001
Ek invazyon	0,0001	0,0001	0,0001
PNI	0,008	0,025	0,012
LVI	0,0001	0,0001	0,0001
Metastatik LN	0,015	0,017	0,017
Uzak metastaz	0,0001	0,0001	0,0001

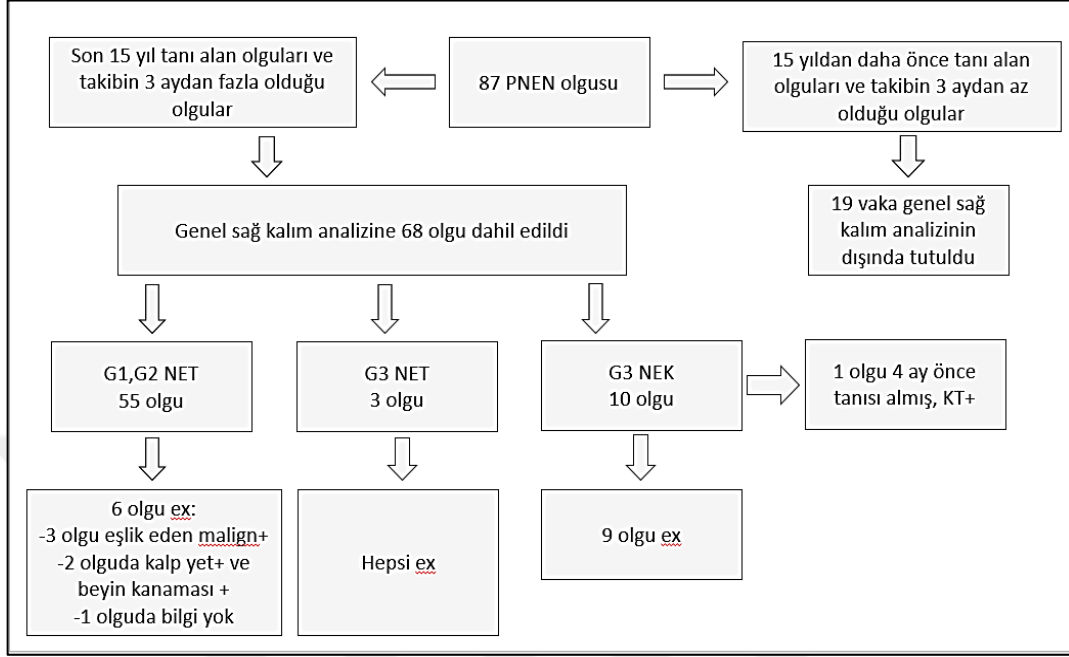
Yaşı, tümörün fonksiyonel olması veya sendromik tümör varlığı, tümör lokalizasyonu, pozitif cerrahi sınır ve tümör boyutunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0,05$).

6.7. Sağkalım

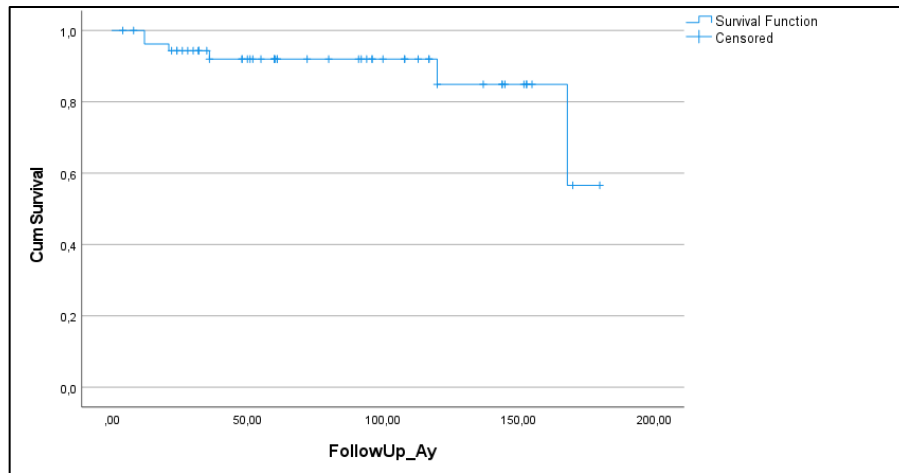
Sağkalım analizi için tüm olguları tümör farklılaşmasına göre üç gruba ayrıldı. Düşük ve orta dereceli tümör (NET grade 1 ve 2), yüksek dereceli tümör (NET grade 3) ve az diferansiye karsinom –NEK). 15 yıldan daha önce tanı alan olguları sağ kalım analizinin dışında tutuldu.

Ayrıca takibin üç aydan az olduğu olgular da değerlendirme dışı bırakıldı. Buna göre genel sağkalım analizi 68 olgu üzerinden yapıldı (**Tablo 6.9**).

Tablo. 6.9. Genel sağkalıma ait özet tablo.

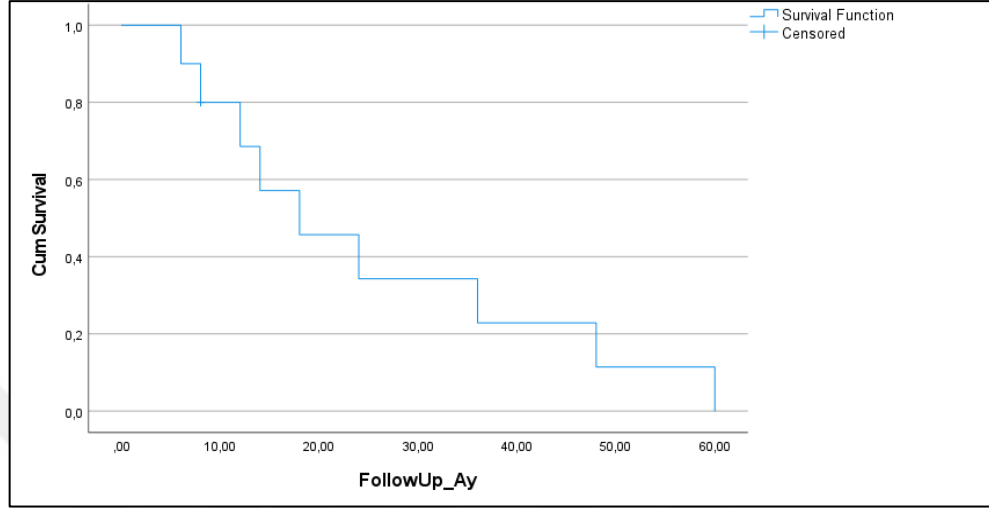


Düşük ve orta dereceli (NET grade 1 ve 2) pankreas tümörleri grubu 55 vakayı içeriyordu. Bu grupta 6 olgunun hayatta olmadığı tespit edildi. Bu 6 olgunun 3'ünde NET'e eşlik eden malignite öyküsü vardı. Bir hasta kalp yetmezliğinden öldü. Bir hasta ise beyin kanaması nedeniyle hayatını kaybetti. Bir hastanın ölüm nedeni belirlenemedi. Bu hastaların ortalama yaşam süresinin tanıdan sonra 160 ay olduğu (minimum 4 ay-maksimum 180 ay) belirlendi (**Şekil 6.24**).



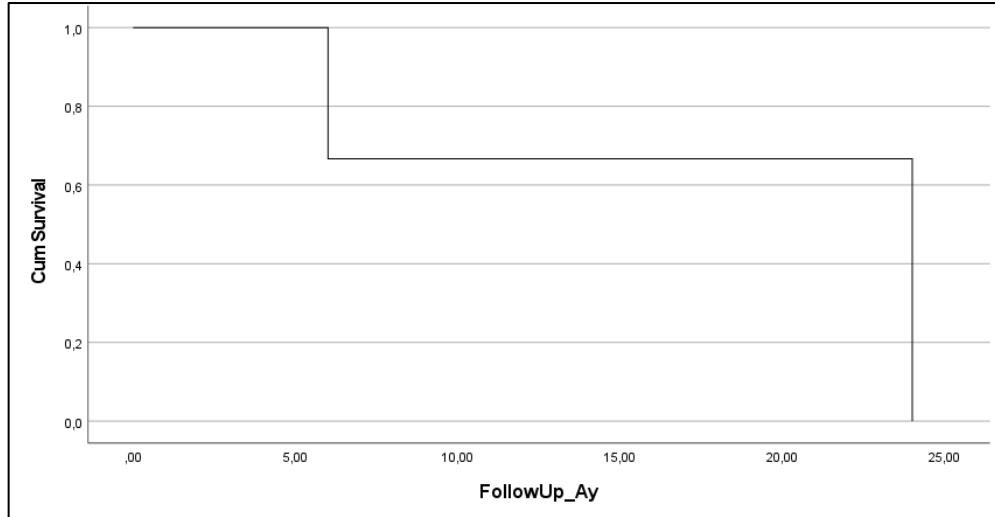
Şekil 6.24. Düşük ve orta dereceli (NET grade 1 ve 2) pankreas tümörü olan hastalar için genel sağkalım grafiği.

