

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**GASTROİNTESTİNAL NÖROENDOKRİN
TÜMÖRLERDE GLUKAGON LIKE PEPTİD-2
RESEPTÖR EKSPRESYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. ŞULE NAMLI

**GASTROENTEROLOJİ
YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

İZMİR - 2011

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**GASTROİNTESTİNAL NÖROENDOKRİN
TÜMÖRLERDE GLUKAGON LIKE PEPTİD-2
RESEPTÖR EKSPRESYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**GASTROENTEROLOJİ
YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

Dr. ŞULE NAMLI

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. MESUT AKARSU**

İZMİR - 2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET	1
İNGİLİZCE ÖZET	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	4
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. GASTROİNTESTİNAL NÖROENDOKRİN TÜMÖRLER.....	5
2.1.1 Tanım	5
2.1.2. Tarihçe	6
2.1.3. Sınıflandırma ve Evrelendirme	7
2.1.4. Epidemiyoloji ve Moleküler Epidemiyoloji	9
2.2. Gastrointestinal Nöroendokrin Tümörler	12
2.2.1. Gastrik Nöroendokrin Tümörler	12
2.2.2. Duodenum ve Proksimal Jejunum Nöroendokrin Tümörleri	13
2.2.3. Distal Jejunum ve İleum Nöroendokrin Tümörleri.....	14
2.2.4. Appendiks Nöroendokrin Tümörler.....	15
2.2.5. Kolon ve Rektum Nöroendokrin Tümörleri	15
2.2.6. Pankreatik Nöroendokrin Tümörler.....	15
2.2.6.1. Fonksiyonel Pankreatik Nöroendokrin Tümörler	15
2.2.6.2. Non-fonksiyonel Pankreatik Nöroendokrin Tümörler	17
2.3. Biyokimyasal Tanı.....	18
2.4. Nükleer Tıp Yöntemleri ve Radyolojik Görüntüleme ile Tanı.....	19
2.5. Tedavi	20
2.6. Proglukagon Derive Peptidler	21
2.6.1. GLP-2: Sentezi, Salınımı ve Yıkılımı	23
2.6.2. GLP-2'nin Biyolojik Etkileri	24
2.6.3. GLP-2 Reseptörü ve Aktivitesi.....	26
2.6.4. GLP-2 ve İntestinal Hasar.....	29
2.6.5. GLP-2'nin İnsan Barsak Hastalıklarının Tedavisinde Kullanımı ve GLP-2'nin Potansiyel Karsinojenik Etkisi	31
2.6.6 Gastrointestinal Nöroendokrin Tümör ve GLP-2 İlişkisi	32

3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. Hastalar	33
3.2. Immunohistokimyasal Boyama	33
3.3. İstatistiksel Analiz	34
4. SONUÇLAR	35
4.1. Demografik Bulgular	35
4.2. Olguların Klinik-Patolojik Özellikleri	36
4.3. İmmünohistokimyasal Olarak Değerlendirme	38
5. TARTIŞMA	47
6. KAYNAKLAR	51

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: GEP-NET'lerin ortak özellikleri.....	5
Tablo 2: GEP endokrin hücreler, salgıladıkları peptidler ve lokalizasyonları	6
Tablo 3: GEP-NET'lerin sınıflandırılması.....	7
Tablo 4: GEP-NET'lerin klasifikasyonu(DSÖ 2010)	8
Tablo 5: Hastaların yaş dağılımı	35
Tablo 6: Kontrol grubu yaş dağılımı	35
Tablo 7: Hastaların cinsiyet dağılımı	35
Tablo 8: Kontrol grubu cinsiyet dağılımı	36
Tablo 9: Kolon NET ve kontrol grubunun GLP-2R ekspresyonunun karşılaştırılması.....	44
Tablo 10: Pankreas NET ve kontrol grubunun GLP-2R ekspresyonunun karşılaştırılması	45
Tablo 9: Mide NET ve kontrol grubunun GLP-2R ekspresyonunun karşılaştırılması.....	46

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: NET'lerin genel dağılımı	10
Şekil 2: Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsünün (SEER) programına ait NET Dağılımı	11
Şekil 3: İnsan Proglukagon derive peptidler	22
Şekil 4: GLP-2'nin gastrointestinal mukoza epiteli üzerine etkisi.....	27
Şekil 5: GLP-2 ve hücre proliferasyonundaki etki mekanizmaları	29
Şekil 6: Nöroendokrin tümörlerin GIS dağılımı	37
Şekil 7: GIS nöroendokrin tümörlerinin histopatolojik Ddağılımı	37
Şekil 8: GIS Nöroendokrin tümörlerin boyutları	38
Şekil 9: GIS nöroendokrin tümörlerinde GLP-2 R boyanma paterni.....	39
Şekil 10: Kontrol grubu GLP-2R boyanma paterni	39
Şekil 11: Normal dokudaki endokrin hücrelerde kromogranin pozitifliği (x40 Büyütme)..	40
Şekil 12: Normal dokudaki endokrin hücrelerde aktin negatifliği (x 40 Büyütme)	40
Şekil 13: Normal Dokudaki Endokrin Hücrelerde GLP-2 Pozitifliği (x 40 Büyütme).....	41
Şekil 14: Normal Mukozadaki Endokrin Hücrelerde GLP-2 Pozitifliği (x 20 Büyütme) ...	41
Şekil 15: Pankreas NET Endokrin Hücrelerde GLP-2 Pozitifliği (x 20 Büyütme)	42
Şekil 16: Kolon NET GLP-2 Pozitifliği(x 20 Büyütme).....	42
Şekil 17: Mide NET GLP-2 Pozitifliği	43
Şekil 18: Kolon NET GLP-2R boyanma paterni	43
Şekil 19: Pankreatik NET GLP-2 R boyanma paterni	44

KISALTMALAR

CgA	Kromogranin A
CgB	Sekretogranin I
CgC	Sekretogranin II
DAB	Diaminobenzidin
DMH	Dimetilhidralazin
DNES	Diffüz Nöroendokrin Sistem
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ENET	Avrupa Nöroendokrin Tümör Topluluğu
FGF	Fibroblast Growth Factor
GEP-NET	Gastroenteropankreatik nöroendokrin tümörler
GLP 1-2	Glukagon Like Peptid 1-2
GLP-2 R	Glukagon Like Peptid 2 reseptör
5-HIAA	5-hidroksiindolasetik asit
5-HTTP	5-hidroksitriptofan
IGF-1	Insülin Like Growth Factor-1
IHK	Immunohistokimya
IP 1-2	Intervening Peptid 1-2
İB	İnce Barsak
KB	Kalın Barsak
LOH	Heterozigosite kaybı
MEN-I	Multiple endokrin neoplazi tip I
MIBG	Metiliodobenzilguanidin
NSE	Nöron Spesifik Enolaz
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PNT	Non-fonksiyonel pankreatik nöroendokrin tümör
RIA	Radioimmunoassay
SEER	Surveillance, Epidemiology, and End Results
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography
SRS	Somatostatin reseptör sintigrafisi
THC	T cell factor
TGF alfa	Transforming Growth Factor alfa

TGF beta	Transforming Growth Factor beta
VIP	Vazoaktif intestinal peptid
VIPoma	Verner-Morrison Sendromu
ZES	Zollinger Ellison Sendromu

TEŞEKKÜR

Ailem...bana en büyük desteği veren onlar oldu, onların karşılıksız verdikleri destek ve sevgiye teşekkürler. Özellikle, zor günlerimde bana destek olan anneme; hiçbir teşekkür benim için yaptıklarının karşılığı olamayacak...

İç hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve birikimleriyle bana yardımcı olan, yaptığım işe duyduğum sevginin şekillenmesini sağlayan, yetişmemde emeği geçen; başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. İlkay Şimşek olmak üzere tüm Gastroenteroloji Bilim Dalı hocalarıma, tezimin her aşamasında yardımını esirgemeyen tez hocam Doç. Dr. Mesut Akarsu'ya, tezimin tamamlanmasında emeği geçen Prof. Dr. Özgül Saęol, Dr Anıl Aysan'a, Dr Dilek Solmaz'a ve uzmanlık eğitimi süresi boyunca yardımlarını ve dostluklarını esirgemeyen sevgili asistan arkadaşlarıma ve endoskopi çalışanlarına teşekkür ederim.

