

Kolorektal Adenokarsinomlarda Nöroendokrin Diferansiyasyon-Prognoz İlişkisi

I. Ebru ZEMHERİ (*), Hale ONMUŞ (**), H. Deniz GÜR (*), Mahmut ZEMHERİ (***), Ferda AKSEL (*), Şeyma MAYYAN (*)

ÖZET

Kolorektal adenokarsinomlarda nöroendokrin diferansiyasyon varlığının prognostik rolünü belirlemek amacı ile 45 kolorektal adenokarsinom olgusuna ait H&E kesitler, bilinen prognostik faktörlerden tümör lokalizasyonu (rektum/kolon), müsin pozitivitesi (% 50 üzerinde müsin içerenler müsinöz, % 50'den daha az içerenler nonmüsinöz), tümör grade, stage (Astler-Coller), lenf nodu tutulumu pozitif lenf nodu olmayanlar L0, 1-3 pozitif olanlar L1, 4'den fazla pozitif olanlar L2 olarak değerlendirildi. Nöroendokrin diferansiyasyonu değerlendirmek için nöronspesifik enolase (NSE) ve Chromogranin A (CgA) tümörlü bloklara uygulandı. NSE için, N0:boyanma olmayanlar, N1:boyanma olanlar, CgA için, C0:boyanma olmayanlar, C1:1-4 tümör hücresinde boyanma olanlar, C2:4'ün üzerinde tümör hücresinde boyanma olanlar olarak değerlendirildi. Olguların 11'inde (% 24.4) CgA ve 8'inde (% 17.8) NSE ile immünreaktivite izlenmiştir. Sonuç olarak NSE immünreaktivitesinin sadece stage B2 ile ilişkili olduğunu ($p<0.05$, $r=0.34$), CgA ile immünreaktivitesinin tüm faktörler ile ilişkisiz olduğunu saptadık.

Anahtar kelimeler: Kolorektal adenokarsinom, NSE, CgA

SUMMARY

Prognostic Value of Neuroendocrine Differentiation in Colorectal Adenocarcinomas

In order to define the prognostic value of neuroendocrine differentiation in colorectal adenocarcinomas, H&E sections of 45 colorectal adenocarcinoma cases are evaluated with the known prognostic factors such as tumour localization (rectum/colon), mucin positivity (tumours with more than 50 % mucin positivity are considered as mucinous/tumours with less than 50 % mucin positivity are considered as nonmucinous), tumour grade, tumour stage (Astler-Coller), involvement of lymph nodes tumours without lymph node involvement are L0, tumours with 1 to 3 lymph node involvement are L1, tumours with more than 4 lymph node involvement are L2. In 11 cases CgA is positive (24.4 %) and in 8 cases NSE is positive (17.8 %). As a result, we detected that NSE correlated with only stage B2 ($p<0.05$, $r=0.34$), but CgA uncorrelated with whole prognostic factors

Key words: Colorectal adenocarcinoma, NSE, CgA

Kolorektal karsinomların farklı prognostik özellikleri olan pek çok çeşidi vardır. Kolorektal karsinomlarda histopatolojik olarak adenokarsinom tanısı alan olgularda nöroendokrin diferansiyasyonun lokalizasyon, tümör grade'i, stage'i, lenf nodu durumu, müsinöz adenokarsinom olması gibi prognostik faktörler ile ilişkisi tartışmalıdır.

Çalışmamızda SSK Göztepe Hastanesi Cerrahi Klinik'lerinde opere edilen ve laboratuvarımızda adenokarsinom tanısı alan 45 kolorektal adenokarsinom olgusunda Cromogranin A (CgA) ve Nöron Spesifik Enolaz (NSE) kullanarak nöroendokrin diferansiyasyonun sıklığını ve bilinen prognostik faktörler ile karşılaştırarak prognozdaki rolünü değerlendirmeyi amaçladık.

MATERYAL ve METOD

45 kolorektal adenokarsinom olgusunda, tümör lokalizasyonu (kolon, rektum) tümör grade'i (WHO), tümör stage'i (Astler-Coller), müsinöz adenokarsinom olması, lenf nodu metastazının varlığını değerlendirdik.

Müsin bulunumu : Tümörün % 50'sinden azında müsin bulunanları nonmüsinöz ve % 50'sinden çoğunda müsin bulunanları da müsinöz adenokarsinom olarak değerlendirdik.