Az diferansiye NEK tanısı olan 10 olgudan 9'unun hayatını kaybettiği tespit edildi. Bir hastanın çalışmanın başlamasından 4 ay önce tanı aldığı ve çalışma sırasında kemoterapinin devam ettiği öğrenildi. Bu hastaların ortalama yaşam süresinin tanıdan sonra 25 ay (minimum 6 ay- maksimum 60 ay) olduğu belirlendi (**Şekil 6.25**).



Şekil 6.25. Az diferansiye pankreas NEK olan hastalar için genel sağkalım grafiği.

NET derece 3 olarak tanı alan 3 olgunun hastalık nedeniyle öldüğü; ortalama yaşam süresinin tanıdan sonra 18 ay (minimum 6 ay- maksimum 36 ay) olduğu saptandı (**Şekil 6.26**).



Şekil 6.26. Pankreas NET grade 3 (yüksek dereceli tümör) olan hastalar için genel sağkalım grafiği.

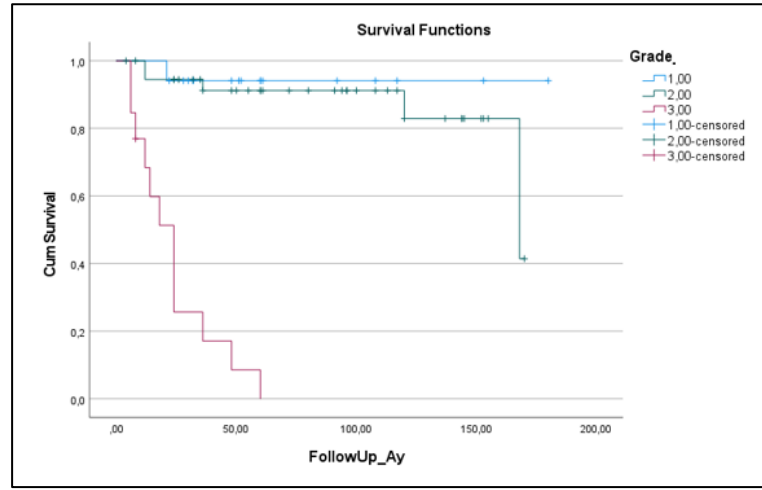
Serimizde 7 olguda tümör nüksü olduğu, nüksün ortalama 72 ayda (minimum 24 - maksimum 120 ay) ortaya çıktığı saptandı.

Üç yöntem kullanılarak Ki-67 indeksi ile DSÖ sınıflandırması dikkate alınarak belirlenen hasta sağkalım analizinin korelasyonu.

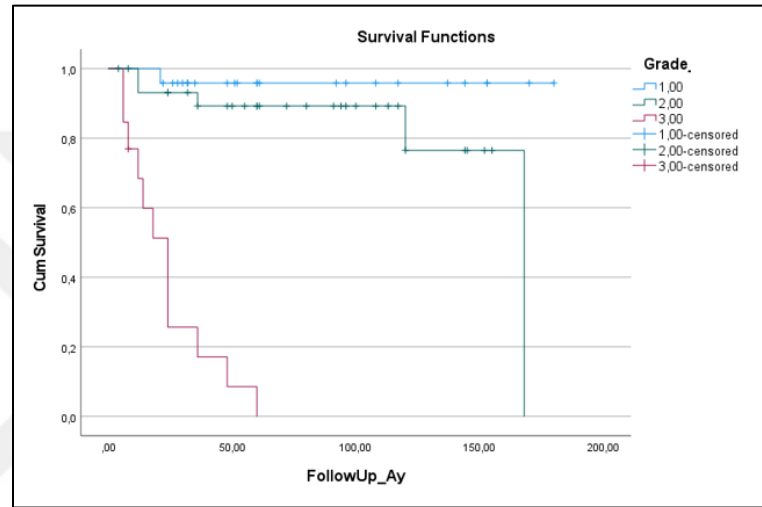
Işık mikroskobu altında manuel sayım ile proliferatif indeks belirlenirken G1 PNET (17 olgu) tanıli olguların ortalama sağkalımın 170 ay, G2 PNET (38 olgu) tanıli olguların 151 ay, G3 PNET ve PNEK (13 olgu) tanıli olguların 23 ay olduğu tespit edildi (**Şekil 6.27.**).

Dijital görüntü üzerinde manuel sayım ile Ki67 bakıldığında G1 PNET (24 olgu) tanıli olguların ortalama sağkalımın 173 ay, G2 PNET (31 olgu) tanıli olguların 146 ay, G3 PNET ve PNEK (13 olgu) tanıli olguların 23 ay olduğu tespit edildi (**Şekil 6.27.**).

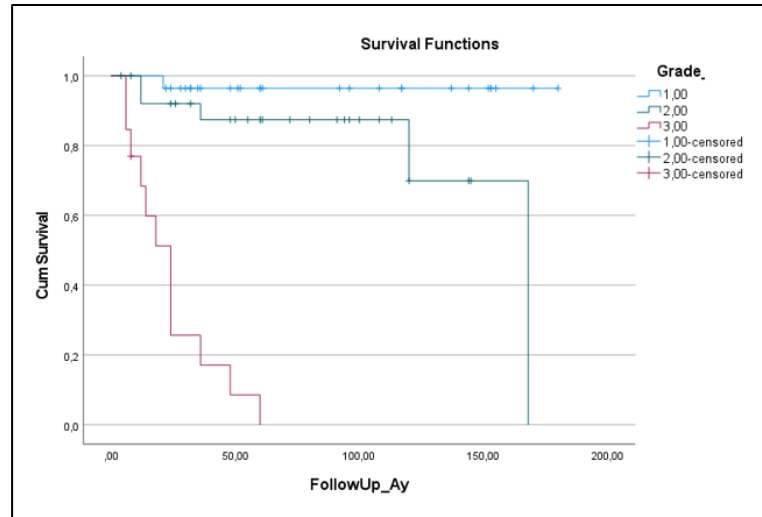
Dijital görüntüde otomatik sayım ile Ki67 belirlerken G1 PNET (28 olgu) tanıli olguların ortalama sağkalımın 174 ay, G2 PNET (27 olgu) tanıli olguların 141 ay, G3 PNET ve PNEK (13 olgu) tanıli olguların 23 ay olduğu tespit edildi (**Şekil 6.27.**).



A



B



C

Şekil 6.27. Ki-67 indeksinin ölçülmesine yönelik üç farklı yöntemle göre hayatta kalma analizinin tutarlılığı. A. Işık mikroskobu altında manuel değerlendirme. B. Dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirme. C. Dijital görüntüde otomatik sayım.

7. TARTIŞMA

PNEN son zamanlarda tanı olanaklarının artması nedeniyle giderek daha fazla tespit edilen heterojen bir neoplazi grubudur. PNEN'ler düşük dereceli (PNET grade 1), orta dereceli (PNET grade 2), yüksek dereceli (PNET grade 3, küçük hücreli ve büyük hücreli PNEK) ve değişken dereceli (MiNEN) olarak sınıflandırılmıştır (13). Diferansiyasyon derecesine göre PNEN, iyi diferansiye (PNET grade 1, 2 ve 3), az diferansiye (büyük hücreli ve küçük hücreli PNEK) ve az ve iyi diferansiye bileşenlere sahip olabilen MiNEN olarak gruplanmaktadır. Yapılan çalışmalar; PNET ve PNEK'ye farklı klinik belirtilere, prognoza ve tedavi seçeneklerine sahip, genetik olarak farklı antiteler olduğunu göstermiştir. Bu nedenle PNET grade 3 ilk olarak 2017 yılında DSÖ Endokrin sistem tümörleri sınıflandırmasında ve sonra 2019 yılında DSÖ Sindirim sistem tümörleri sınıflandırmasında ayrı bir grup olarak tanımlanmıştır. Bu kılavuzlarda PNEN'in tanısında ve sınıflamasında Ki67 proliferatif indeks değerine önemli bir rol verilmiştir. Ki67 ile nükleer pozitif boyalı tümör hücrelerini saymak için, ışık mikroskobu altında yapılagelen değerlendirmeye ek olarak, son dönemlerde otomatik görüntü analiz sistemleri de kullanılmakta ve birçok çalışmada dijital görüntü üzerinde manuel sayım yönteminin daha doğru sonuçlar verdiği bildirilmektedir. Değerlendirmenin daha standart hale gelmesi için otomatik sayım yöntemleri geliştirilmektedir.