Saygılarımla;

Dr. Şule Namlı

ÖZET

GASTROİNTESTİNAL SİSTEM NÖROENDOKRİN TÜMÖRLERİNDE GLP-2 RESEPTÖR EKSPRESYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı

Dokuz Eylül Üniversite Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Inciraltı/İZMİR 35340

sulenamli@yahoo.com

Amaç

İnsanlarda gastrointestinal nöroendokrin tümör gelişimi ile Glukagon Like Peptid-2 (GLP-2) ve GLP-2 R arasındaki ilişkiyi göstererek nadir izlenen nöroendokrin tümör gelişim patogenezi hakkında bilgi edinmek ve ilerdeki tedavilere katkıda bulunmak amaçlanmıştır..

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya, 2003-2009 arasında Dokuz Eylül Üniversitesi'nde GIS Nöroendokrin tümör (GEP-NET) tanısı konulan 47 hasta alındı. Bu hasta grubu dışında 46 hastadan oluşan kontrol grubu oluşturuldu. Hastaların 27'si (% 57.4) kadın ve 20'si (% 42.6) erkek cinsiyetti. Yaş ortalamaları 54 ± 15.5 (min: 11 ve max:78) bulundu. Kontrol grubunun da benzer şekilde 25 kadın (% 54.3) ve 21 (%45.7)'i erkekti. Kontrol grubunun yaş ortalamaları 57.5 ± 14 bulundu. GEP-NET ve kontrol grubunda operasyon materyali ya da biyopsi materyalinden hazırlanan parafin bloklar kullanıldı. GEP-NET'li hasta grubu ile kontrol grubunda Poli-L-lizinli lamlara hazırlanan kesitler GLP-2 Reseptör Antikor (1:100-1:200, 1 mg/ml) immunhistokimyasal boyasıyla boyanmıştır. Daha sonra bu kesitler deneyimli bir patolog tarafından değerlendirilmiştir.

Sonuçlar

GEP-NET'li hastalar ve kontrol grubunun demografik özellikleri benzerdi. Kolon NET ve kolon kontrol grubu GLP-2R ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında kolon NET'lerde GLP2R ekspresyonu % 30 (4 hasta), kontrol grubunda ise ekspresyon % 100 bulundu ve anlamlı fark vardı(p:0.003). Pankreas NET ile kontrol grubu karşılaştırıldığında yine kolon NET'lerine benzer şekilde pankreas NET'lilerde ekspresyon % 25 (3 hasta) iken kontrol grubunda % 100 idi ve bu sonuç da istatistiki açıdan anlamlı bulundu (p<0.001). Mide NET'lerde ekspresyon % 18 (4 hasta) , kontrol grubunda ise % 0 olup mide NET ve mide kontrol grubu ekspresyon açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Tartışma

GEP-NET n6roendokrin h6crelerden k6ken alan, nadir g6r6len, yavaş b6y6yen, heterojen bir grup t6m6rd6r. Endokrin h6crelerden k6ken alması nedeniyle GLP-2R ekspresyonunun tanı ve tedavide kullanılabileceği 6ng6r6lse de bizim 6alışmamızda bu t6m6rlerde belirgin GLP-2R ekspresyonu g6sterilmedi. GLP-2R'un6n somatostatin resept6rleri gibi tanı ve tedavide hedef olarak kullanılası uygun g6r6nmemektedir. Bu konuda yeni 6alışmalara ihtiya6 vardır.

Anahtar s6zc6kler: GLP-2R, Gastrointestinal n6roendokrin t6m6r (GEP-NET)

SUMMARY

EVALUATION OF GLP-2 RECEPTOR EXPRESSION IN GASTROINTESTINAL NEUROENDOCRINE TUMORS

Dr. Şule Namlı sulenamli@yahoo.com

Dokuz Eylül University Faculty of Medicine Department of Gastroenterology

Dokuz Eylül University Hospital Department of Gastroenterology İnciraltı / İZMİR 35340

Background and aim

The objective is to contribute to developmental pathogenesis of gastrointestinal neuroendocrine tumor(GEP-NET) by presenting the relation between GEP-NET and Glukagon Like Peptid-2 (GLP-2) & GLP-2 R..

Material and Methods

The patients, who were pathologically diagnosed with GEP-NET, among the group of patients, whose tissue samples was collected between 2006-2009 were included in the study. There were 47 patients(27 F, 20 M, avarage age:54±15.5) in this study. There were also 46 control group patients(25 F,21 M, avarage age: 57.5±14.8). Pathological tissue blocks prepared on poly-L-lysine microscope slides were stained by GLP-2 Receptor Antibody (1:100-1:200, 1 mg/ml) immunohistochemical stain

Results

GLP-2R positivity of colon neuroendocrine tumor(NET) group was 30 % (4/13)) and of colon control group was %100. GLP-2R positivity of pancreas NET group was 25% (3/12) while it was 100 % in pancreas control group. The comparison of colon NET and control group showed significant difference(p:0.003). The comparison of pancreas NET and its control group also showed statistically significant difference (p<0.001). The comparison of gastric NET and its control group didn't show significant difference(p:0.22)

Conclusion

Neuroendocrine tumors (NETs) consist of a heterogeneous group of malignancies with slow growth rates and they are rare tumors. Although there is a hypothesis that carcinoid tumors arising from intestinal endocrine cells might also exhibit GLP-2R immunopositivity, and it can be used in diagnosis and treatment of these tumors; this study didn't show an obvious GLP2 R expression in GEP-NET's. We concluded that GLP2R can notbe as useful as somatostatin reseptors in diagnosis and treatment of these tumors. More studies are needed on this subject with more facts and different methods.

Key words: GLP-2R, Gastrointestinal neuroendocrine tumors(GEP-NET))

1.GİRİŞ VE AMAC:

Nöroendokrin tümörler, çeşitli nöroendokrin hücrelerin malign transformasyonun sonucu olarak vücudun hemen her lokalizasyonda gelişebilen, nadir görülen, heterojen bir grup tümördür. Gastrointestinal sistemde gelişenler en sık görülenleridir. Farklı diferansiyasyon dereceleri, yavaş büyüme hızları, bazılarının fonksiyonel aktif olmaları ve aşırı hormon salınımı ile klinik sendromlara yol açmaları, çoğu epitelyal tümörle karşılaştırıldığında daha düşük malignansi potansiyelleri dikkat çekicidir.

Son 20 yıldır tanı yöntemlerinde gelişmelere bağlı olarak, gastroenteropankreatik nöroendokrin tümörlerin (GEP-NET) gelişimine, biyolojik davranışlarına dair bilgiler artmış olmakla birlikte düşük insidans hızları nedeniyle bu tümörlerin klinikopatolojik özellikleri, tanısı, tedavisi, takibi ile ilgili halen birçok belirsizlikler söz konusudur. Bu konuda büyük ölçekte çalışmalar azdır. Ülkemizde ise bu konuda yeterli veri yoktur.

Glukagon like peptid-2 (GLP-2), başlıca distal ileum ve kolon olmak üzere ince barsak (İB) ve kalın barsak (KB) daki enteroendokrin L hücrelerinden üretilmekte ve salınmaktadır (1). Micelarda yapılan bir çalışmada; 1,2-dimetilhidralazine (DMH) sonrası GLP-2 verilerek deneysel kolon kanseri modeli yaratılmış ve klinik-patolojik özellikleri açısından insanlardakine benzer olacağı düşünülmüştür (2). Bu da bize insanlardaki kolon kanseri gelişiminde bilinen genetik mutasyonlar haricinde GLP-2 ve GLP-2 Reseptör(GLP-2 R) ekspresyonunda da artış olduğunu düşündürmektedir. Yine Türkiye de yapılan diğer bir çalışmada Kolorektal kanserli ve polipli olguların normal mukozalarında enteroendokrin hücrelerdeki GLP-2 reseptör ekspresyonunu gösterecek şekilde boyanma izlenmiştir. Farelerde yapılan çalışmanın aksine insanda kolon poliplerinde GLP-2 R ekspresyonu gösterilmemiştir (3). Bu çalışmalardan yola çıkılarak çok sayıda peptid salınımına sahip olan GEP-NET’de de GLP-2 reseptör ekspresyonu olabileceği düşünüldü.