Lenf nodu tutulumu: Lenf nodu tutulumu yoksa L₀, 1-3 pozitif lenf nodu tutulumu varsa L₁, 4'den fazla lenf nodu tutulumu var ise L₂ olarak grupladık.

Nöroendokrin diferansiyasyonu değerlendirmek için nöronspesifik enolase (NSE-monoklonal Ab (mouse)) ve Chromogranin A (rabbit anti-human) antikorlarını "Streptavidin-Biotin kompleks" yöntemi ile tümörlü bloklara uyguladık. Pozitif kontrol olarak ise karsinoid tümörü (apendiks) kullandık.

İmmünreaktiviteyi değerlendirirken NSE için, sitoplazmik boyanma gösteren hücre sayısı dikkate alınmaz. N0:boyanma olmayanlar, N1:boyanma olanlar olarak gruplara ayırdık. CgA ile sitoplazmik boyanma saptanan hücreleri bir büyük büyütme sahasında sayıp ortalamasını esas aldık. C0:boyanma olmayanlar, C1:1-4 tümör hücresinde boyanma olanlar, C2:4'ün üzerinde tümör hücresinde boyanma olanlar olarak değerlendirdik.

BULGULAR

Bu çalışmada kolorektal adenokarsinomlu 45 olguyu prognostik faktörlerine göre sınıflandırdık. Bulgular Tablo 1'de sunulmuştur.

İmmünohistokimyasal bulgular:

CgA: 45 olgunun 34'ünde (% 75.6) boyanma izlemedik (C0). 6 olguda C1 (% 13.3), 5 olguda C2 (% 11.1) tipinde boyanma izledik. C1 olguların 3'ü (% 50) rektum, 3'ü (% 50) kolon, C2 olguların 3'ü (% 60) rektum, 2'si (% 40) kolondaydı ve bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). C1 olguların 2'si (% 33.3) grade I, 4'ü (% 66.7) grade II, C2 olguların 4'ü (% 80) grade II, 1'i (% 20) grade III'dü ve grade II tümörler grade I ve II'e oranla daha fazla immünreaktivite göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Stage ilişkisi; C1 olguların, 5'ini (% 83.3) stageB2, 1'ini (% 16.7) stageC2 olarak izlerken, stageA, stageB1, stageC1'de immünreaktivite izlemedik. C2 olguların 1'ini

(% 20) stageA, 3'ünü (% 60) stageB2, 1'ini (% 20) stageC2 bulduk. StageB1, stageC1'de immünreaktivite izlemedik. Hem C1 tipi hem de C2 tipi boyanmayı, stage B2'de daha yoğun olarak izlememize rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Müsinöz adenokarsinom ile ilişkisi; C1 olguların 4'ü (% 66.7) nonmüsinöz, 2'si (% 33.3) müsinöz, C2 olguların 5'i (% 100) nonmüsinöz'dü ve istatistiksel anlamlı fark bulmadık ($p>0.05$). Lenf nodu tutulumu; C1 olguların tümünü L0, C2 olguların 4'ünü L0, 1'ini (% 20) L1 bulduk ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlemedik ($p>0.05$).

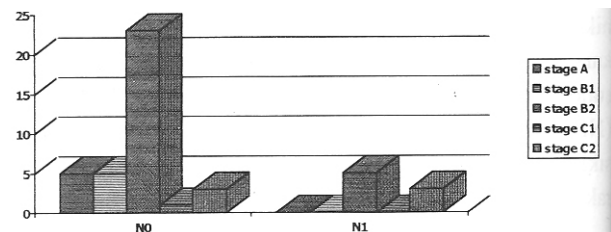
NSE: 45 olgunun 37'sinde (% 82.2) boyanma izlemedik (NO). 8 olguda (% 17.8) NSE ile immünreaktivite (N1) izledik. N1 olguların 5'i (% 62.5) rektum, 3'ü (% 37.5) kolonda yerleşmişti ve bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). N1 olguların 5'ini (% 62.5) grade II, 3'ünü (% 37.5) grade III olarak bulmuş olup grade I'de immünreaktivite izlemedik. Grade II tümörlerde grade I ve III'e oranla immünreaktivite daha yoğundu ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Stage ilişkisi; N1 olguların 5'i (% 62.5) stageB2, 3'ü (% 37.5) stageC2 idi. StageA, stageB1, stageC1 olgularda NSE ile immünreaktivite izlemedik. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$, $r=0.34$) (Grafik 1). Müsinöz adenokarsinom ile ilişkisi; N1 olguların 2'sinde (% 25) müsinöz karsinom izledik. Geri kalanı nonmüsinöz tümörlerdeydi ve bu da istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p>0.05$). Lenf nodu tutulumu; N1 olguların 5'ini (% 62.5) L0, 3'ünü (% 37.5) L1, olarak değerlendirdik ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlemedik ($p>0.05$). İmmünohistokimyasal boyanma sonuçları Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 1. Prognostik faktörler.