PNEN'ler geniş bir yaş aralığında izlenebilmektedir. Ancak olgular çoğunlukla üçüncü ve altıncı dekatlar arasında tanı almaktadır. Tanı konulduğunda ortalama yaş 50 ila 56 arasında değişmektedir (22). Bizim çalışmamızda da olguların 24-83 yaş arasında olduğu gözlenmiş ve ortalama yaş 51,6 yıl olarak saptanmış olup sonuçlarımız literatür ile uyumlu bulunmuştur. PNEN'lerin erkek ve kadınlarda eşit olarak görüldüğü bildirilmekle birlikte (22) bazı çalışmalarda kadın hakimiyeti gösterilmiştir (32, 33). Bu sonuçları destekleyecek şekilde çalışmamıza dahil edilen hastaların çoğunun kadın olduğu görülmüştür. Olgular tümör derecesine göre gruplandığında yüksek dereceli PNEN'lerin (PNET ve PNEK) erkeklerde daha sık olduğu bildirilen çalışmalar bulunmaktadır (34, 35). Çalışmamızda kadınlarda grade 1 ve 2 PNET'lerin, erkeklerde ise grade 3 PNET ve PNEK'lerin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha sık görüldüğü saptanmıştır ($p < 0,005$). PNEK nadirdir ve tüm PNEN'lerin %2-3'ünü oluşturmaktadır (22). Literatür incelendiğinde ortalama tanı yaşının 59 ile 65 arasında olduğu görülmektedir. (36) Çalışmamızda 14 hastada (%16) PNEK tanısı bulunmakta, literatürle uyumlu olarak tanı sırasında ortalama yaşın 54 olduğu saptanmıştır.

Çoğu PNET sporadiktir ve vakaların sadece %10-20'sinde kalıtsal sendromlarla birlikte bulunmaktadır. En sık görülen sendrom MEN 1'dir ve PNET'li hastaların %20-70'inde bildirilmektedir. Sendromik hastaların %20'sinde von Hippel-Lindau sendromu (VHL), %10'unda nörofibromatozis tip 1 ve yaklaşık %1'inde tüberoskleroz bildirilmektedir. (22) Çalışmamızda 4 (%4,59) kalıtsal sendrom vakası tespit edilmiş, 3 (%75) olgunun MEN 1 sendromu, bir olgunun (%25) ise VHL sendromu olduğu görülmüştür. VHL sendromu saptanan olgudaki pankreasın nöroendokrin tümörü non-fonksiyonel özellik göstermiş, ancak olguda 2 yıl sonra tümör nüksü gelişmiştir. Sendromik tümör olgularının tümü grade 1 ve grade 2 iyi diferansiye tümörlerdir. Fonksiyonel PNET'lerin tüm PNET'lerin %10 ile %30'unu oluşturduğu bildirilmektedir. Klinik bir sendromun varlığı nedeniyle, fonksiyonel PNET'ler, non-fonksiyonel PNET'lerden daha erken teşhis edilmektedir. İnsülinomalar en sık izlenen fonksiyonel tümörleri oluşturmakta (%40-60), bunu gastrinomalar izlerken (%20-50), VIPoma, glukagonoma ve somatostatinoma daha da az sıklıkta izlenmektedir (22). Çalışmamızda 13 (%85) fonksiyonel tümör vakası belirlenmiştir. Fonksiyonel tümörün tanısı anında ortalama yaş 44'tür. Bunların 11'ini (%73) literatürle uyumlu olarak insülinomalar oluşturmaktadır. Bir olguda gastrinoma ve kalan diğer bir olguda somatostatinoma bulunmaktadır. Aynı zamanda iki insülinoma ve bir gastrinomanın da MEN1 sendromu ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Somatostatinoma ve gastrinomalı hastalarda sırasıyla 8 ve 9 yıl sonra nüks tespit edilmiştir. Sendromik tümörlere benzer şekilde tüm fonksiyonel tümörler iyi diferansiyedir ve çalışmamızda literatürle uyumlu şekilde tüm fonksiyonel PNET'ler derece 1 ve 2 olarak sınıflandırılmıştır.

Morfolojik olarak PNET sıklıkla soliter, solid özellikte, ancak normal parankimden daha yumuşak, daha az sıklıkla kistik dejenerasyon gösteren neoplazilerdir. Pankreasın nöroendokrin karsinomları genellikle solid, hemorajik ve nekrotik odaklara sahiptir ve nispeten iyi sınırlara sahiptir. Baştürk O ve arkadaşları PNEK'lerin pankreasın başında daha sık geliştiğini bildirmektedir (36). Ancak çalışmamızda değerlendirdiğimiz PNEN'lerin gelişim lokalizasyonlarına yönelik istatistiksel anlamlı bir sonuca ulaşılmamıştır ($p>0,05$).

Taskin ve arkadaşları, çalışmalarında tümör sınırlarının histomorfolojik yapısının belirlenmesinin önemini göstermiştir. Bu çalışmada tümör sınırının infiltratif paterni ile tümör progresyonu, metastaz ve tümör derecesi arasındaki bağlantıya işaret edilmektedir (38). Tümör sınırlarının durumunu ve rezeksiyon sınırı bölgesinde tümör varlığını değerlendirdiğimiz çalışmamızda pozitif rezeksiyon sınırı tümör nüksü ile ilişkili olmasına rağmen (39), pozitif rezeksiyon sınırı ile PNEN derecesi arasında bir ilişki bulmak mümkün olmamıştır ($p>0,05$).

Çalışmamızda, az diferansiye PNEK çoğunlukla tümör sınırlarının infiltratif büyüme gösterdiği, iyi diferansiye PNET'lerde ise tümörlerin iyi sınırlanma gösterdiği istatistiksel olarak gösterilmiştir ($p<0,0001$).

PNET 0,5 ila 30 cm arasında değişen boyutlarda görülebilmektedir. Fonksiyonel tümörler genellikle daha küçüktür ve 2 cm'ye ulaşmazken, mikroadenomların (<0.5 cm) neredeyse her zaman fonksiyon göstermedikleri bildirilmektedir. Tümörlerin boyutunun 3 cm'ye ulaştığında klinik seyirin daha agresifleştiği kaydedilmiştir. Ancak semptomların şiddeti tümör boyutuyla ilişkili değildir (37). PNEK boyutları 2 ila 18 cm arasında değişir ve ortalama 4 cm olarak saptanmaktadır (36). Çalışmamızda PNEN ortalama boyutunun 3,34 cm (minimum 0,6 cm-maksimum 13 cm) olduğu bulunmuştur. Min Yang, pankreas nöroendokrin tümörlerinin evrelemesi üzerine yaptığı çalışmada, tümör boyutu ile farklılaşma derecesi arasındaki ilişkiye dikkat çekmiştir (4). Ancak çalışmamızda boyut ve farklılaşma derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuca ulaşılmamıştır ($p>0,05$).

Cerrahi rezeksiyon, PNEN'li hastaların radikal tedavisidir. PNET'li tüm hastalar cerrahi tedavi açısından değerlendirilmelidir. Ana pankreatik kanal dilatasyonunun yokluğunda, NF-PNET veya MEN1 sendromunda küçük boyutlu non-metastatik gastrinomu olan hastalara yakın takip önerilebilmektedir. Tümör boyutu ≥ 2 cm, klinik semptom bulunuyor ve pankreas kanallarında genişleme varsa pankreas rezeksiyonu önerilir. Cerrahi rezeksiyon aynı zamanda iyi diferansiye grade 3 PNET için de önerilmekte olan tedavidir. Ancak lokalize PNEK hastalarda cerrahinin faydası belirsizdir. Bu gibi vakaların tedavisinin hastanın genel durumu da göz önüne alınarak bireysel olarak belirlenmesi önerilmektedir. PNEK tanısı olan ve ekstrahepatik metastazları olan hastalarda, kötü prognoz beklentisi nedeniyle cerrahi rezeksiyon endike değildir. Ancak metastatik karaciğer hastalığı cerrahi tedavi için mutlak kontrendikasyon değildir (40). Çalışmamızdaki PNEK ve grade 3 PNET'li hastaların tümüne distal pankreatektomi veya Whipple ameliyatı yapılmış; grade 1 ve 2 PNET'te ise aynı cerrahi girişimlerin yanı sıra tümör enükleasyonu da uygulandığı görülmüştür. Buna karşılık, çalışmamızda tümör derecesi ile yapılan rezeksiyon tipi arasında istatistiksel anlamlılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

2017 yılında AJCC PNEN evreleme kılavuzları güncellenmiş 8. baskısı yayımlanmıştır. Bu kılavuz, PNEN'e yönelik yeni evreleme sistemin yalnızca PNET G1 ve G2'ye uygulanması gerektiğini; PNET G3 ve NEK'nin ise ekzokrin pankreas adenokarsinomu kapsamında değerlendirilmesi ve buna göre evrelemenin yapılmasının önemini vurgulamıştır. (4) TNM

sınıflandırması, prognozu değerlendirmek için tümör boyutunu, lenf nodu tutulumunu ve uzak metastazların varlığını dikkate almaktadır. Dereceye göre PNEN evreleme sistemi (G1, G2 ve G3), tümörün proliferatif potansiyelini yansıtır, ancak metastazın özelliklerini yansıtmaz. Min Wang ve arkadaşları, bu tümörlerde daha doğru bir şekilde prognozu öngörmede proliferatif aktiviteyi ve metastatik potansiyeli yansıtan birleşik bir sistem ile TNM evrelemesi ve tümör farklılaşma derecesinin sınıflandırmada kullanılmasını önermiştir (41). Çalışmamızda incelediğimiz vakaların verilerinin her iki sınıflandırmaya göre de istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p=0,001$).