Bu çalışmada amaç, insanlarda gastrointestinal nöroendokrin tümör gelişimi ile Glukagon Like Peptid-2 (GLP-2) ve GLP-2 R arasındaki ilişkiyi göstererek nadir izlenen nöroendokrin tümör gelişim patogenezi hakkında bilgi edinmek ve ilerdeki tedavilere katkıda bulunmaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. GASTROİNTESTİNAL NÖROENDOKRİN TÜMÖRLER

2.1.1. Tanım

Gastrointestinal sistem (pankreas dahil) vücudumuzun en büyük endokrin yapılanması olan ‘‘Diffüz Nöroendokrin Sistem (DNES)’’in en önemli parçasıdır. Gastrointestinal DNES’den kaynaklanan tümörlere ‘‘Gastroenteropankreatik Nöroendokrin Tümörler’’ denilmektedir. GEP-NET’ler, DNES’in erken evredeki kök hücrelerinden kaynaklanan tümörlerdir. Nöroendokrin tümörler denilmesinin sebebi, bu tümörlerdeki hücrelerin nöral kökenli hücrelere ait özellikler göstermeleri ve salgı yapmalarıdır (4). Çoğunlukla peptid hormonlar ve aminler üretir ve salgırlar. Farklı hormonlar üreten ve GEP-NET gelişimi için potansiyel orijin olabilen 14’den fazla gastroenteropankreatik endokrin hücre tipi vardır (Tablo 2) (5). Bu hücreler çoğunlukla Kromogranin A (CgA), sinaptofizin ve nöron spesifik enolaz (NSE) gibi proteinler eksprese ederler ve bunlar da bu tümörlerin klinik ve morfolojik tanımlarında kullanılabilir (6). GEP-NET’ler bir peptid yapılu hormonun aşırı salgılanmasına bağlı nöroendokrin sendromlara yol açtıklarında ‘‘Fonksiyonel GEP-NET’’, herhangi bir klinik tabloya neden olmuyorsa ‘‘Non-fonksiyonel GEP-NET’’ olarak adlandırılırlar(Tablo 1) (7).

Tablo 1. GEP-NET’lerin ortak özellikleri. (7)

Histolojilerinin tipik olması (glandüler yapılı, uniform görünümlü yuvarlak hücreler)
CgA, sinaptofizin veya NSE gibi ortak glikoproteinler ile özgül olmayan immunhistokimyasal boyanma
Salgıladıkları peptid ile neden oldukları özgün klinik tablolar (İnsülinoma, VIPoma, karsinoid sendrom vb.)
Nöroendokrin sendromlara yol açan vakaların genellikle karaciğer metastazı yapmış olmaları

Tablo 2. GEP endokrin hücreler, salgıladıkları peptidler ve lokalizasyonları.

LOKALİZASYON	PEPTİD	HÜCRE TİPİ
Mide	Gastrin	G
	Somatostatin	D
Duodenum ve Jejenum	Sekretin	S
	Kolesistokinin	I
	Gastrik inhibitör peptid	K
	Somatostatin	D
İleum/Kolon	Enteroglukagon	L
	Peptid YY	L
	Somatostatin	D
Distal ileum ve kolon	GLP-2	
Pankreas	İnsülin	B
	Glukagon	A
	Pankreatik polipeptid (PP)	D1
	Somatostatin	D

2.1.2. Tarihçe

Karsinoid tümörler ilk olarak 1888’de otopsi sırasında iki hastada distal ileumda *multiple* tümörler bulan Lubarsch tarafından tanımlanmıştır. 1890’da ise Ranson ilk olarak ileum karsinoidi tanımını yapmıştır. Karsinoid tümör (“*karzinoide*”) ifadesi ise ilk olarak 1907’de Oberndorfer tarafından, bu tümörlerin sindirim sisteminin tipik adenokarsinomlarına göre daha benign nitelikte olduklarını belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Mason 1928’de karsinoidlerin endokrin tümörler olarak kabul edilmesi gerektiğini belirtmiştir. Lembeck 1953’de karsinoid tümörlerde serotonin varlığını göstermiş ve 1955’de Page ve arkadaşları

karsinoid sendromlu hastalarda idrarda artmış 5-hidroksiindolasetik asit (5-HIAA) varlığını tanımlamışlardır (8).

2.1.3. Sınıflandırma ve Evrelendirme

İntestinal sistem nöroendokrin tümörler için ilk sınıflandırma Williams ve Sandler (9) tarafından 1963'de yapılmıştır. GEP-NET'lerin prognozunu öngörmeye en yararlı sınıflandırmalardan biri 1995'de Capella ve diğerleri (10) tarafından yayımlanan revize edilmiş akciğer, pankreas ve barsak nöroendokrin tümörlerinin sınıflandırmasıdır. Bu sınıflandırmaya göre tümörler histopatolojilerine, lokalizasyonlarına ve fonksiyonel olarak aktif olup olmadıklarına göre değerlendirilmişlerdir. 2000 yılında bu sınıflandırma Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından revize edilmiştir (Tablo 3) Benzer orijinli karsinoidler farklı patern gösterdiklerinden, bu tümörlerin biyolojik davranışını tanımlayan nöroendokrin tümör ve nöroendokrin karsinoma terimleri DSÖ sınıflandırmasında kullanılmıştır. Buna göre, iyi diferansiye nöroendokrin tümörler benign veya malign potansiyeli belirsiz tümörler; iyi diferansiye nöroendokrin karsinoma düşük dereceli malignansiler ve az diferansiye nöroendokrin karsinoma (çoğunlukla küçük hücreli) yüksek dereceli malignansiler için kullanılır. Karsinoid teriminden de tamamen vazgeçilmemiştir. İyi diferansiye nöroendokrin tümör terimi karsinoid ile, iyi diferansiye nöroendokrin karsinoma terimi de malign karsinoid ile eş anlamlı kullanılır (4).

Tablo 3. GEP-NET Sınıflandırılması.

<i>Gastroenteropankreatik nöroendokrin tümörlerinin klasifikasyonu:</i>	
<i>1A</i>	<i>İyi-diferansiye nöroendokrin tümör</i>
<i>1B</i>	<i>İyi-diferansiye nöroendokrin karsinom</i>
<i>2</i>	<i>Az diferansiye nöroendokrin karsinom</i>

İyi diferansiye NET'ler benign veya malign olabilirler. Senkron metastaz ve/veya invazyon mevcut ise malignite söz konusudur. Metastaz olmadığı durumlarda, tümör boyutu (>2 cm daha agresiftir), komşu dokuya invazyon, submukoza yanında duvar invazyonu,

anjiyoinvazyon, perinöral invazyon, nekroz ve aşık ar atipik hücre varlığı, >2 mitoz/10 BBA, Ki-67 proliferasyon indeksinin > %5 (> % 2: kesin olmayan malignansi potansiyeli) olması maligniteyi destekler.

Nöroendokrin tümörler embriyolojik orijinlerine göre de sınıflandırılmaktadır. Önbarsak NET'leri akciğer, mide, duodenum, timus ve pankreas lokalizasyonlu, orta barsak NET'leri ileum, jejunum, proksimal kolon, appendiks ve karaciğer lokalizasyonlu, son barsak NET'leri ise distal kolon ve rektum lokalizasyonlu tümörler için kullanılan ifadelerdir .

Bu tümörlere yaklaşım tümörden tümöre değışiklik gösteren ve öngörülmesi zor olan fonksiyonel aktivitelerine ve büyüme davranışlarına dayanır (11).

2010 yılında bu sınıflandırma Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yeniden revize edilmiştir(Tablo 4)(12)

Tablo 4. GEP-NET'lerin klasifikasyonu(DSÖ 2010)

	<i>İyi diferansiye NET</i>	<i>İyi diferansiye Nöroendokrin karsinoma</i>	<i>Kötü diferansiye Nöroendokrin karsinoma</i>
Biyolojik davranış	Selim/düşük malignansi	Düşük malignansi	Yüksek malignansi
Metastaz	-	+/-	+
Ki-67 indeks %^a Pro	< 2	>2	>30
Histolojik farklılaşması	<i>iyi</i>	<i>iyi</i>	<i>kötü</i>
İnfiltrasyon/anjiyoinvazyon	-	+	+
Tümör büyüklüğü	<2 ^c ^b , > 2 ^c	> 2 ^b , >	<i>Herhangibir büyüklük</i>

^a *MIB1'e benzer şekilde*

^b *GI NET*
^c *Pankreas NET*

Proliferasyon indeksi(Ki-67,MIB-1), angioinvazyon ve mitozlar bu sınıflamada önemlidir. Tümörler iyi differansiye NET'ler(< 2 cm büyüklükte,< %2 Ki-67 indeks), iyi

diferansiye nöroendokrin karsinomlar(> 2 cm büyüklükte, > %2 Ki-67 indeks, veya angioinvasif) ve kötü differansiye nöroendokrin karsinomlar (Ki-67>20%). olarak 3 grupta sınıflandırılır.