Parametreler	Sayı
Tümör Lokalizasyonu	
Rektum	21 (% 46.7)
Kolon	24 (% 53.3)
Tümör grade	
Grade 1	5 (% 11.1)
Grade 2	25 (% 55.6)
Grade 3	15 (% 33.3)
Tümör stage	
Stage A	5 (% 11.1)
Stage B1	5 (% 11.1)
Stage B2	28 (% 62.2)
Stage C1	1 (% 2.2)
Stage C2	6 (% 13.3)
Lenf nodu tutulumu	
Tutulumsuz (L1)	37 (% 82.2)
1-3 pozitif nod (L1)	6 (% 13.3)
4<pozitif nod (L2)	2 (% 4.4)
Müsin Bulunumu	
Nonmüsinöz	36 (% 80)
Müsinöz	9 (% 20)

TARTIŞMA

Kolon ve rektumdaki nöroendokrin sistemde diffüz veya dağınık olarak nöroendokrin hücreler bulunduğu uzun yıllardır bilinmektedir. Feyrter, gastrointestinal sistemde H&E ile boyanmada berrak sitoplazmalı izle-



Grafik 1. NSE immünreaktivitesi ve stage ilişkisi ($p<0.05$, $r=0.34$).

Tablo 2. İmmünreaktivitenin prognostik faktörler ile karşılaştırılması.

	C1	C2	N1
Rektum	3 (% 50)	3 (% 60)	5 (% 62.5)
Kolon	3 (% 50)	2 (% 40)	3 (% 37.5)
Grade 1	2 (% 33.3)	-	-
Grade 2	4 (% 66.7)	4 (% 80)	5 (% 62.5)
Grade 3	-	1 (% 20)	3 (% 37.5)
Nonmüsinöz	4 (% 66.7)	5 (% 100)	6 (% 75)
Müsinöz	2 (% 33.3)	-	2 (% 25)
Stage A	-	1 (% 20)	-
Stage B1	-	-	-
Stage B2	5 (% 83.3)	3 (% 60)	5 (% 62.5)
Stage C1	-	-	-
Stage C2	1 (% 16.7)	1 (% 20)	3 (% 37.5)
Nod negatif	6 (% 100)	4 (% 80)	5 (% 62.5)
1-3 pozitif	-	1 (% 20)	3 (% 37.5)
4<pozitif nod	-	-	-

nen hücrelerin periferik endokrin veya parakrin hücreler olduğunu öne sürmüştür (1). Pearse tarafından yapılan detaylı çalışmalarda, nöroendokrin hücrelerin “amine precursor uptake and decarboxilation (APUD)” fonksiyonuna sahip olduğunu izlemiştir. APUD teorisi ile bazı endokrin hastalıkların fizyopatolojileri ve ektopik hormon üretiminin fizyolojisi gün ışığına çıkarılmıştır (2). Le Dourain ve ark. tarafından APUD teorisi reddedilmiştir (3). Daha sonra Pearse ve Takor tarafından yapılan çalışmalarda 40 ayrı hücre bulunmuş, bunların embriyolojik orjinli oldukları ve biyolojik-patolojik olarak önemli oldukları açıklanmıştır. Pearse ve Takor, nöroendokrin hücrelerin neoplazmlarını başlıca 2 gruba ayırmıştır (2).

- a. Nöral tip: Nöroblastom, feokromasitoma, paraganglioma vs.
- b. Epitelial tip: Karsinoid, nöroendokrin karsinom, küçük hücreli karsinom, nöroendokrin diferansiyasyon gösteren tümörler.

Epitelial tipte nöroendokrin diferansiyasyon gösteren tümör ile diğerlerinin ayırıcı tanısı aşağıda yapılmıştır. Buna göre:

1. Tipik adenokarsinomda özellikle müsinöz tipte dağılık endokrin hücreler izlenir. Bu hücreler tümörün prognoz ve doğal seyri etkilemez. Tüm adenokarsinomların % 16-50'sinde kromogranin gibi immünohistokimyasal bir teknikle bu dağılık endokrin hücreler gösterilebilir (4).
2. Tipik adenokarsinom ve keskin sınırla ayrılan endokrin diferansiyasyon sergileyen alanlar mikst olarak bulunur. Bu tümörlerin kript bazalinde lokalize, endoderm orjinli multipotansiyel hücrelerden köken aldığı

açıklanmıştır (4).

