

# Gastrik adenokarsinomlarda öngörüs el etmenler ve Ki-67 immünreaktivitesi ile karşılaştırılması

Ferda AKSEL (\*), Ebru ZEMHERİ (\*), Şeyma ÖZKANLI (\*), Deniz GÜR (\*), Ayşe BEYAZIT (\*)

## ÖZET

**Amaç:** Mide adenokarsinomlarının çeşitli prognostik faktörleri ile hücre sel proliferasyonu gösteren Ki-67 arasındaki ilişkiyi saptamak.

**Materyal ve metod:** Adenokarsinomları tümör tipi açısından Lauren sınıflamasına göre intestinal, diffüz, mikst, lenf nodu tutulumu açısından tutulumun olması (L1) veya olmaması (L0), tümör derinliği açısından TNM'ye göre pT1, pT2, pT3, nöral invazyon ve vasküler tutulum mevcudiyeti, nekroz varlığı ve inflamatuvar yanıtın varlığı yönünden sınıflandırılarak bu kriterlerin varlığı ve immünohistokimyasal olarak Ki-67 pozitivitesi karşılaştırıldı. Ki-67 pozitivitesi de boyanma olmayanlar K0, K1 <% 30 boyanma olanlar, K2 % 30-60 boyanma olanlar ve K3 >% 60 olarak sınıflandırıldı.

**Sonuçlar:** Olguların % 13.3'ü K0, % 33.3'ü K1, % 33.3'ü K2 ve % 20'si K3 olarak tespit edildi. Öngörüs el faktörlerle karşılaştırıldığında sadece inflamatuvar yanıt mevcudiyeti ile istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) anlamlı ilişki saptandı.

**Anahtar kelimeler:** Ki67, mide, adenokarsinom

Ki-67 imünreaktivitesi ile tespit edilen proliferasyon indeksinin pek çok habasette nüks, tedaviye yanıt, metastaz, hastalısız yaşam süresi ve sağ kalım gibi tümörün klinik davranışı üzerinde etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Gastrik adenokarsinomlarda da çeşitli öngörüs el etmenlerle Ki-67 immünreaktivitesinin ilişkisini gösteren çalışmalar vardır.

Bu çalışmada gastrik adenokarsinom tanısı almış 45 total veya subtotal gastrektomi olgusunda tümör öngörüs el etmenler olarak seçilen tümör tipi, evre, tümör de-

## SUMMARY

**Correlation of Ki67 immunoreactivity with histological prognostic factors in gastric adenocarcinoma**

**Aim:** To investigate the correlation of Ki67 immunoreactivity with histological prognostic parameters in gastric adenocarcinomas.

**Methods:** 45 stomach adenocarcinoma cases are re-evaluated and classified as intestinal, diffuse and mixed types according to Lauren classification. Presence and absence of lymph node metastasis is detected and grouped as L1 and L2 respectively. Depth of tumor invasion is determined according to TNM classification as pT1, pT2 and pT3. Perineural and vascular invasion, presence of necrosis and inflammatory stromal reaction are also evaluated. These prognostic parameters are compared with Ki67 proliferative index of the tumor. Tumors without Ki67 positivity (K0), tumors with less than 30% of immunoreactivity (K1), tumors expressing 30-60 % of immunoreactivity (K2) and tumors with a Ki67 index over 60 % (K3) are determined.

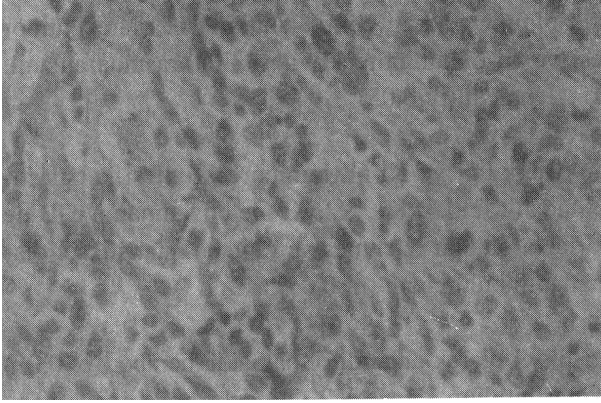
**Results:** 13.3 % of tumors were K0, 33.3 % were K1 and 20 % were K3. Ki67 index of these adenocarcinomas was not found to be correlated with other prognostic factors of stomach cancer. Only stromal inflammatory reaction statistically correlated with Ki67 immunoreactivity.