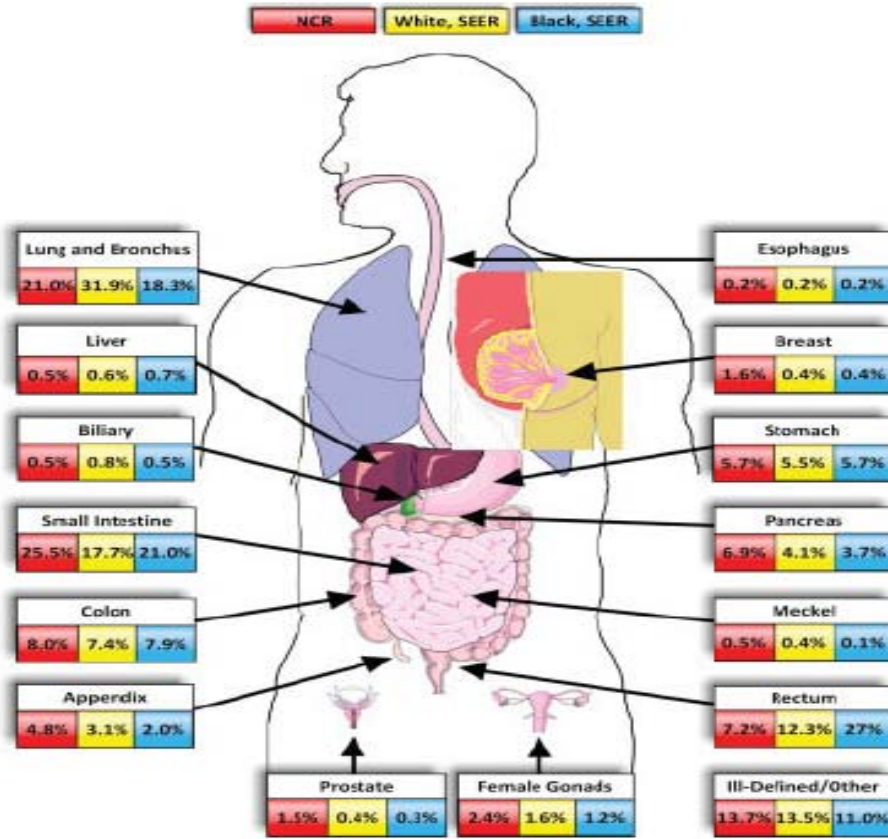
Buun dışında Avrupa Nöroendokrin Tümör Topluluğu (ENET) tarafından bu tümörlerin sınıflandırılması için yeni bir kılavuz hazırlanmıştır. Yayınlanan bu kılavuzla da prognoz açısından değerlendirme yapılabilmektedir. (13,14)

2.1.4. Epidemiyoloji

GEP-NET'ler daha önceki yıllarda iki ana alt grupta incelenmişlerdir: Karsinoid tümörler ve pankreatik nöroendokrin tümörler. Karsinoid terimi kullanılsa da en son sınıflamalara göre nöroendokrin tümörler şeklinde adlandırılması önerilmektedir. Bu tümörler sindirim sistemi malignitelerinin %2'sinden sorumludurlar (15). Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsünün SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results) programı verilerinin Norveç Kanser kurumu verileri ile karşılaştırıldığı sonuçlara göre 2000-2004 yılları arasında NET insidansının geçmiş yıllara göre belirgin arttığı (%37-40) gösterilmiştir. Beyaz ırkta tüm nöroendokrin tümör insidansı bu çalışmada 4.44/100.000 bulunmuştur. Tüm nöroendokrin tümör insidansının bu son çalışmaya göre erkekler için 4.72/100.000 ve kadınlar için 4.28/100.000 olduğu tahmin edilmektedir. Afrikan Amerikalılarda ise bu insidans 6.5/100000 olarak belirlenmiştir. Otopsilerde ise insidans hızının daha yüksek olduğu görülmüştür (16). GEP-NET lokalizasyonları, mide, duodenum (ve proksimal jejunum), ileum (distal jejunumu içeren), appendiks, kolon-rektum ve pankreasır (şekil 1). Sindirim sisteminde görülen nöroendokrin tümörlerin en sık görüldüğü yer, ince barsak olmasına rağmen(şekil 2), farklı bölgelerden raporlarda anatomik yer açısından insidanslar çeşitlilik göstermektedir (17-19).

Karsinoid tümörler genellikle 5. veya 6. dekatta görülürler. Karsinoidler için ortalama yaş 61'dir (20). Appendiks karsinoidleri için ilk zirve insidans kadınlarda 15-19 yaşlarında, erkekler için ise 20-24 yaşlarında, ikinci zirve ise 70-74 yaşlarında gözlemlenmiştir. Tüm yaş gruplarında appendiks karsinoidleri için yaşa özgü insidans hızı kadınlarda daha yüksektir. 60 yaşından önce kolon karsinoidleri için yaşa özgü insidans hızı kadınlarda yaklaşık olarak iki kat yüksek iken, 60 yaşından sonra fark azalmakta hatta oran tersine dönmektedir. İnce barsak karsinoidleri için ise yaşa özgü insidans hızı genel olarak erkeklerde daha yüksektir (21). Pankreatik nöroendokrin tümörler her yaşta gelişebilirler. Zirve insidans 30-60 yaş arasındır.

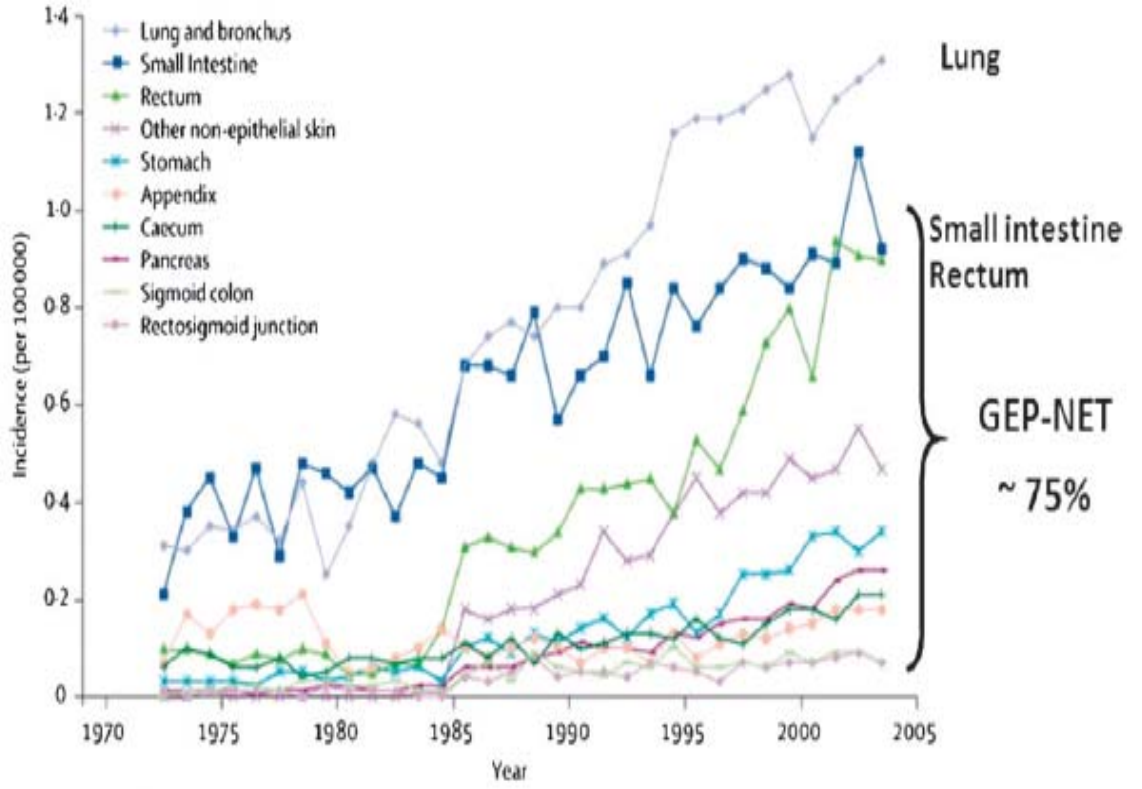
Şekil 1. NET'lerin genel dağılımı



Bazı tümörler multiple endokrin neoplazi tip I'in (MEN-I) parçası olabilirler ve bu aile üyeleri 20-30 yaşlarında non-fonksiyonel pankreatik nöroendokrin tümör (PNT) ile prezente olabilirler. Daha nadir olarak Von Hippel Lindau hastalığına PNT eşlik edebilir (22). Non-fonksiyonel nöroendokrin pankreas tümörleri fonksiyonel pankreatik endokrin tümörlere göre daha sık görülmektedir. Fonksiyonel pankreatik nöroendokrin tümörlerden en sık görülenleri insülinomalar ve gastrinomalardır. İnsülinoma ve gastrinoma için sırasıyla tahmini insidans yılda 0.5-3 ve 0.4- 4/1.000.000'dir (23, 24). MEN-I pankreas lezyonları ile ilişkilidir. MEN-I'in 2-20/100.000 hızında geliştiği tahmin edilmektedir (25). Gastrinoma ve insülinoma sırasıyla %20-61 ve %12-21 oranında MEN-I sendromunun bir parçası olarak görülebilirler (24). Irk ve etnik köken açısından bakıldığında beyaz ırkta iki kat daha fazla appendiks karsinoidi olduğu, zencilerde 2.3 kat daha fazla rektal karsinoid olduğu saptanmıştır. Asya ırkından olanlarda ise olmayanlara göre daha fazla kolorektal karsinoid tümör olduğu gösterilmiştir (19). Bir çalışmada, birinci derece akrabalarda karsinoid öyküsü olması, iyi eğitim ve büyük şehirlerde doğma risk faktörleri olarak gösterilmiştir(26). Avrupa'da yapılan

çok merkezli bir çalışmada, hiç sigara içmemiş olmanın ince barsak karsinoidi ile ilişkili olduğu bulunmuştur (27).