Pankreas dışı tümör infiltrasyonunun varlığına ve bunun tümör derecesi ile ilişkisine daha yakından baktık. Aslında, sadece tümörün boyutunu değil aynı zamanda pankreas dışı invazyonu da dikkate alan iyi diferansiye PNET, yani kategori T için TNM'yi detaylı olarak inceledik. Ayrıca pankreas dışı tümör infiltrasyonunun varlığına ve bunun tümör sürecinin derecesi ile ilişkisine daha yakından baktık. Aslında, sadece tümörün boyutunu değil aynı zamanda pankreas dışı invazyonu da dikkate alan iyi diferansiye PNET, yani kategori T için TNM'yi detaylı olarak inceledik. Ek olarak, bu TNM sınıflandırmasında hiçbir kategoride dikkate alınmayan, peripankreatik yumuşak dokuya infiltrasyonun varlığına da dikkat ettik. Pankreas dışı tümör invazyonu ile tümör derecesi arasındaki ilişkiyi ele aldığımızda pankreas dışında tümör invazyonu olan olgularda tümör derecesini istatistiksel olarak yüksek bulduk ($p<0,0001$).

Heterojen bir tümör grubu olan PNEN, farklı morfolojik paternler içerebilmektedir. Fukushima N ve arkadaşlarının çalışmaları, iyi diferansiye PNEN'lerin tipik olarak insular, trabeküler, asiner ve tübüloasiner, solid paternlere sahip organoid bir morfolojiye sahip olduğunu bildirmektedir (42). Bunun nedeninin farklılaşmanın, tümörün orijinal yapıları, yani Langerhans adacıklarına olan benzerliğinin derecesi ile ilişkili olduğu olarak ifade edilmektedir. Çalışmamızda düşük dereceli tümörlerde asiner, insular, insular ve asiner paternlerin kombinasyonu ve trabeküler patern gibi paternlerin daha sık görüldüğünü gözlemledik. Grade 3 NET vakalarında organoid yapının insular, asiner ve trabeküler paternlerin bir kombinasyonu şeklinde korunduğunu gördük. PNEK'de solid paternlerin baskınlığını ve daha az ölçüde diğer paternlerle kombinasyonunu izledik. Tümör derecesi ve morfolojik pattern dağılımının istatistiksel olarak da anlamlılık gösterdiği görüldü ($p<0,001$).

Düşük dereceli PNET'lerde nekroz genellikle izlenmemekle birlikte odaksal nekrozun görülebilmektedir. PNEK'de ise sıklıkla nekroz mevcuttur (36). Grade 3 PNET ile büyük

nekroz odakları da tespit edilebilir, bunlar daha çok iskemik tip nekroz özelliğindedir (43). Çalışmamızda tümör diferansiyasyonu azaldıkça anlamlı bir şekilde nekrozun geliştiğini tespit ettik (**p=0,002**).

PNEN farklılaşmasının değerlendirilmesinde immünohistokimyasal Ki67 boyalı kesitlerde hesaplanan proliferatif indekse ek olarak 10 BBA' da sayılan mitoz sayısı da tanı kriterleri arasında yer almaktadır. DSÖ kriterlerine göre sayılan mitoz sayısı sonuçlarımızın PNEN'lerin farklılaşma-derecesi ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki gösterdiği sonucuna ulaştık (**p<0,0001**).

Çalışmamıza ayrıca perinöral ve lenfovasküler invazyonun değerlendirmesini ve bunun PNEN farklılaşma derecesi ile ilişkisini de dahil ettik. Guido Rindi ve arkadaşlarının PNEN'lerde diferansiyasyon azaldıkça perinöral ve lenfovasküler invazyonu tespit etme olasılığının arttığını gösteren çalışmalarında olduğu gibi (44) çalışmamızın sonuçlarının literatür bilgilerini doğruladığını tespit ettik. İstatistiksel olarak sonuçlarımız çalışmamızda perinöronal invazyon için **p<0,05** ve perivasküler invazyon için **p<0,0001** olarak ifade edilmektedir.

Metastaz gelişimi PNEN'lerde görülebilmektedir. PNET'te metastaz sıklığı %50'ye, PNEK'de ise %100'e kadar ulaştığı bildirilmektedir. Metastazlar sıklıkla lenf nodüllerine ve uzak organ olarak karaciğere olmaktadır (22). Lenf nodüllerinde ve uzak organlarda metastaz varlığını değerlendirirken, hastalığın metastatik seyri ile PNEN farklılaşması arasındaki ilişkiyi doğrulayan istatistiksel verilere ulaştık. Metastatik lenf nodülleri için **p<0,05**, uzak metastaz için **p<0,0001** istatistiksel anlamlılık bulduk. Bu durum literatürdeki diğer çalışmalarla da uyumluluk göstermektedir (44).

Genel sağkalım değerlendirilirken, cerrahi rezeksiyondan sonraki ortalama yaşam süresinin, PNET G1 ve PNET G2'de, PNEK G3'e göre anlamlı olarak uzun olduğu saptanmıştır (160 aya karşılık 25 ay). Sonuçlarımız literatürdeki veriler ile uyumluluk göstermektedir (45). Ayrıca PNET G1 ve PNET G2, PNET G3 ile karşılaştırıldığında yüksek genel sağkalım göstermiştir (18'e karşı 160 ay). Bununla birlikte, PNET G3 ve PNEK G3'nün genel sağkalım karşılaştırıldığında, PNEK G3, PNET G3'ye göre daha yüksek genel sağkalım gösterdiği tespit edilmiştir (18'e karşı 25 ay). G3 PNEK'e göre daha iyi tümör farklılaşmasına sahip olmasına rağmen G3 PNET'te daha düşük genel sağkalımla ilişkili bu uyumsuzluğun bu grubun yalnızca 3 olgu içermesine bağlı olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda, Ki67 proliferatif indeksi ve mitoz sayısı sonuçlarına göre evreleme sonuçları karşılaştırıldığında yüksek bir korelasyon bulunduğu görülmüştür ($p<0,0001$). Çalışmamızda yer alan 42 olguda (%48) derecede mitotik aktivite ve Ki67 indeksi ile uyumlu olduğu izlenmiştir. Kırkbeş olguda (%52) ise mitoz sayısı ile Ki67 indeksine bağlı derecelendirme farklılık saptanmıştır. Her üç kategoride de uyumsuzluk gözlenirken, Ki67 proliferasyon indeksi baz alınarak yapılan hesaplamada tümörlerde hem grade 2 hem de grade 3 tanısının daha fazla verilme eğiliminin olduğu görülmüştür. Mitoz sayısına göre yapılan değerlendirmelerde, derecede bir artma ve tümöre G1 tanısı verme prevalansında bir azalma eğilimi olduğu bulunmaktadır. Chad M McCall ve arkadaşları, mitotik aktiviteye dayanarak yapılan PNET değerlendirmelerinin ve Ki67'ye dayalı olarak yapılanlara göre daha tutarlı sonuçlar verdiğini bildirmektedir. Çalışmalarında Ki67 ile belirlenen tümör derecesinin mitoz sayısı ile belirlenen dereceden daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Mitoz G1 ve Ki67 G2 uyumsuz tümörleri olan hastaların genel sağkalımı daha kısa olduğunu bildirmektedirler (46). Bu nedenle derecelendirme yapılırken Ki67 proliferasyon indeksinin mitoz sayısından daha değerli olduğu bildirilmektedir ve Ki67 proliferatif indeksinin hesaplanması PNEN tanısında ana adımdır. Ancak Ki67 indeksinin kantitatif değerlendirmesine yönelik çeşitli yöntemlerde standartların bulunmaması nedeniyle PNEN tanısında sorunlar ortaya çıkmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü 2019 yılında “Recommendations on digital interventions for health system strengthening” kılavuzunu yayınlamıştır. Bu kılavuz, patoloji de dahil olmak üzere tıpta dijital teknolojilerin kullanımını gündeme getirmiştir (25). Patolojide niceliksel değerlendirme için yapay zeka tabanlı dijital teknolojiler kullanılmakta, bu şekilde patoloji preparatları dijitalleştirilerek görseller oluşturulabilmektedir. DSÖ'nün 2019 Sindirim sistem tümör sınıflandırması kitabında da benzer şekilde, Ki67'nin en yoğun boyandığı alanlardan en az 500 neoplastik hücre içeren basılı bir görüntü üzerinde manuel sayım yoluyla değerlendirilmesi önerilmektedir.