**Key words:** Ki67, stomach, adenocarcinomas

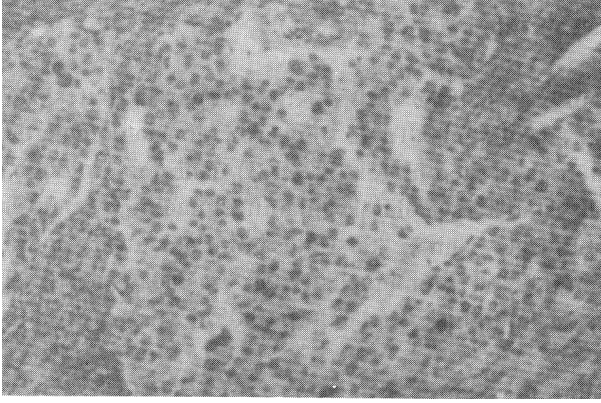
rinliği, vasküler tutulum, lenf nodu tutulumu, nekroz varlığı, inflamatuvar yanıt, perinöral invazyon gibi parametrelerin karşılıklı ilişkisi değerlendirilmeye çalışıldı.

## MATERYAL ve METOD

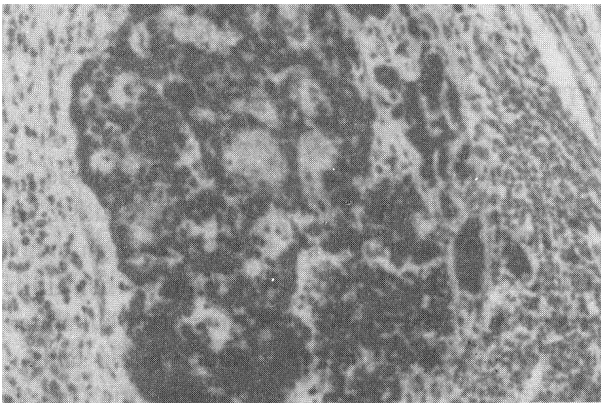
Bölümümüzde gastrik adenokarsinom tanısı alan 45 olgu çeşitli öngörüs el etmenlere göre tekrar değerlendirildi. Tümör tipi Lauren sınıflamasına göre diffüz, intestinal, mikst olarak sınıflandı. Lenf nod tutulumu olanlar L1 (sayısı gözönüne alınmadan), tutulum olmayanlar L0 olarak gruplandı. İnvazyon için TNM sınıflanmasından yararlandı. Buna göre pT1:



Şekil 1. Mide adenokarsinomunda zayıf Ki67 immünreaktivitesi (K1, Ki67<30%).



Şekil 2. Mide adenokarsinomunda orta derecede Ki67 immünreaktivitesi (K2, % 30<Ki67<60%).



Şekil 3. Mide adenokarsinomunda kuvvetli Ki67 immünreaktivitesi (K3, Ki67>60%).

tümör lamina propriyada sınırlı, pT2: mükülaris propriya invazyonu var, pT3: seroza invaze ancak komşu organların tutulmamış olması şeklinde sınıflandırıldı. İnflamatuvar yanıt açısından tümör ile normal doku arasında lenfositik infiltrasyonun az veya hiç olmaması ve var olması dikkate alındı.

Tümörün proliferasyon aktivitesini değerlendirmek için kullanıma hazır anti-Ki67 (MIB-1, Lab Vision, Fremont, CA) standart avidin-biotin tekniği ile immünohistokimyasal olarak boyandı. Boyanma olmayan olgular K0, < % 30 boyanma olanlar K1 (Şekil 1), % 30-60 boyanma olanlar K2 (Şekil 2), > % 60 boyanma olanlar K3 (Şekil 3) olarak sınıflandırıldı.