Şekil 2. Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsünün SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results) programına ait NET Dağılımı



Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER), US population 1974-2005

GEP-NET'lerin etyolojisi MEN-I sendromlu veya kronik atrofik gastritli bazı gastrik ve duodenal nöroendokrin tümörlerin dışında tam olarak bilinmemektedir (28). Rektum, mide ve appendiks nöroendokrin tümörleri tanı konulduğunda ince barsak, kolon ve pankreasta yerleşik olanlara göre daha lokorejyonel özellik gösterirler (29). Farklı alanlar için 5-yıllık sağkalım tahminlerine göre, pankreas en kötü sağkalıma ve tanı anında en ileri hastalığa sahip lokalizasyon olarak saptanmıştır (19). Karsinoid tümörlerde prognoz hastalığın yerine ve yayılımına bağlıdır. Lokalize hastalıkta 5-yıllık sağkalım hızı yaklaşık %65, ileri hastalıkta ise %36'dır. Kadın cinsiyet ve tanı anında genç yaş daha iyi prognozla ilişkilidir. Metastaz varlığı, yüksek CgA düzeyi ve yüksek proliferasyon indeksi, kötü prognozun göstergeleridir (30). PNT'li hastalarda 5-yıllık sağkalım hızı farklı çalışmalarda %35-54 arasında değişmektedir (31). Fonksiyonel tümörlü hastalarda sağkalım hızı non-fonksiyonel tümörlere

göre anlamlı olarak daha iyidir (32). Embriyolojik orijinlerine göre bakıldığında, son barsak NET'leri en iyi 5-yıllık hastalıksız sağkalıma sahiptir (33)

Moleküler Epidemiyoloji

Son yıllarda nöroendokrin tümörlerin moleküler patogenezi ile ilgili önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu genetik çalışmalardan anlaşıldığına göre, PNT'ler ve diğer gastrointestinal karsinoidler genetik açıdan farklı görünmektedirler ve moleküler açıdan ayırt edilebilirler. Özellikle kromozom 18q kaybı karsinoid tümörler için karakteristik iken, MEN-I'deki mutasyonlar PNT'de daha sık görülmektedir (34) Non-fonksiyonel PNT'lerin %56'sında, gastrinomaların %42'sinde, insülinomaların %22'sinde MEN-I lokusunda (11q13) heterozigosite kaybı (LOH) olduğu gösterilmiştir. Von Hippel Lindau gen lokusuna (3p25) yakın LOH, 320 PNT hastasının %44'ünde bulunmuş fakat orta barsak karsinoidlerinin hiçbirinde gösterilememiştir (35). Çalışılan diğer onkogenler arasında c-Myc'in PNT'lerde %100, karsinoidlerde ise %67 oranında yüksek ifade edildiği rapor edilmiştir. Programlı hücre ölümünü düzenleyen bcl-2 proto-onkogeni PNT'lerin %45'inde, karsinoidlerin %14'ündetespit edilmiştir (36, 37). Bir çalışmada HER2/neu geninin gastrinomaların %100'ünde ifade edildiği belirtilmiştir (38). Bu gen ayrıca gastrointestinal karsinoidlerin %40'ında da amplifiye edilmiştir (39).

İnsülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF),transforme edici büyüme faktörü (TGF) alfa ve beta, fibroblast büyüme faktörü(FGF) ve bunların reseptörlerinin PNT ve gastrointestinal karsinoidler üzerinde mevcut oldukları bilinmesine rağmen, büyüme faktör ekspresyonu ile tümör davranışı ve büyüklüğü arasındaki ilişki detaylı çalışılmamıştır (35, 40).

2.2. GASTROİNTESTİNAL NÖROENDOKRİN TÜMÖRLER

2.2.1. Gastrik Nöroendokrin Tümörler

Tüm GEP-NET'lerin %11-41'inden sorumlu olduğu düşünülmektedir (41). Az diferansiye NET de eklendiğinde, 4 tip gastrik NET'den bahsedilir. Tip I en sık görülen tiptir ve tüm vakaların %70-80'ini oluşturur (42). Tip 2 ve 4 nadir görülür. Tip I gastrik NET'ler kronik atrofik gastrit ile ilişkilidirler ve hastaların yarısından çoğunda pernisiyöz anemi vardır (42-44). Kadınlarda ve 6-7. dekatta daha sık görülür. Genellikle anemi veya karın ağrısı için tanısal amaçlı yapılan endoskopide tespit edilirler (43, 45). Parietal hücre kaybı nedeniyle hipoklorhidri ve hipergastrinemi gelişir. Sıklıkla çapları 1 cm'den küçük, multifokal tümörlerdir. Çoğunlukla midenin korpus veya fundusunda yerleşimlidirler (43, 46). Prognozu

iyidir. Genellikle çok küçük olduklarından endoskopik olarak çıkarılırlar. Çok nadir vakalarda (>2 cm ve muskularis propria infiltrasyonu varsa) reyonel lenf nodu metastazı görülebilir (47). 1 cm'den küçük birkaç adet polip için endoskopik rezeksiyon ve izlem önerilir. Birden fazla, >1 cm poliplere, muskularis propria uzanımı olanlara ve/veya sık rekürrensi olanlara cerrahi rezeksiyon veya antrektomi önerilir. Malign gelişim veya lokal cerrahi rezeksiyona rağmen rekürrens varsa, lenf nodu diseksiyonu ile parsiyel veya total gastrektomi önerilir.

Tip 2 gastrik NET'ler Zollinger Ellison Sendromu (ZES) ile ilişkilidirler. Kronik atrofik gastrit ile ilişkili karsinoidler gibi ZES ile ilişkili karsinoidlerin de hipergastrinemili hastalarda enterokromafin-benzeri hücrelerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çoğunlukla MEN-I ile ilişkilidir. Yaklaşık olarak kadın ve erkeklerde eşit olarak, 50'li yaşlarda görülür (50). Genellikle <1.5 cm, mukoza ve submukozaya sınırlı, multifokaldır ve mide korpusunda gelişir. Vakaların yaklaşık %10'unda olduğu gibi eğer anjiyoinvazyon varsa veya tümör çapı >2 cm ve/veya muskularis propriayı invaze etmişse metastaz olasıdır (42). Prognozu ve tedavisi tip I gastrik NET ile benzerdir.

Tip 3 (sporadik) gastrik NET'ler soliterdir. Ortalama 55 yaşında ve erkeklerde daha sık görülürler. Midede herhangi özel bir yerleşimleri yoktur. Tanıda üçte biri >2 cm'dir. Histolojik olarak enterokromafin-benzeri hücrelerden oluşurlar ve iyi diferansiyedirler (48). Primer olarak *flushing* ile karakterize, histamin aracılı olduğu düşünülen atipik bir karsinoid sendrom ile ilişkilendirilmiştir (42). Bazen de hastalar kanama, obstrüksiyon gibi belirtilerle başvurabilirler. Çoğunluğu başvuru anında metastatiktir ve bazen ölümcül olabilir.

Tip 4 gastrik NET küçük-orta boyutta hücrelerden oluşan, az diferansiye solid bir karsinomdur. Erkeklerde daha sık görülür. Tanı anında çoğu ileri evrededir (>4 cm) ve metastatiktir. Prognozu kötüdür ve gastrik karsinomalar gibi tedavi edilmelidir (41).