Dijital programları kullanan diğer bir sayma biçimi, dijital görüntülerin otomatik analizidir. Son kanıtlara göre PNEN'de Ki67'nin değerlendirilmesi için dijital patoloji kullanımının doğru ve tekrarlanabilir olduğu düşünülmektedir.

Literatürde Ki67 proliferasyon indeksini değerlendirme yöntemlerinin korelasyonunu inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak asıl eserlerin, proliferatif indeksin hesaplanmasında yarı otomatik ve otomatik programların kullanılmasının öneminin gösterildiği Tang Laura H. MD 2012 (47), Michelle D Reid 2015 (48) ve Trynda N. Kroneman 2015 (6) çalışmaları olduğu görülmektedir. Claudio Luchini ve arkadaşları, dijital otomatik puanlama ve

manuel puanlamanın karşılaştırmalı bir meta-analizini gerçekleştirdikleri çalışmalarında değerlendirdikleri dört çalışmada birleştirilmiş korelasyon tahmini 0,94 (%95 IA: 0,83-0,98) olarak bulunmuştur. Bu meta analiz manuel sayma ile otomatik dijital sayma arasında yüksek bir korelasyon olduğunu göstermiştir (25). Bu makalelerden birinde Trynda N. Kroneman ve arkadaşları (6), Ki67'yi hesaplamak için üç yöntem arasında bir analiz gerçekleştirmişlerdir. Dijital görüntüden manuel ve otomatik sayım değerlendirmeleri ve ayrıca dijital görüntüden manuel sayma ile mikroskop altında sayım sonuçları arasındaki korelasyon katsayıları sırasıyla 0,97 ve 0,88 olarak belirlenmiştir. Bu yöntemlerden dijitalize görüntüler üzerinden manuel sayımın zahmetli, zaman alıcı ve pahalı olmasına rağmen en etkili ve doğru bir yöntem olduğunu bildirmektedir (25).

Fatih Mert Doğukan ve arkadaşlarının çalışmasında (49), Ki67 proliferatif indeks hesaplamasını “monitör-görüntü” ve “baskı-görüntü” yöntemleri arasında karşılaştırmıştır. Çalışmada 0,951 ile 0,999 arasında değişen sınıf içi korelasyon katsayıları bulunmuştur. Böylece, Ki67 proliferatif indeksinin değerlendirilmesinde kullanılan monitörden görüntüye ve baskıdan görüntüye yöntemleri arasında dikkate değer bir uyum olduğu gösterilmiştir. Biz, çalışmamızda farklı olarak; fotoğraf basmak yerine, taranmış slaytlar ve yarı otomatik dijital analiz kullanan manuel sayım yöntemini kullandık. Taranmış bir görüntü üzerinde sayma yönteminden sonra, dijital görüntü üzerinde manuel sayım en çok önerilen yöntem haline gelmiş; böylece, Maíra Leite Basile 2019 (50), Marie-Louise F. van Velthuisen 2014 (51) ve Helen T M Young 2013 (52), yaptıkları çalışmalarında bu iki yöntemin (mikroskop altında manuel sayım ve dijital görüntüden manuel sayım) arasındaki yüksek korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Daha sonra literatürde bu iki yöntemi karşılaştıran ve Ki67'nin değerlendirmesinde otomatik programlar kullanılarak sayım yöntemlerini kullanan çalışmalar yayımlanmıştır. R. Owens ve arkadaşlarının çalışması (53), bu yöntemler arasındaki korelasyonun 2000 hücre sayılırken ortalama %89, 1000 hücre sayılırken ise ortalama %90 olduğunu göstermiştir. Sarag A. Boukhar ve arkadaşları çalışmalarında da (54) aynı korelasyonu 0,976 olarak bildirilmektedir. Bu çalışmada otomatik hesaplama için, bizim de çalışmamızda kullandığımız (“Quant center”) programını kullandıkları bildirilmektedir. Benzer şekilde Pinuccia Faviana ve arkadaşları da çalışmalarında 0,925'lik yüksek bir korelasyon bildirmiştir (55).

Literatürde üç sayma yöntemini (ışık mikroskobu kullanılarak manuel sayma, dijital görüntü kullanılarak manuel sayma ve otomatik program kullanılarak) bir arada kullanan ve sonuçları karşılaştıran çalışmalar bulunmaktadır. Trynda N. Kroneman ve arkadaşları (6)

tarafından yapılan bir çalışmada dijital görüntü üzerinden manuel hesaplama ile otomatik program tarafından yapılan sayım arasındaki korelasyon katsayısı 0,97; dijital görüntü üzerinde manuel sayım ile ışık mikroskobu sayımı arasındaki korelasyon katsayısı ise 0,88 olarak bulunmuştur. Swati P. Satturwar ve arkadaşları (56) ışık mikroskobu ile sayım ile dijital görüntü üzerinde manuel sayım arasındaki korelasyon katsayısını 0,74, dijital görüntü üzerinde manuel sayım ile otomatik sayımı arasındaki korelasyon katsayısını 0,50 ve ışık mikroskobu manuel sayım ile otomatik program sayımı arasındaki korelasyon katsayısını 0,46 olarak bildirmektedir. Bu çalışmada listelenen yöntemlerin tümü “ augmented reality microscopy ” ile de karşılaştırılarak en yüksek korelasyonu (0,81) elde ettiklerini bildirmektedir. MD Reid ve arkadaşlarının çalışmasında (48) manuel olarak-görüntü üzerinde sayma yöntemi için korelasyon katsayısı 0,81; ışık mikroskobu ile sayım yöntemi için 0,55'tir. Bu çalışmada otomatik sayım da yapılmıştır ancak korelasyon sonuçları yayınlanmamıştır.

Literatür bilgileri, her üç yöntemin korelasyon gösterdiğini çoğunlukla göstermektedir. Çalışmamızda da literatürde belirtilenlere yakın veriler elde edilmiştir. Çalışmamızda ICC 0,964 ile 0,983 arasında değişiyorken, ortalaması 0,975'tir. Ki67 proliferasyon indeksini hesaplamaya yönelik üç yöntem arasında yüksek düzeyde bir korelasyon bulunduğunu gösterdik.

Çalışmamızda Ki67 boyalı kesitler üzerinden yaptığımız üç farklı değerlendirme yönteminden elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusundaki tümör derecelendirme sonuçlarına göre bunları, Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği 3 gruba ayırdık. Sonuçlar üç farklı Ki67 sayma yöntemi arasında ilişkilendirildi. Böylece, aşamayı belirlerken ve diğer sayma yöntemleriyle ilişkili olarak, ışık mikroskopta manuel sayarken grade 2 NET'lerin diğer iki yönteme göre daha fazla belirlendiğini, dijital görüntü üzerinde manuel sayım ve otomatik sayımı kullanırken NET grade 1 tanısının verilme eğilimi olduğu tespit ettik. Elde edilen veriler literatürde yer alan Pinuccia Faviana (55), Yelda Dere (57), Maira Leite Basile (50), Cottenden (58) eserlerinde elde edilen sonuçlarla tutarlıydı. Çalışmamızda grade 3 belirlenirken Ki67 hesaplama yöntemlerinin hiçbirinde farklılık görülmedi. Tang (47) ve Kroneman (6) tarafından yapılan iki çalışmada, otomatik bir program kullanılarak analiz edildiğinde G2 tespitine yönelik bir eğilim gösterdiği bildirilmektedir. Ancak aynı çalışmalarda Ki67'yi değerlendirmenin farklı yöntemleri arasında G3'ün tanısında bizim sonuçlarımızla benzer şekilde uyumluluk bildirilmektedir. Çalışmamızda "G1 NET" kategorisindeki $\kappa=0,800$, "G2 NET" kategorisindeki $\kappa=0,812$, "G3 NET ve NEK" kategorisindeki ise $\kappa=1,000$ saptandı. Uyumun **p değeri <0,0001** olarak belirlendi.

Yayınlanan DSÖ tümör sınıflandırmaları ve Ki67 değerlendirmesine yönelik ENETS kılavuzları PNEN'lerin sınıflandırması standartlaştırmış olsa da, skorlama yönteminin seçimi patologlar için hala zor olmaya devam etmektedir. Proliferatif indeksi doğru bir şekilde hesaplayabilecek bir yöntemin seçilmesinin yanı sıra hazırlık aşamasında da birçok faktör önemlidir. Bunlar, başlıca farklı antikor klonlarının ve immünohistolojik boyama protokollerinin kullanımını içermektedir. Boyamanın yapılacağı parafin bloktan hazırlanacak kesitin kalınlığı da sonucu etkileyebilmektedir. Hücre sayımı aşamasında tümör hücrelerinin yoğunluğu değerlendirmeyi zorlaştırırken tümör ilişkili stroma içinde yer alan ve pozitif boyanabilen stromal hücreler, vasküler endotel ve inflamatuvar hücreler de bu sonucu değiştirebilen faktörler arasında yer almaktadır. Bu nedenle immünohistokimyasal Ki67 boyalı kesitler değerlendirilirken sadece yoğun pozitif boyanan “hot spot” alanları yanı sıra bu alanlardaki tümör ilişkili değerlendirmeyi etkileyebilecek diğer hücrelerin de pozitif boyanabileceğinin göz önünde bulundurularak özellikle sorunlu olgularda HE boyalı kesitlerin desteği ile değerlendirme yapılması daha sağlıklı sonuçlara ulaşmaya imkan verecektir.