## BULGULAR

45 adenokarsinom olgusunun 35'i intestinal tip, 9'u difüz tip, biri mikst tip olarak izlendi. Olguların üçü evre 1, 19'u evre 2, 23'ü evre 3 idi. Bir olgu T1, 8 olgu T2, 36 olgu T3 olarak izlendi; 17 olguda vasküler tutulum yokken, 28 olguda vasküler tutulum mevcuttu; 15 olgu L0, 30 olgu L1 idi; 14 hastada nekroz mevcut iken, 31 olguda nekroz yoktu. İnflamatuvar yanıtın az veya hiç olmadığı olgu sayısı 28, inflamatuvar yanıtı olan olgu

Tablo 1. Tümör tipi ve Ki-67 immünreaktivitesi (K) arasındaki ilişki.

	İntestinal	Diffüz	Mikst
K0	5 (% 83.3)	3 (% 16.6)	0
K1	12 (% 80)	3 (% 20)	0
K2	10 (% 66.6)	5 (% 33.3)	0
K3	8 (% 88.8)	0	1 (% 11.1)

Tablo 2. Tümör evre ve Ki-67 immünreaktivitesi (K) arasındaki ilişki.

	Evre 1	Evre 2	Evre 3
K0	1 (% 16.6)	1 (% 16.6)	4 (% 66.6)
K1	1 (% 6.6)	8 (% 53.3)	6 (% 40.0)
K2	1 (% 6.6)	5 (% 33.3)	9 (% 60.0)
K3	0	5 (% 55.5)	4 (% 44.4)

Tablo 3. Tümör derinliği ve Ki-67 immünreaktivitesi (K) arasındaki ilişki.

	PT1	PT2	PT3
K0	0	1 (% 16.6)	5 (% 83.3)
K1	1 (% 6.6)	3 (% 20.0)	11 (% 73.3)
K2	0	1 (% 6.6)	14 (% 93.3)
K3	0	3 (% 33.3)	6 (% 66.6)

Tablo 4. Vasküler tutulum ve Ki-67 immünreaktivitesi (K) arasındaki ilişki.

	Vasküler tutulumu yok	Vasküler tutulumu var
K0	1 (% 16.6)	5 (% 83.3)
K1	5 (% 33.3)	10 (% 66.6)
K2	6 (% 40.0)	9 (% 60.0)
K3	5 (% 55.5)	4 (% 44.4)

**Tablo 5. Lenf nodu tutulumu ve Ki-67 immünreaktivitesi (K) arasındaki ilişki.**

	Lenf nodu tutulumu yok (L0)	Lenf nodu tutulumu var (L1)
K0	2 (% 33.3)	4 (% 66.6)
K1	5 (% 33.3)	10 (% 66.6)
K2	7 (% 46.6)	8 (% 53.3)
K3	1 (% 11.1)	8 (% 88.8)

**Tablo 6. Nekroz varlığı ve Ki-67 immünreaktivitesi (K) arasındaki ilişki.**

	Nekroz yok	Nekroz var
K0	5 (% 83.3)	1 (% 16.6)
K1	10 (% 66.6)	5 (% 33.3)
K2	10 (% 66.6)	5 (% 33.3)
K3	6 (% 66.6)	3 (% 33.3)

**Tablo 7. İnflamatuvar cevap ve Ki-67 immünreaktivitesi (K) arasındaki ilişki.**

	İnflamatuvar cevap yok	İnflamatuvar cevap var
K0	4 (% 66.6)	2 (% 33.3)
K1	5 (% 33.3)	10 (% 66.6)
K2	12 (% 80.0)	3 (% 20.0)
K3	7 (% 77.7)	2 (% 22.2)

**Tablo 8. Perinöral tutulum ve Ki-67 immünreaktivitesi (K) arasındaki ilişki.**

	Perinöral tutulum yok	Perinöral tutulum var
K0	1 (% 16.6)	5 (% 83.3)
K1	8 (% 53.3)	7 (% 46.6)
K2	6 (% 40.0)	9 (% 60.0)
K3	4 (% 44.4)	5 (% 55.5)

sayısı 17 olarak saptandı. Olguların 19'unda perinöral tutulum varken 26'sında tutulum yoktu. Uygulanan Ki-67 boyamasında olguların % 13.3'ü K0, % 33.3'ü K1, % 33.3'ü K2 ve % 20'si K3 olarak izlendi.