3. Nöroendokrin karsinom, küçük hücreli karsinomdan daha büyük hücrelerin oluşturduğu organoid görünüme sahiptir. Bu tümör küçük hücreli karsinomun intermediyat varyantı, atipik karsinoid, yüksek grade'li nöroendokrin karsinom olarak da isimlendirilir (4).

4. Küçük hücreli karsinomların çoğu sağ kolonda lokalizedir ve % 1'den az görülür. Prognoz kötüdür ve erken dönemde lenf nodu ve karaciğer metastazı izlenir (4).

5. Tipik karsinoid tümör histolojik paterni intestinal karsinoid tipinde olan nöroendokrin sistem neoplazmları için kullanılır (2,4).

Nöroendokrin neoplazmlar ve diferansiyasyonun tanısı için konvansiyonel ve immünohistokimyasal boyamalar yapılmaktadır. Konvansiyonel olarak Grimellus gibi gümüş boyaları, Churunkian-Schenk gibi arjinofilik boyalar ve Masson-Fontana gibi arjentaffin boyalar yapılmakta ve nöroendokrin neoplazmların tanısında yardımcı olmaktadır. İmmünohistokimyasal belirteçlerden öncelikle NSE, CgA, sinaptofizin tercih edilmekle beraber ek olarak bombesin, gastrin releasing peptid (GRP), Leu7, neural cell adhesion molecule (N-CAM) kullanılmaktadır (1).

Gastrointestinal dokularda arjentaffin ve arjirofil hücrelerin bulunduğu bilinmektedir. Bu hücreler spesifik amin ve peptid immün boyalar ile boyanmaktadır. Bunlar tipik olarak bazal yüze doğru artan oranda immün boyanma gösterirler. Aksine, kanser dokusundaki Cg immün reaktif hücrelerde kaba ve dağılık immün boyama görülür. Bu hücreler sıklıkla hiperkromazi, pleomorfizm gösteren neoplastik natüredir. Bunlar, barsak duvarının daha derin kısmında (submukozadan serozaya kadar) yerleşirler. İmmün reaktif hücreler bu hücrelerin dağılık paterni ile korelasyon gösterir (5).

Nöroendokrin diferansiyasyonun prognoza etkisi için yapılan bir çalışmada, tümörün grade'i ile endokrin hücreler arasında korelasyon olmadığı bildirilmiştir (4). Bir başka seride ise, endokrin hücreler bulunan tümörlerin, bu hücrelerin bulunmadığı tümörlerden daha kötü gidişe sahip olduğu belirtilmiştir (6).

Kolorektal karsinomlarda tümör lokalizasyonunun prognostik etkisi tartışmalıdır. Sol kolondaki tümörlerin daha iyi prognoza sahip oldukları ve sigmoid ile rektum yerleşimli tümörlerin prognozlarının kötü olduğu bildirilmiştir (4). Cg immünoaktivitesi ile lokalizasyonun iliş-

kisine yönelik çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Hamada ve ark., Cg-pozitif tümör hücrelerinin rektumda kolondan daha fazla olduğunu saptamış, ancak önemli bir fark bulmamışlardır (5). Cg ve NSE ile yapılan çalışmalarda immünreaktif hücrelerin kolon tümörlerinde daha fazla bulunduğu ve rektum tümörlerinin daha kötü prognoza sahip olmalarına rağmen daha az immünreaktif hücre içerdiği bildirilmiştir (5,6,7). Kim ve ark., kötü prognozlu tümörlerin proksimalde daha sık yerleştiğini izlemiş, ancak nöroendokrin diferansiyasyon açısından fark izlememişlerdir (8). Syversen ve ark., NSE pozitivitesinin midgut'ta daha fazla olduğunu ve nöroendokrin diferansiyasyon gösteren tümörlerin kötü prognoza sahip olduklarını savunmuşlardır (9). Çalışmamızda, lokalizasyona göre değerlendirdiğimizde nöroendokrin diferansiyasyon rektumda hafif daha fazla saptadık, ancak bunu istatistiksel olarak anlamlı bulmadık. Bulgumuzun literatürdeki farklı sonuçlar ile uyumlu olduğunu düşündük.