Çalışmamızda rutin uygulamalarda uyum açısından sorun oluşturan Ki-67 indeksinin belirlenmesinde sayımın nasıl yapılması gerektiği sorusunun cevabını aradık. Ki67 proliferasyon indeksinin belirlenmesinde dijital görüntülerde otomatik sayımı kullanmanın doğruluk ve zaman tasarrufu da dahil olmak üzere avantajlarını yanı sıra, bu yöntemin standart ışık mikroskop sayım yöntemi ve 2019 DSÖ Sindirim sistem tümör tarafından önerilen dijital görüntü üzerinde manuel sayım yöntemiyle yüksek düzeyde uyum sağladığını tespit ettik. Otomatik sayımın kullanılması, PNEN sınıflandırmasının tüm aşamalarında olduğu gibi, özellikle G3'ün belirlenmesinde ve dolayısıyla G2-G3 geçişinde yüksek tutarlılık gösterdiğini gördük. Ancak G1 tümörlerin ve G2 tümörlerin belirlenmesinde literatürle benzer şekilde uyumsuzluklar izlendi. Grade 1 tümör tanısı için Ki67 proliferasyon indeksinin 3'den az olması, grade 2 tanısı için indeksin 3 ve üzerinde olması gerekmektedir. Yani Ki67 proliferasyon indeksi 2,9 olan bir tümör grade 1 olarak değerlendirilmesi gerektiren indeksi 3 olarak hesaplanan tümör grade 2 tanısı almaktadır. Burada, proliferatif indeksi 2,99 (G1) olan bir tümörün biyolojik davranışının indeksi 3,0 (G2) olan bir tümörden ne kadar farklı biyolojik davranış gösterebileceği sorusu ortaya çıkmaktadır. Görüldüğü üzere grade 1 ve grade 2 tanısı için belirlenen aralığın bu kadar dar olması tanısal uyumsuzlukların en önemli nedenini oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra grade 2 PNET tanısı için indeks aralığı 3,0 ila 20 arasındadır ve oldukça geniştir. Bu kez de grade 2 tümör tanısı alan indeksi 3 olan bir tümör ile indeksi 19,9 olan tümörün de biyolojik davranışının ne kadar benzer olabileceği sorusu ortaya çıkmaktadır. Bu amaçla proliferatif indeks sayılarının özellikle grade 1 ve grade 2 tümörlerde

yeniden düzenlenmesi ve G1/G2 eşiğinin %5 olarak değiştirilmesini öneren çalışmalar mevcuttur (25). Bundan hareketle, bizim çalışmamızda bu indeks değerlerinin değişmesi durumunda grade 1 ve grade 2 NET tanımlarındaki uyumsuzluğun azalacağı bir gerçektir. Ancak bunun yapılabilmesi için daha büyük çalışmalara, özellikle klinik seyir ve prognoza yönelik daha fazla dataya ihtiyaç bulunmaktadır.

Literatürde, otomatik sayım programlarını kullanırken algoritmaların kurulmasını önerilmektedir. (25) Hatalı değerlendirmeyi engellemek için ayrıca Ki67 ve Sinaptofizin birlikteli gibi dual boyama yöntemlerinin kullanılması da tavsiye edilir. Bununla birlikte pozitif hücrelerin sayıldığı “hot spot” sayısı, boyutu ve şekline ilişkin tavsiyelerde de bulunmaktadır. Çalışmamızda dijital görüntü üzerinde otomatik sayımı standartlaştırmaya çalıştık. Ki67'yi saymadan önce program tarafından tüm hücrelerin daha doğru değerlendirilmesi için hücre boyutu modunu ve boyama arka planının yoğunluğunu ayarladık. Bu şekilde program, tümör hücrelerinin sayısını daha doğru bir şekilde tanıyabildi. Literatürde bu yöntem için en sık bahsedilen dezavantaj, tümör dışı pozitif boyaların sayılması riskidir. Bunun için pozitif boyalı hücreleri program tarafından +3, +2, +1 boyanma derecelerine böldükten sonra kontrol ettik. Program, +2 ve +1 gruplarında pozitif boyalı endotelial ve stromal hücrelerin yanı sıra boyama sırasında elde edilen lenfositler ve artefaktları tümör hücreleri olarak değerlendirdi. Böylece programın optimize edilmesiyle tümör dışı hücrelerin sayılma riski azaltıldı. Kullandığımız programda doğru sonuç elde edebilmek için bir patolog tarafından optimizasyon ve düzenlemenin yapılması gerekmektedir. Sonuç olarak, çalışmamızın neticelerine dayanarak, Ki67 proliferatif indeksinin belirlenmesinde dijital görüntü üzerinde otomatik sayıma dayanan programların PNEN tanısı ve sınıflaması için rutin uygulamada kullanılabileceğini göstermektedir. Ancak mevcut sistemlerde görüntüyü sisteme tanıtmada işinde, yanlış pozitif boyanan hücrelerin belirlenmesi ve optimizasyonunun bir patalog tarafından yapılması gerekmektedir. Geliştirilecek yeni programlar ve algoritmalar, yakın gelecekte bu sorunu ortadan kaldıracaktır. Diğer yandan dijital görüntüleme sistemlerinin hala pahalı teknolojiler olması ve yaygın olarak bulunmaması nedeniyle rutin patoloji uygulamalarında tümörde mitoz sayısı ve Ki67 boyalı kesitte ışık mikroskopunda manuel sayım ile elde edilecek proliferasyon indeksinin hala güvenle kullanılabileceği sonucuna da ulaşılmıştır. Her üç yöntem kullanılarak yapılan değerlendirmede pozitif boyanan hücrelerin tümör hücresi olduğundan emin olunarak sayım yapılmasının sonucu değiştirebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

8. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda PNEN olguların ortalama yaşı 51,6 yıl saptanmıştır. PNEK olgusu tespit edilirken, tanı koyulduğunda ortalama yaş 54 olarak görülmüştür.

Grade 1 ve 2 PNET'lerde kadın baskınlığı; grade 3 PNET'lerde ve PNEK'de ise erkek baskınlığı tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Çalışmamızda 83 (%95,41) tümör sporadiktir. 4 (%4,59) kalıtsal sendrom vakası tespit edilmiştir, 3 (%75) olgunun MEN 1 sendromu, bir olgunun (%25) ise VHL sendromu olduğu görülmüştür. Çalışmamızda 13 (%85) fonksiyonel tümör vakası belirlenmiştir. Fonksiyonel tümörün tanı anında ortalama yaş 44'tür. Bunların 11'ini (%73) insülinomalardır. Bir olguda gastrinoma ve kalan diğer bir olguda somatostatinoma bulunmuştur. Sendromik tümörlere benzer şekilde tüm fonksiyonel tümörler iyi diferansiyedir ve çalışmamızda tüm fonksiyonel PNET'ler derece 1 ve 2 olarak sınıflandırılmıştır.

Işık mikroskopla manuel Ki67 sayma yöntemi ile 25 G1 PNET olgusu, 43 G2 PNET olgusu ve 19 G3 PNET ve PNEK olgusu tanımlanmıştır. Dijital görüntü üzerinde manuel değerlendirmede, 32 olgu G1 PNET, 36 olgu G2 PNET ve 19 olgu G3 PNET ve PNEK olarak değerlendirilmiştir. Dijital görüntüde otomatik değerlendirmede, 23 olgu G1 PNET, 32 olgu G2 PNET ve 19 olgu G3 PNET ve PNEK olarak değerlendirilmiştir.

G3 PNEN farklılaşması mikroskop altında değerlendirilirken 11 olguda BHNEK, 3 olguda KHNEK ve 5 olguda G3 NET tümör tanımlanmıştır.

PNEN'in differansiyasyon derecesini etkileyen parametreleri değerlendirirken 9 parametre değerlendirilmiştir:

1. Morfolojik diferansiyasyonun kaybı: Düşük dereceli pankreas nöroendokrin tümörlerinde insular ve asiner paternlerin baskınlığı, yüksek dereceli pankreas nöroendokrin tümörlerde solid ve mikst paternlerin baskınlığı izlenmiştir ($p<0.0001$).
2. Tümör sınırlarının karakteri: Düşük dereceli pankreas nöroendokrin tümörlerinde iyi sınırlı patern, yüksek dereceli pankreas nöroendokrin infiltratif sınırlı patern izlenmiştir ($p<0,000.1$)
3. Komşu dokulara/organlara invazyon ($p<0,0001$)
4. Nekroz ($p<0,05$)

5. Mitoz sayısı (**p<0,0001**)
6. Lenfovasküler invazyon (**p<0,0001**)
7. Perinöral invazyon (**p<0,05**)
8. Lenf nodüllerinde metastaz (**p<0,05**)
9. Uzak organlarda metastaz (**p<0,0001**)

Hastanın yaşı, fonksiyonel tümör veya sendromik tümör varlığı, tümör lokalizasyonu, pozitif cerrahi sınır ve tümör boyutu parametreleri PNEN farklılaşmasının tanımıyla bir ilişki göstermemiştir (**p>0,05**).