Tümör tipi ile immünreaktivite karşılaştırıldığında (Tablo 1) K1 ve K2 tipinde boyanmanın intestinal tipte daha çok olduğu izlendi. K3 tipinde boyanma da intestinal tipte daha çok iken diffüz tipte hiç boyanma izlenmedi. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde tümör tipi ile Ki-67 immünreaktivitesi arasında anlamlı ilişki izlenmedi ( $p>0.005$ ).

Tümör evresi ile Ki-67 karşılaştırıldığında (Tablo 2) K1 ve K3 tipinde boyanmasını evre 2, K2 tipinde boyanmanın evre 3'te daha fazla olduğu tüm boyanmaların

(K1, K2, K3) evre 1 tümörlerde Ki67 indeksinin daha düşük olduğu dikkati çekti. İstatistiksel olarak tümör evresi ve Ki-67immünreaktivitesi (K) arasında anlamlı ilişki izlenmedi ( $p>0.05$ ).

Tümör derinliği ve Ki-67 immünreaktivitesi karşılaştırıldığında (Tablo 3) K1, K2, K3 ile boyanmanın pT3'de daha fazla olduğu izlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ).

İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber ( $p>0.05$ ) vasküler tutulum K1 ve K2 tipindeki boyanmada daha çok izlendi (Tablo 4). Lenf nodu tutulumu ile Ki-67 indeksi karşılaştırıldığında (Tablo 5) lenf nodu tutulumu olan olguların olmayanlara göre K1, K2, K3 tipinde daha fazla boyanma gösterdiği izlendi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Tümörlerde nekroz varlığı Ki-67 immünreaktivitesi ile karşılaştırıldığında (Tablo 6) nekroz olmayan olgularda immünreaktivitenin (K1, K2, K3) daha fazla olduğu, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ( $p>0.005$ ) dikkati çekti. Tümöre karşı oluşan inflamatuvar yanıtın varlığı ile Ki-67 immünreaktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ( $p<0.05$ ).

Tümörde perinöral invazyon varlığı (Tablo 8) Ki-67 immünreaktivitesi ile karşılaştırıldığında K1 ve K3 tipinde tutulum olan ve olmayan olgu sayıları hemen hemen eşit izlendi. Sadece K2 tipinde tutulum olanlarda daha fazla boyanma izlenmekte olup bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ).

## TARTIŞMA

Gastrik adenokarsinomlarda diğer tüm habasetlerde olduğu gibi nüks, tedaviye yanıt, metastaz, hastalısız yaşam ve sağ kalım gibi tümörün klinik davranışın tümörün hücrel proliferasyonu ile yakından ilişkilidir. Hücrel proliferasyonu değerlendirmek için kullanılan çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bunlar mitoz sayımı, akım sitometrik yöntem ile değerlendirilen S faz fraksiyonu, AgNOR sayımı, Thymidine Labelling Index ve DNA replikasyonu ile ilgili nükleer belirteçlerin tespiti (Ki-67, PCNA)'dir.

Ki-67 395 kd ağırlığında olan bir protein olup, hücre çekirdeği ile ilgili bir antikoru tanımlanmıştır. Gerdes ve ark. sürekli bölünmekte olan hücrelerde Ki-67 antijeni-

nin G0 hariç hücre siklusunun tüm evrelerinde eksprese olduğunu, bunun yanında G0'dan G1'in erken safhasına giren, dinlenmekte olan-çoğalmayan hücrelerde Ki-67 antijeninin olmadığını göstermişlerdir (1). Ki-67 G2M fazında en yüksek düzeyde bulunmaktadır ve immün-histokimyasal reaktivitesi monoklonal veya poliklonal antikörler yardımıyla nükleusta diffüz veya noktasal boyanma şeklinde gösterilebilir (2).