2.2.2. Duodenum ve Proksimal Jejunum Nöroendokrin Tümörleri

Tüm GEP-NET'lerin %22'sinden sorumludurlar (48). Erkek/kadın (E/K) oranı 1.5/1'dir ve genellikle 5. ve 6. dekatta görülürler. Duodenum ve proksimal jejunumda 5 tip NET görülür. Bunlar gastrinomalar, somatostatinomalar, nonfonksiyonel serotonin veya kalsitonin üreten tümörler, az diferansiye nöroendokrin karsinomalar ve gangliositik paragangliomalardır. Üçte ikisi gastrinomalardır. En nadir görülenler, az diferansiye nöroendokrin karsinomalar ve gangliositik paragangliomalardır (28). Sıklıkla kanamaya neden olurlar. Ampuller veya periampuller yerleşimli olanlar sarılığa neden olabilirler. Nadiren karsinoid sendrom gelişebilir.

Duodenal gastrinomalar sporadik veya MEN-I ile ilişkili olabilirler. Her iki durumda da, genellikle 1 cm'den büyük değildirler ve duodenumun 1. kısmına lokalizedirler. MEN-I ile ilişkili olanlar genellikle birden fazladır. Tanı anında bazen reyonel lenf nodlarında metastazlar bulunabilir. Karaciğer metastazları daha geç gelişir (28). Somatostatinomalar sıklıkla periampuller bölgede yerleşim gösterirler ve somatostatin salınımı nadiren klinik bir sendroma neden olur. Serotonin/ kalsitonin salgılayan tümörlerin karaciğer metastazları karsinoid sendroma neden olabilir. Az diferansiye karsinomlar genellikle periampuller bölgede yerleşirler. Tanıda çoğunlukla uzak metastazları vardır ve kötü prognozluurlar. Gangliositik paragangliomalar diğer tümörlere göre daha genç yaşta, papilla Vateri çevresinde görülürler ve genellikle benigndirler (48)

2.2.3. Distal Jejunum ve İleum Nöroendokrin Tümörleri

Tüm GEP-NET'lerin yaklaşık %25'inden sorumludurlar (48). Kadınlar ve erkekler eşit olarak etkilenir, 3-10. dekat arasında, en sık da 6. dekatta görülürler. Genellikle terminal ileumda gelişirler ve ileoçekal valvi de içeren komşu çekuma ilerlerler. Karın ağrısı, kusma, intestinal obstrüksiyon, kilo kaybı en sık başvuru sebepleridir. Tanı anında sıklıkla >2 cm'dirler ve muskularis propriayı invaze etmişlerdir. Bu reyonel lenf nodlarına metastaz yapmış anlamına gelir. Karsinoid sendrom sadece karaciğer metastazı olan hastalarda görülür. Lenf nodu ve karaciğer metastazı sıktır fakat karsinoid sendrom sadece %5-7 hastada görülür (49). Kemik ve akciğer metastazı da görülebilir.

Karsinoid Sendrom

Karsinoid sendrom, orta barsak karsinoid tümörlerin barsak obstrüksiyonu ve karın ağrısından sonra üçüncü en sık prezentasyon şeklidir. Serotonin karaciğerde inaktive edilir ve sadece karaciğer metastazı varsa dolaşıma katılır. Orta barsak karsinoidlerinin az bir kısmı karaciğer metastazı olmaksızın da neden olan ajanların sistemik dolaşıma serbest olarak verilmesini telkin eden karsinoid sendrom ile prezente olabilirler (50). Tipik bulgular, *flushing* ve diare (en sık), karın ağrısı, pellegra benzeri deri bulguları, bronkospazm, sağ kalp yetmezliğidir. Atipik bulgular olarak da depresyon, Cushing sendromu, iştahsızlık, artrit, retroperitoneal fibroze bağlı üreteral obstrüksiyon saptanabilir. Tanıda en önemli test, 24 saatlik idrarda 5- HIAA düzeyinin ölçümüdür.

2.2.4. Appendiks Nöroendokrin Tümörleri

Tüm GEP-NET'lerin yaklaşık %20'sinden sorumludurlar (51). Appendikte görülen en sık tümörlerdir. Kadınlarda daha sık görülür ve sıklıkla 3. ve 5. dekatta tanı alırlar. Çoğu vakaya apandisitli hastaların appendektomi spesimenlerinden insidental olarak tanı konulur. Prognozları ileal tümörlerden daha iyidir (25). Genellikle appendiks distalinde lokalizedirler. Tümör çapı ve mezoappendiks invazyonu en önemli prognostik faktörlerdir (52). %95'inden fazlasının çapı <2 cm'dir. Çapı >2 cm tümörü olan hastaların yaklaşık 1/3'ünün nodal veya uzak metastazı vardır (53).

2.2.5. Kolon ve Rektum Nöroendokrin Tümörleri

Çekum ve transvers kolonda yerleşimli tümörler tüm GEP-NET'lerin %8'inden, inen kolon ve rektosigmoidde yerleşimliler ise %20'sinden sorumludurlar (48). Kolon ve rektum NET'leri genellikle 5. ve 6. dekatta görülürler. Kadın erkek dağılımı eşittir. Kolon NET'leri az diferansiye nöroendokrin karsinomalardır. Tanı anında genellikle metastaz yapmışlardır ve prognozları kötüdür. Karın ağrısı ve kilo kaybı görülebilir. Hastaların % 5'inden azında karsinoid sendrom gelişebilir (48). Rektal NET'ler daha siktir ve prognozları kolon yerleşimli olanlara göre biraz daha iyidir. Çoğunlukla asemptomatiktirler ve karsinoid sendrom görülmez. Semptomu olan hastalar ise genellikle rektal kanama, ağrı veya konstipasyon ile başvururlar. Çoğu <1 cm'dir. Metastazlar ≥ 2 cm ve muskularis propria invazyonu olan tümörlerde görülebilir. Az diferansiye nöroendokrin karsinomaların prognozu ise kötüdür (55).

2.2.6 Pankreatik Nöroendokrin Tümörler

Tüm pankreatik neoplazmların %1-2'sini oluştururlar (56, 57). Çapları genellikle 1-5 cm'dir. Non-fonksiyonel olanlar çoğunlukla ≥ 5 cm'dir. İki cm üzerinde tümör çapı olanlar artmış malign davranış riskine sahipken, >3 cm olanlar genellikle maligndir (58, 59). Büyük çoğunluğu iyi diferansiye tümörlerdir.

2.2.6.1.Fonksiyonel Pankreatik Nöroendokrin Tümörler

Uygunsuz hormon salınımına bağlı klinik sendroma neden olurlar.

İnsülinoma

Tüm fonksiyonel PNT'lerden en sık görülenidir. İnsülinomaların %90'undan fazlası benignidir ve kadınlarda daha sık görülür. Çoğu vaka 30-70 yaşları arasında gelişir. %94'ü

sporadiktir (60). Yaklaşık %85'i soliterdir. %90'ından fazlası 1-2 cm boyutundadır. Malign olanları genellikle ortalama 6 cm'dir ve hastaların %5'i tanı anında metastatiktir. Metastazlar genellikle karaciğer, lenf nodu veya her ikisine olur (61). Çoğunluğu pankreas parankiminde, baş, gövde ve kuyrukta eşit oranlarda görülür. Ekstrapankreatik insülinoma (çok nadir) sıklıkla duodenum duvarında görülür. Tanıda, Whipple triadının (hipoglisemiye ilişkin semptomlar, plazma glukoz düzeyinin <3 mmol/L olması, belirtilerin glukoz alımını takiben kaybolması) doğrulanması gereklidir. Diazoksit, hipoglisemi kontrolünde kullanılabilir.

Gastrinoma

İnsülinomadan sonra en sık ikinci tümördür. Genelde "gastrinoma üçgeni" denilen, pankreas boyun-korpus bileşkesi, duodenum ikinci-üçüncü kısmın birleştiği yer ve ana safra kanalı ile sistik kanalın birleştiği nokta arasında kalan bölgede yerleşimlidirler. Yaklaşık %45'i pankreas orijinli iken, %35-40'ı duodenum, yaklaşık %10-15'i ise periduodenopankreatik lenf nodlarından kaynaklanmaktadır. Mide, proksimal jejunum, akciğer, over ve safra yollarında da gelişebilmektedir. Sıklıkla birden fazladır ve eş zamanlı olarak pankreas, duodenum ve reyonel lenf nodlarında lokalizedirler. Bir meta analize göre (62) gastrinoma için ortalama tanı yaşı 48, E/K oranı 1.3'dür. %86.1'ine ZES eşlik etmektedir. Tipik gastrinoma 4 cm'den büyük değildir ve tanı anında %60-80'i karaciğere veya reyonel lenfnodlarına metastaz yapmıştır (63).