Tümör boyutu, tümör diferansiyonu belirlemede beklenen ilişkiyi göstermese de (**p>0,05**) TNM sınıflamasının bileşenlerinden biri olarak boyut değerlendirildiğinde bir ilişki tespit edilmiştir (**p<0,05**).

Genel sağkalım değerlendirilirken, cerrahi rezeksiyondan sonraki ortalama sürenin, PNET G1 ve PNET G2'nin, PNEK G3'e kıyasla yüksek bir genel sağkalım gösterdiği ortaya çıkmıştır. PNET G1 ve PNET G2, PNET G3 ile karşılaştırıldığında yüksek genel sağkalım göstermiştir. PNET G3 ve PNEK G3'nün genel sağkalım benzer değerler gösterilmiştir. Ayrıca üç farklı yöntemle belirlenen ve Ki67'ye göre 3 gruba ayrılan olguların sağkalım analizi de incelenmiştir. Farklı olgu sayılarına rağmen G1 ve G2 PNET tanılı olguların sağkalım oranı benzer değerler göstermiştir. G3 NET ve NEK kategorisinde sağkalım oranı her 3 yöntemde de aynı sonucu vermiştir.

Çalışmamızda Ki67 proliferatif indeksi ve mitoz sayısı sonuçlarına göre evreleme sonuçları karşılaştırıldığında yüksek bir korelasyon bulunduğu belirlenmiştir (**p<0,0001**). Mitoz sayısına göre her üç kategoride de uyumsuzluk gözlenirken, Ki67 proliferasyon indeksi baz alınarak yapılan değerlendirmede tümörlerde hem grade 2 hem de grade 3 tanısının daha fazla verilme eğiliminin olduğu görülmüştür. Mitoz sayısına göre yapılan değerlendirmelerde, derecede bir artma ve tümöre G1 tanısı verme prevalansında azalma eğilimi olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda Ki67 boyalı kesitler üzerinden yaptığımız üç farklı değerlendirme yönteminden elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusundaki tümör derecelendirme sonuçlarına göre, Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği 3 gruba ayırdığımızda ışık mikroskopta manuel sayarken grade 2 NET'lerin diğer iki yöntemle göre daha fazla tanı aldığı bulunmuştur. Dijital görüntü üzerinde manuel sayım ve otomatik sayımı kullanırken NET grade 1 tanısının verilme eğilimi

olduğu ortaya çıkmıştır. Grade 3 neoplazilerde ise Ki67 hesaplama yöntemlerinin hiçbirinde farklılık görülmemiştir. Üç farklı yöntemin uyumunun analizi yapıldığında, tüm kategoriler için uyum olduğu tespit edildi. "G1 NET" kategorisindeki uyum ($\kappa=0,800$) %80, "G2 NET" kategorisindeki uyum ($\kappa=0,812$) %81,2, "G3 NET ve NEK" kategorisindeki uyum ise ($\kappa=1,000$) %100 olarak hesaplanmıştır (**p <0,0001**).

Çalışmamızda Ki67 proliferatif indeksi değerlendirirken üç sayma yöntemini (ışık mikroskobu kullanılarak manuel sayma, dijital görüntü kullanılarak manuel sayma ve otomatik program) kullanıldı ve ICC ortalaması 0,975 olarak saptanmıştır. Ki67 proliferasyon indeksini hesaplamaya yönelik üç yöntem arasında yüksek düzeyde bir korelasyon bulunduğu görülmüştür.

Çalışmamızda dijital görüntü üzerinde otomatik sayımı standartlaştırmaya çalışılmıştır. Bu şekilde program, tümör hücrelerinin sayısını daha doğru bir şekilde tanıyabilmiştir. Böylece programın optimize edilmesiyle tümör dışı hücrelerin sayılma riski azaltılmıştır. Kullandığımız programda doğru sonuç elde edebilmek için bir patolog tarafından optimizasyon ve düzenleme yapılması gerektiği görülmüştür.

Çalışmamızın sonuçları, Ki67 proliferatif indeksinin belirlenmesinde dijital görüntü üzerinde otomatik sayıma dayanan programların, PNEN tanısı ve sınıflaması için rutin uygulamada kullanılabileceğini gösterilmiştir. Bununla birlikte; her üç yöntem kullanılarak yapılan değerlendirmede, pozitif boyanan hücrelerin tümör hücresi olduğundan emin olunarak sayım yapılmasının sonucu değiştirebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

9. KAYNAKLAR

1. Stoffel EM, Brand RE, Goggins M. Pancreatic Cancer: Changing Epidemiology and New Approaches to Risk Assessment, Early Detection, and Prevention. *Gastroenterology*. 2023;164(5):752-65.
2. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology*. 2020;76(2):182.
3. Fernandes CJ, Leung G, Eads JR, Katona BW. Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors. *Gastroenterology Clinics*. 2022;51(3):625-47.
4. Yang M, Zeng L, Ke N-w, Tan C-l, Tian B-l, Liu X-b, et al. World Health Organization grading classification for pancreatic neuroendocrine neoplasms: a comprehensive analysis from a large Chinese institution. *BMC cancer*. 2020;20(1):1-11.
5. Lea D, Gudlaugsson EG, Skaland I, Lillesand M, Søreide K, Søreide JA. Digital image analysis of the proliferation markers Ki67 and phosphohistone H3 in gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: accuracy of grading compared with routine manual hot spot evaluation of the Ki67 index. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2021;29(7):499.
6. Kroneman TN, Voss JS, Lohse CM, Wu T-T, Smyrk TC, Zhang L. Comparison of three Ki-67 index quantification methods and clinical significance in pancreatic neuroendocrine tumors. *Endocrine pathology*. 2015;26:255-62.
7. Campbell F, Verbeke CS. *Pathology of the pancreas: a practical approach*: Springer Nature; 2020.
8. Esposito I, Karamitopoulou-Diamantis E. *Pathology of the Pancreas*. Krieken JHJMv, editor. Springer2022.
9. Tang LH. Pancreatic neuroendocrine neoplasms: landscape and horizon. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2020;144(7):816-28.
10. Modlin IM, Shapiro MD, Kidd M. Siegfried Oberndorfer: origins and perspectives of carcinoid tumors. *Human pathology*. 2004;35(12):1440-51.

11. Williams E, Sandler M. The classification of carcinoid tumours. *The Lancet*. 1963;281(7275):238-9.
12. Das S, Dasari A. Epidemiology, incidence, and prevalence of neuroendocrine neoplasms: are there global differences? *Current oncology reports*. 2021;23:1-7.
13. Lokuhetty D, White VA, Watanabe R, Cree IA. Digestive system tumours: International Agency for Research on Cancer; 2019.
14. Şencan İ, Kesinkılıç B. Türkiye kanser istatistikleri. TC Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu. 2017:19-44.
15. Klein AP. Pancreatic cancer epidemiology: understanding the role of lifestyle and inherited risk factors. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2021;18(7):493-502.
16. Hackeng WM, Assi HA, Westerbeke FH, Brosens LA, Heaphy CM. Prognostic and Predictive Biomarkers for Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Surgical Pathology Clinics*. 2022;15(3):541-54.
17. Akirov A, Larouche V, Alshehri S, Asa SL, Ezzat S. Treatment options for pancreatic neuroendocrine tumors. *Cancers*. 2019;11(6):828.
18. Tomita T. Significance of chromogranin A and synaptophysin in pancreatic neuroendocrine tumors. *Bosnian journal of basic medical sciences*. 2020;20(3):336.
19. Maleki Z, Nadella A, Nadella M, Patel G, Patel S, Kholová I. INSM1, a novel biomarker for detection of neuroendocrine neoplasms: cytopathologists' view. *Diagnostics*. 2021;11(12):2172.
20. Tanigawa M, Nakayama M, Taira T, Hattori S, Mihara Y, Kondo R, et al. Insulinoma-associated protein 1 (INSM1) is a useful marker for pancreatic neuroendocrine tumor. *Medical molecular morphology*. 2018;51:32-40.
21. Chen X, Guo C, Cui W, Sun K, Wang Z, Chen X. CD56 expression is associated with biological behavior of pancreatic neuroendocrine neoplasms. *Cancer Management and Research*. 2020:4625-31.