Yapılan çalışmalarda, grade III olgularda nöroendokrin diferansiyasyonun daha fazla olduğu, ancak istatistiksel olarak anlam ifade etmediği bildirilmiştir (5-7,10). Hem CgA hem de NSE ile, grade 2 olgularda daha fazla boyanma izlememize rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlemedik ($p>0.05$). Olgularımızın çoğunun (% 55.6) grade II olması nedeni ile immünreaktivitenin bu grupta daha fazla izlenmiş olabileceğini düşündük.

De bruine ve ark., müsinöz karsinomlarda nöroendokrin diferansiyasyonu araştırmış ve müsinöz karsinomlu olgularda daha fazla nöroendokrin diferansiyasyonu belirlemiştir (11). Bizim çalışmamızda nöroendokrin diferansiyasyon nonmüsinöz karsinomlarda daha fazla olup, literatür bilgileri ile uyumlu değildi. Olgularımızın % 80'inin nonmüsinöz tümöre sahip olmasının sonucu etkilediğini ve literatür bilgileri ile uyumlu sonuçlar elde etmemizi engellediğini düşündük.

NSE ile immünreaktivitede stageB2'de olgularda immünreaktiviteyi daha fazla izledik ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$, $r=0.34$), CgA ile ise yine stage B2'de daha yoğun boyanma izledik. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulmadık ($p>0.05$). Literatürde, çeşitli stage'leme sistemleri ile yapılmış çalışmalar mevcut olup, stage arttıkça pozitif hücre sayısının art-

tığı, ancak bu artışın önemsiz olduğu tespit edilmiştir (5-7). de Bruine ve ark. stageC tümörlerde CgA immünreaktivitesinin yüksek olduğunu bildirmiş ve bunun kötü prognozun bağımsız prognostik indikatörü olarak kabul edilebileceğini bildirmişlerdir (11). Bizim çalışmamızdaki sonuca, Stage B2 (% 62.2) olgularımızın daha çok olmasının neden olabileceğini düşündük.

Bağımsız prognostik faktör olarak lenf nodu metastazını ele aldığımızda nöroendokrin diferansiyasyon gösteren olgularımızda metastaz saptanma oranının daha az olduğunu gözledik.

Sonuç olarak, kolorektal adenokarsinomlarda nöroendokrin diferansiyasyonun prognostik faktörler ile karşılaştırdığımızda NSE immünreaktivitesinin stageB2 tümörlerde istatistiksel olarak da anlamlı olan yoğunlaşması dışında anlamlı bir bulgu izlemedik. Sonuçlarımızın literatür bilgileri ile uyumlu olmamasının olgu sayımızın az olması, farklı prognostik faktörlere sahip olguların eşit sayıda olmamasına bağlı olabileceğini düşündük.

KAYNAKLAR

1. Sternberg SS: Diagnostic surgical pathology, 2th ed; Raven Press, New York, 1994.
2. Pearse AG, Takor-Takor T: Embriology of the diffuse neuroendocrine system and its relationship to the common peptides. Fed Proc 38:2288-2294, 1979.
3. Le Dourain NM: The neural crest. Cambridge England: Cambridge University Press, 1982.
4. Rosai J: Ackerman's Surgical Pathology, 8th ed; The CV Mosby Company, Missouri, 1995.
5. Hamada Y, Oishi A, Shoji T: Endocrine cells and prognosis in patients with colorectal carcinoma. Cancer 69:2641-2646, 1992.
6. Secco GB, Campora E, Fardelli R: Chromogranin-A expression in neoplastic neuroendocrine cells and prognosis in colorectal cancer. Tumori 82:390-393, 1996.
7. Lapertosa G, Baracchini P, Delucchi F: Prevalence and prognostic significance of endocrine cells in colorectal adenocarcinomas. Pathologica 86:170-173, 1994.
8. Kim H, Jung JK, Park JH: Immunohistochemical characteristics of colorectal carcinoma with DNA replication errors. J Korean Med Sci 11(2):137-143, 1996.
9. Syversen U, Halvorsen T, Marvik R: Neuroendocrine differentiation in colorectal carcinomas. Eur J Gastroenterol Hepatol 7(7):667-674, 1995.
10. Park JG, Choe GY, Helman LJ: Chromogranin-A expression in gastric and colon cancer tissues. Int J Cancer 51:189-194, 1992.
11. de Bruine AP, Wiggers T, Beek C: Endocrine cells in colorectal adenocarcinomas: incidence, hormone profile and prognostic relevance. Int J Cancer 54:765-771, 1993.