Çalışmamızdaki 45 olgunun 39'unda Ki-67 immünreaktivitesi izledik. M ller ve ark., gastrektomi materyallerinin farklı bölgelerinden (tümör, invazyon alanı, rastgele bir alan) yapılan  rneklemelemlerde farklı oranlarda proliferasyon indeksleri saptamışlardır. Bu çalışmada tümöral alandan alınan örneklemlerde maksimum % 51.3 oranında reaktivite izlenmiştir (3). Bizim alışmamızda sadece tümöral alanlar örneklendi ve literatür bilgilerine oranla daha yüksek (maksimum % 70) oranda immünreaktivite izeldik.

Ramires ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada (4) bizim çalışmamızla uyumlu olarak tümörün tipi ve Ki-67 immünreaktivitesi arasında anlamlı ilişki saptanamamıştır. Ancak, Miller ve ark. bu ilişkiyi istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır (3).

Histolojik evre, invazyon derinliği, lenf nodu tutulumu ve vasküler tutulum tümör prognozunu direkt etkileyen faktörlerdir. Bu  ng r sel etmenlerle Ki-67 immünreaktivitesi arasında literatür bulguları ile uyumlu olarak anlamlı bir ilişki saptamadık (3,5,6,7,8,9). Kikuyama ve ark. gastrik karsinomları differansiye ve indifferansiye olarak iki gruba ayırmış ve yüksek Ki-67 indeksinin (% 55) indifferansiye tümörlerde kötü prognozun bağımsız bir göstergesi olduğunu tespit etmişler ve indifferansiye tümörlerde lenf nodu metastazı ile Ki-67 indeksi arasında korelasyon saptamışlardır (6,7). Ramires ve ark. t -

m r n yüzeyel ve derin kısımlarını ayrı ayrı değerlendirmiş ve derin kısımlarda istatistiksel olarak anlamlı olmak üzere Ki-67 imm nreaktivitesini yüksek bulmuşlardır (4). Nekroz ve perinöral tutulum mevcudiyetini Ki-67 immünreaktivitesi ile uyumlu bulmadık. Literatürde bu kriterlere ait çalışma mevcut değildi.

Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı bulduğumuz tek faktör inflamatuvar yanıtın varlığı idi. Ancak, literatürde bununla ilgili bir çalışma bulamadık.

Sonuç olarak, Ki-67'nin rutin olarak bir  ng r sel etmen olarak kullanılabilmesi için daha geniş seriler ile çalışma yapılması gerektiği düşüncesindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. **Schwartz R, Gerdes J, et al:** Detemination of the growth fraction in cell suspensions by flow cytometry using the monoclonal antibody Ki-67 J. Immunol Methods 90:65-70, 1986.
2. **Delahunt B, Bethwaite PB, et al:** "Proliferation of RCC assessed by fixation-resistant polidonal Ki-67 antibody labelling". Cancer (75):2714-9, 1995.
3. **W. M ller, A: Schneiders** at all: İmmunohistochemical study on the prognostik valve of MIB 1 in gastric carcinoma B J Cancer (1996) 74, 759, 765.
4. **Ramires M, David L, et al:** Ki-67 labelling index in gastric carcinomas. Ann immunohistochemical study using double steinning for the evaluation of the proliferatif activity of diffuse type carcinomas J Pathol 182(1):62-7, 1997.
5. **Hoang C, Poliuka M, et al:** İmmunohistochemical detection of cell proliferation in gastric carcinomas with the monoclonal antibody Ki-67. A study of 24 cases. Histol Histopathol 8(1):149-53, 1993.
6. **Kikuyama S, Kubato T, et al:** Ki-67 antigen expression in relation to clinicopathological variables and prognosis in gastric cancer Oncol Rep 5(4):867-70, 1998.
7. **Ramires M, David L, et al:** Ki-67 Labelling index in gastric carcinomas. An immunohistochemical study using for the evaluation of the proliferatif activity of diffuz-type carcinomas. J Pathol 182(1):62-7, 1997.
8. **De Manzoni G, Verlato G, et al:** İmmunohistochemical study on the prognostik valve of the expression of laminin and Ki- 67 receptors in advanced gastric cancer. G Chir 19(8-9):323-8, 1998.
9. **De Manzoni G, Verlato G:** Study on Ki-67 İmmunoreactivity as a prognostik indicator in patients with advanced gastric cancer. Jpn J Clin Oncol 28(9):534, 1998.