22. Fang JM, Shi J. A clinicopathologic and molecular update of pancreatic neuroendocrine neoplasms with a focus on the new World Health Organization classification. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2019;143(11):1317-26.
23. Zhang Y, Su H, Huang Y. The expression of CD57 immunoreactivity in endocrine cells of human pancreas. *Shi yan Sheng wu xue bao*. 1993;26(1):65-71.
24. Klöppel G, La Rosa S. Ki67 labeling index: assessment and prognostic role in gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms. *Virchows Archiv*. 2018;472:341-9.
25. Luchini C, Pantanowitz L, Adsay V, Asa SL, Antonini P, Girolami I, et al. Ki-67 assessment of pancreatic neuroendocrine neoplasms: Systematic review and meta-analysis of manual vs. digital pathology scoring. *Modern Pathology*. 2022;35(6):712-20.
26. Guilmette JM, Nosé V. Neoplasms of the neuroendocrine pancreas: an update in the classification, definition, and molecular genetic advances. *Advances in anatomic pathology*. 2019;26(1):13-30.
27. Assarzadegan N, Montgomery E. What is new in the 2019 World Health Organization (WHO) classification of tumors of the digestive system: review of selected updates on neuroendocrine neoplasms, appendiceal tumors, and molecular testing. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2021;145(6):664-77.
28. Li X, Gou S, Liu Z, Ye Z, Wang C. Assessment of the American Joint Commission on cancer 8th edition staging system for patients with pancreatic neuroendocrine tumors: a surveillance, epidemiology, and end results analysis. *Cancer medicine*. 2018;7(3):626-34.
29. Bałdys-Waligórska A, Nowak A. Neuroendocrine neoplasms of the digestive system-current classification and terminology. *Biuletyn Polskiego Towarzystwa Onkologicznego Nowotwory*. 2021;6(1):26-37.
30. Alipour Z, Sweeney JR, Zhang Q, Yang Z. Neuroendocrine neoplasms of the pancreas: diagnostic challenges and practical approach. *Advances in Anatomic Pathology*. 2023;30(1):58-68.
31. Konukiewicz B, Jesinghaus M, Kasajima A, Klöppel G. Neuroendocrine neoplasms of the pancreas: diagnosis and pitfalls. *Virchows Archiv*. 2022:1-11.

32. Wang W-Q, Zhang W-H, Gao H-L, Huang D, Xu H-X, Li S, et al. A novel risk factor panel predicts early recurrence in resected pancreatic neuroendocrine tumors. *Journal of Gastroenterology*. 2021;56:395-405.
33. Ye L, Ye H, Zhou Q, Li Z, Lin Q, Tan L, et al. A retrospective cohort study of pancreatic neuroendocrine tumors at single institution over 15 years: new proposal for low-and high-grade groups, validation of a nomogram for prognosis, and novel follow-up strategy for liver metastases. *International Journal of Surgery*. 2016;29:108-17.
34. Huguet I, Grossman AB, O'Toole D. Changes in the epidemiology of neuroendocrine tumours. *Neuroendocrinology*. 2016;104(2):105-11.
35. Tang LH, Untch BR, Reidy DL, O'Reilly E, Dhall D, Jih L, et al. Well-differentiated neuroendocrine tumors with a morphologically apparent high-grade component: a pathway distinct from poorly differentiated neuroendocrine carcinomas. *Clinical Cancer Research*. 2016;22(4):1011-7.
36. Basturk O, Tang L, Hruban RH, Adsay V, Yang Z, Krasinskas AM, et al. Poorly differentiated neuroendocrine carcinomas of the pancreas: a clinicopathologic analysis of 44 cases. *The American journal of surgical pathology*. 2014;38(4):437-47.
37. Klimstra DS. Noductal neoplasms of the pancreas. *Modern pathology*. 2007;20:S94-S112.
38. Taskin OC, Reid MD, Bagci P, Balci S, Armutlu A, Demirtas D, et al. Infiltration pattern predicts metastasis and progression better than the T-stage and grade in pancreatic neuroendocrine tumors: a proposal for a novel infiltration-based morphologic grading. *Modern Pathology*. 2022;35(6):777-85.
39. Kim H, Song KB, Hwang DW, Lee JH, Alshammary S, Kim SC. Time-trend and recurrence analysis of pancreatic neuroendocrine tumors. *Endocrine Connections*. 2019;8(7):1052-60.
40. Souche R, Hobeika C, Hain E, Gaujoux S. Surgical management of neuroendocrine tumours of the pancreas. *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(9):2993.
41. Wang M, Ding D, Qin T, Wang H, Liu Y, Liu J, et al. New staging classification for pancreatic neuroendocrine neoplasms combining TNM stage and WHO grade classification []. *Cancer Letters*. 2021;518:207-13.

42. Fukushima N. Neuroendocrine neoplasms of the pancreas: the pathological viewpoint. *J Pancreas (Online)*. 2017;28:216-20.
43. Han X, Xu X, Ma H, Ji Y, Wang D, Kuang T, et al. Clinical relevance of different WHO grade 3 pancreatic neuroendocrine neoplasms based on morphology. *Endocrine connections*. 2018;7(2):355-63.
44. Rindi G, Klersy C, Albarello L, Baudin E, Bianchi A, Buchler MW, et al. Competitive testing of the WHO 2010 versus the WHO 2017 grading of pancreatic neuroendocrine neoplasms: data from a large international cohort study. *Neuroendocrinology*. 2019;107(4):375-86.
45. Coelho S, Costa C, Santos AP, Souteiro P, Oliveira J, Oliveira J, et al. Pancreatic neuroendocrine neoplasms: survival trend analysis of a comprehensive center. *Endocrine Oncology*. 2022;2(1):32-41.
46. McCall CM, Shi C, Cornish TC, Klimstra DS, Tang LH, Basturk O, et al. Grading of well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors is improved by the inclusion of both Ki67 proliferative index and mitotic rate. *The American journal of surgical pathology*. 2013;37(11):1671.
47. Tang LH, Gonen M, Hedvat C, Modlin IM, Klimstra DS. Objective quantification of the Ki67 proliferative index in neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system: a comparison of digital image analysis with manual methods. *The American journal of surgical pathology*. 2012;36(12):1761-70.
48. Reid MD, Bagci P, Ohike N, Saka B, Seven IE, Dursun N, et al. Calculation of the Ki67 index in pancreatic neuroendocrine tumors: a comparative analysis of four counting methodologies. *Modern pathology*. 2015;28(5):686-94.
49. Dogukan FM, Yilmaz Ozguven B, Dogukan R, Kabukcuoglu F. Comparison of monitor-image and printout-image methods in Ki-67 scoring of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Endocrine Pathology*. 2019;30(1):17-23.
50. Basile ML, Kuga FS, Del Carlo Bernardi F. Comparison of the quantification of the proliferative index KI67 between eyeball and semi-automated digital analysis in gastrointestinal neuroendocrine tumors. *Surgical and Experimental Pathology*. 2019;2(1):1-5.

51. van Velthuysen M-LF, Groen EJ, Sanders J, Prins FA, Van Der Noort V, Korse CM. Reliability of proliferation assessment by Ki-67 expression in neuroendocrine neoplasms: eyeballing or image analysis? *Neuroendocrinology*. 2015;100(4):288-92.
52. Young HT, Carr NJ, Green B, Tilley C, Bhargava V, Pearce N. Accuracy of visual assessments of proliferation indices in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Journal of Clinical Pathology*. 2013;66(8):700-4.
53. Owens R, Gilmore E, Bingham V, Cardwell C, McBride H, McQuaid S, et al. Comparison of different anti-Ki67 antibody clones and hot-spot sizes for assessing proliferative index and grading in pancreatic neuroendocrine tumours using manual and image analysis. *Histopathology*. 2020;77(4):646-58.
54. Boukhar SA, Gosse MD, Bellizzi AM, Rajan KD A. Ki-67 proliferation index assessment in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors by digital image analysis with stringent case and hotspot level concordance requirements. *American journal of clinical pathology*. 2021;156(4):607-19.
55. Faviana P, Boldrini L, Gentile C, Erba PA, Sammarco E, Bartoli F, et al. Proposal for a New Diagnostic Histopathological Approach in the Evaluation of Ki-67 in GEP-NETs. *Diagnostics*. 2022;12(8):1960.
56. Satturwar SP, Pantanowitz JL, Manko CD, Seigh L, Monaco SE, Pantanowitz L. Ki-67 proliferation index in neuroendocrine tumors: Can augmented reality microscopy with image analysis improve scoring? *Cancer Cytopathology*. 2020;128(8):535-44.
57. Dere Y, Ozkaraca O, Cetin G, Dere O. Evaluation of an image-based automated detection system in detecting Ki67 proliferation index and correlation with the traditional eye-ball method in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2019;29:137-40.
58. Cottenden J, Filter ER, Cottreau J, Moore D, Bullock M, Huang W-Y, et al. Validation of a cytotechnologist manual counting service for the Ki67 index in neuroendocrine tumors of the pancreas and gastrointestinal tract. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2018;142(3):402-7.