Aşırı gastrin salınımı ZES'den sorumludur ve karın ağrısı, ciddi ve rekürren peptik ülser, ishal, üst gastrointestinal sistem kanaması ve ösefajite neden olur. Jejunum gibi olağan olmayan lokalizasyonlarda ülser gelişebilir. Tanı, bazal açlık gastrin düzeyinin >1000 pg/ml olması ve sekretin ile stimüle edildiğinde gastrin düzeyinin >200 pg/ml artması ile konfirme edilir. Gastrik pH'nın >3.0 olması da ZES tanısından uzaklaştırır. İlk basamak tedavisi proton pompa inhibitörleridir.

Glukagonoma

Dört "D" ile karakterizedir: Dermatit (nekrolitik migratuar eritem), diabet, derin ven trombozu ve depresyon. Sıklıkla pankreas kuyruğunda gelişirler. Hastalar genellikle 40-70 yaş arasındadır ve kadınlarda biraz daha sık görülür. Yaklaşık %60-70'i tanı anında karaciğere veya lenf nodlarına metastaz yapmıştır (22). MEN-I'in parçası olarak görülebilirler.

VIPoma (Verner-Morrison Sendromu)

Sulu diare, hipokalemi ve aklorhidri ile karakterizedir. Tanıda %60'ından fazlası metastatiktir. %10'u pankreas dışı yerleşimlidir (64, 65). Pankreasta ise daha çok kuyruk yerleşimlidir. Ortalama 48 yaşında ve kadınlarda daha sık görülür. Tanısı, plazma vazoaktif intestinal peptid (VIP) düzeyinin >60 pmol/L olması ile teyit edilir (22). MEN-I'in parçası olarak görülebilmektedir.

Diğer Nadir Fonksiyonel Pankreatik Nöroendokrin Tümörler

Somatostatinoma, ghrelinoma, ACTHoma vb.

2.2.6.2. Non-fonksiyonel Pankreatik Nöroendokrin Tümörler

Belirli bir hormonal sendroma neden olmazlar fakat serumda yükselmiş hormon seviyesi veya dokuda hormonal immünreaktivite gösterebilirler. Genellikle büyüktürler ve MEN-I haricinde unifokaldirler. Pankreasta baş/gövde/kuyrukta, 7/1/1.5 oranında yerleşim gösterirler (66). Nonfonksiyonel tümörler genellikle büyük çapa ulaşınca veya metastazları ortaya çıkınca klinik belirti verirler. İlk bulgular ağrı (%36) ve sarılıktır (%28); %16'sı insidental olarak saptanır. Sıklıkla 5-6. dekatta ortaya çıkarlar (20). Tanıda gecikme nedeniyle teşhis edildiklerinde çoğunlukla metastatiklerdir.

2.3. Biyokimyasal Tanı

Gastrointestinal nöroendokrin tümörlü hastaların dolaşımındaki tümör belirteçlerinin ölçümü üç nedenle önemlidir. Birincisi tanıyı desteklerler, ikincisi hastalık progresyonunu ve tedaviye yanıtı takip etmede yararlıdır, üçüncüsü bir prognostik gösterge olarak yardımcı olabilirler (67). Tümör belirteçleri değişik anatomik orijinlerde farklılık gösterir. Mide, pankreas ve duodenumda yerleşimli tümörler genellikle peptid hormonlar (gastrin, insülin, glukagon veya VIP) sekrete ederken, jejunum, ileum ve çekum yerleşimliler serotonin ve taşikininler salgırlar. Distal kolon ve rektumda yerleşimli olanlar ise non-fonksiyoneldir; genellikle metastatik hastalıkla prezente olurlar. Bu tümör belirteçlerinden bazıları, plazmakromograninleri, idrarda 5-HIAA, serotonin, 5-hidroksitriptofan (5-HTP), ACTH, NSE, insülin, glukagon, gastrin, C-peptid, VIP, PP, somatostatin, nöropeptid K, *substance P*, taşikininler, ghrelin, α -hCG ve β -hCG'dir. Kromograninler veya sekretograninler hidrofilik proteinlerdir ve nöroendokrin ve endokrin hücrelerin granüler veziküllerinde depolanırlar. En az üç üyesi vardır: Cg A, CgB (sekretogranin I) ve CgC (sekretogranin II). CgA bu ailenin ilk tanımlanan üyesidir ve en çok çalışılanıdır. CgA, 48 kDa tek zincirli, asidik, 439 aminoasit

içeren bir glikoproteindir (68, 69). CgA'yı kodlayan gen kromozom 14'de lokalizedir (70). Genel olarak en yararlı olduğu, farklı orijinli nöroendokrin tümörlerin en duyarlı ve özgül tümör belirteci olduğu belirtilmiştir. Herhangi bir nöroendokrin tümörde plazma CgA düzeyi özgüllüğü ve duyarlılığı sırasıyla %70-80 ve %27-95 arasında değişmektedir (69,71, 72-79). Metastatik NET'li hastaların yaklaşık %90'ında yüksek bulunur (67). Plazma CgA düzeyleri tanısal amaçlı ve tedaviye cevap için kullanılabilir (69, 73, 74, 80, 81). CgA hem fonksiyonel hem de non-fonksiyonel nöroendokrin GEP tümörlerde yüksek bulunmuştur. CgA duyarlılığı fonksiyonel ve non-fonksiyonel tümörler için sırasıyla %80-100 ve %50-70 arasındadır (81). Serum CgA düzeyleri ile tümör kitlesi arasında anlamlı bir pozitif korelasyon olduğu rapor edilmiştir (72). Tek istisna gastrinomalardır çünkü plazma CgA düzeyleri bu hastalarda metastaz yokluğunda bile genellikle yüksektir (73, 74, 82). Ayrıca, oktreatid tedavisi süresince de CgA düzeyleri ve tümör yükü arasındakipozitif korelasyonun kaybolduğu saptanmıştır (72). Bu durumlarda CgA düzeyleri tümör büyümesi belirteci olarak kullanılamaz. Plazma CgA düzeyleri postmenapozal kadınlarda, renal veya hepatik yetmezliği olanlarda, tedavi edilmemiş esansiyel hipertansiyonda, kronik atrofik gastritte, prostat adenokarsinomada, kolorektal, pankreatik adenokarsinom veya küçük hücreli dışı akciğer kanseri gibi nöroendokrin hücre içeren tümörlerde de yüksek bulunabilir (73, 84). Ayrıca, proton pompa inhibitörü kullanan ve egzersiz veya somatik travmanın indüklediği fiziksel stres de CgA düzeylerinde iki kata kadar ulaşabilen bir artışa neden olabilir (84). CgA düzeyi ölçümü için kullanılan birçok kit vardır. DAKO Kromogranin A *ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)* kiti insan CgA'nın 23 kDa ağırlığındakikarboksi-terminal parçasını kullanır ve sıkça kullanılmaktadır. CIS *bio international* kiti CgA 145-197 ve 198-245 aminoasit sekanslarına karşı olan monoklonalantikorlar, EuroDiagnostica kiti ise CgA 116-439 aminoasit sekanslarına karşı olan poliklonal antikorlar kullanılarak yapılan *RIA (Radioimmunoassay)*'dırlar. Ticari üç kromogranin A kiti ile yapılan bir çalışmada (85), DAKO kiti için hem duyarlılık hem de özgüllük %85 iken, CIS kitinin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %67 ve %96, EuroDiagnostica'nın duyarlılığı ve özgüllüğü ise %93 ve %88 bulunmuştur. Serotoninin yıkım ürünü olan 5-HIAA'nın 24 saatlik idrarda tayin edilmesi karsinoid tümörlerde özellikle de orta barsak orijinli olanlarda %88'lik özgüllük ile yararlı bir belirteçtir. 5-HIAA karsinoid dışı nöroendokrin tümörlerde de yüksek bulunabilmektedir (86-88). Bu testin özgüllüğünün artması için hastaların idrar toplamadan önce ve toplanması süresince serotonininden zengin yiyecek ve ilaçlardan kaçınması gereklidir.

En son yapılan çalışmalarda teşhiste kullanılabilecek genler bulunmuştur. GRIA2, PNMA2, SPOCK1, SERPINA10, GPR112, and OR51E1 genleri teşhis ve tedavide

kullanılabilecek genlerdir. Bu genlerin karaciğer metastazlarında normal enterokromafin hücreler ve primer tümörlerden daha düşük düzeyde eksprese edildikleri gösterilmiş. Bu genlerin metastaz oluşumunda rol oynadıkları düşünülmüştür (89,90).

2.4. Nükleer Tıp Yöntemleri ve Radyolojik Görüntüleme ile Tanı

Nöroendokrin tümörlerin tanı ve takibinde somatostatin reseptör sintigrafisi (SRS) önemli bir incelemedir. SPECT (*Single Photon Emission Computed Tomography*) ile kombine edildiğinde güvenilir evreleme aracıdır (91). Karsinoid tümörlerin %70- 90'ı somatostatin reseptör tip 2 ve 5 eksprese eder (23). Somatostatin analogu oktreotid somatostatin reseptörü tip 2 ve 5'e yüksek afinite ile bağlanır. İşaretleme amacıyla en sık ¹¹¹In-DTPA-oktreotid kullanılır. Bu tetkik tümördeki somatostatin reseptör içeriği hakkında bilgi verir ve bu sonuçlarla somatostatin analog tedavisi planlanabilir (92). Karsinoid tümör tespitinde SRS duyarlılığının farklı çalışmalarda %80-100 olduğu rapor edilmiştir (93). Gastrinoma, glukagonoma, VIP salgılayan tümörler ve non-fonksiyonel tümörler için SRS duyarlılığının %75-100, insülinoma için ise %50-60 olduğu bulunmuştur (94). Metiliodobenzilguanidin (MIBG) bir katekolamin analogudur ve nöral krest kökenli tümörlerin sintigrafik görüntülenmesi ve tedavisi için ¹²³I veya ¹³¹I ile işaretlenerek kullanılır. Karsinoid tümörlerin %40-85'inin MIBG tuttuğu rapor edilmiştir (95). MIBG sintigrafisi ile karşılaştırıldığında, SRS duyarlılığının NET tespitinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (96).

Flor-18-florodeoksiglukoz (F-18-FDG) tüm dünyada en fazla kullanılan pozitron emisyon tomografisi (PET) radyofarmasötikidir. F-18-FDG proliferatif aktivitesi düşük olan iyi diferansiye tümörlerin görüntülenmesinde yetersiz kalmaktadır ancak proliferatif aktivitesi yüksek, somatostatin reseptörü taşımayan az diferansiye GEPNET'lerde pozitif sonuçlar alınabilmektedir(97).

İyi diferansiye GEP-NET'lerde F- 18-FDG duyarlılığının düşük olması nedeniyle, PET ile kullanılmak üzere yeni radyofarmasötikler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bunlar arasında ¹¹C-5-HTP, ¹¹C-LDOPA, ⁶⁸Ga-DOTATOC sayılabilir.

Karaciğer metastazları için en duyarlı metot ultrasonografidir. Bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntülenmesi abdomendeki lenf nodu metastazlarını tespit etmek ve mediastinal ve akciğer tümörlerini lokalize etmek için kullanılabilir. Rektal veya gastroduodenal tümörler kolonoskopi veya gastroskopi ile tespit edilebilirler (92). Ayrıca son yıllarda endoskopik ultrasonografi de bu tümörlerin tanısında önemli bir yer tutmaktadır.

2.5. Tedavi

Cerrahi Tedavi

Malign karsinoid tümörlerin başarılı tedavisi tümör redüksiyonunu içeren çok yönlü yaklaşım gerektirir. Klinik prezentasyonda bu tümörlerin çoğunluğu ileri evrede tespit edildiğinden, cerrahi birçok hastada kür amaçlı kullanılmamaktadır (92). Lokalize primer nöroendokrin tümörler veya obstrüksiyon gelişen metastatik tümörlerde cerrahi yararlıdır. Uygun hastalarda metastazektomi amaçlı hepatektomi bazı hastalarda küratif olabilmektedir. PNT'lerde cerrahi endikasyonları semptomlara hormon üretimine, tümör büyüklüğüne, sayısına, potansiyel veya aşık ar malignitesine ve yayılımına dayanır. Preoperatif olarak tümörün lokalize edilmesi önemlidir ancak bazı durumlarda intraoperatif palpasyon ve ultrasonografi yapılması gerekmektedir. Cerrahi işlem tümörün lokalizasyonuna bağlıdır. Tümörün lokalizasyonuna göre Whipple operasyonu, distal pankreatik rezeksiyon, tümör enükleasyonu veya rezeksiyon ile kombine enükleasyon yapılabilir.

Tümör redüksiyonunun diğer bir yolu karaciğer metastazları için hepatik Tümör redüksiyonunun diğer bir yolu karaciğer metastazları için hepatik arter embolizasyonudur. Bu yöntem ile hepatik metastazlarda regresyon olarak veya olmaksızın hastaların %50'sinde biyokimyasal cevap olmaktadır.

Kemoembolizasyon bu işlemlerin kemoterapi ile kombine edilmesidir. Bazı hastalarda uzun süreli cevaplar görülmüştür. Tümör çapı 5 cm'den küçük ve sınırlı sayıda hepatik metastazları olan hastalarda semptom kontrolü için radyofrekans ablasyon uygulanabilir. Eksternal radyoterapi gastrointestinal sistem metastatik nöroendokrin tümörlerin tedavisinde nadiren kullanılabilir. En sık kemik, cilt ve beyin metastazlarına bağlı ağrı palyasyonu için uygulanabilmektedir (92). Tümör hedefli radyoaktif tedaviler (131I-MIBG/peptid reseptör radyonüklid) de son uygulanabilmektedir (92). Tümör hedefli radyoaktif tedaviler (131I-MIBG/peptid reseptör radyonüklid) de son dönemlerde popülerite kazanmıştır.

Medikal Tedavi

Medikal tedavi kemoterapi, somatostatin analogları ve interferon-alfa'yı (IFN- α) içerir. Anaplastik veya yüksek dereceli nöroendokrin tümörlerde kemoterapi daha etkilidir. Tek ajan kemoterapilerle çok düşük cevap alındığından kombinasyon kemoterapileri tercih edilmektedir (92). Yavaş seyirli tümörler olmaları nedeniyle ve kemoterapi duyarlılıkları yüksek olmadığı için, progresyon gösteren iyi diferansiye NET'lerde kemoterapi kullanılmalıdır. Pankreas kökenli iyi diferansiye NET'lerde streptozotosin ve fluorourasil/doksorubisin veya doksorubisin ve fluorourasil içeren kombinasyonlar

kullanılmaktadır. Streptozotosin, fluorourasil ± doksorubisin kombinasyonu ile en yüksek yanıt oranları sağlanmaktadır. Az diferansiye NET'lerde ise sisplatin ve etoposid kombinasyonuna cevap daha iyidir (98).

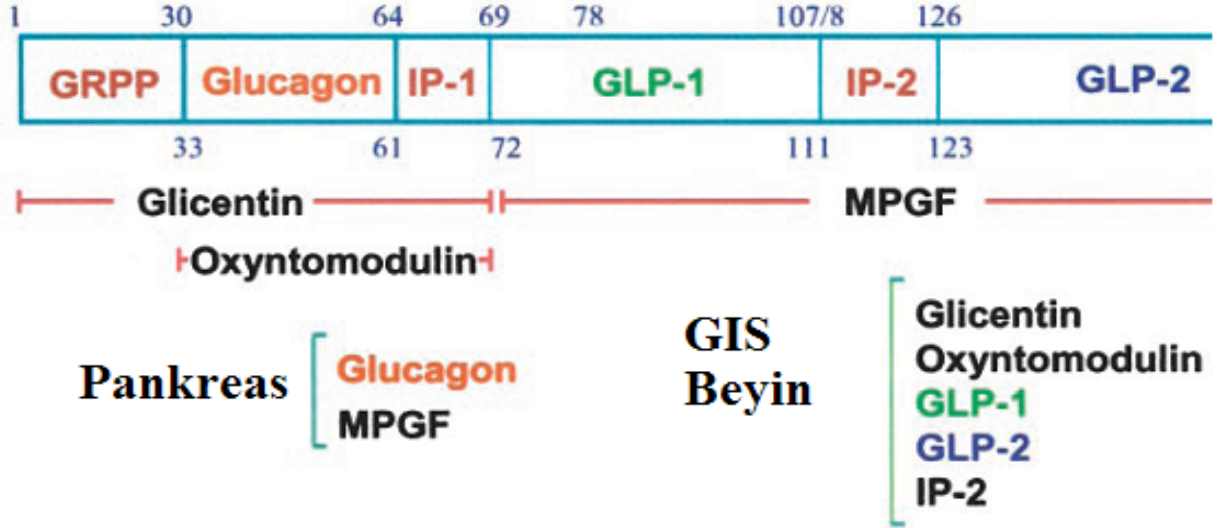
Somatostatin analoglarının antiproliferatif, antimitotik ve immünmodülatör etkileri vardır. Hormon ve büyüme faktörlerinin salınımını engeller, anjiyogenezi inhibe ederler. Somatostatin analogları %40-55 semptomatik cevap, %40-50 biyokimyasal cevap, < %10 tümör regresyonu, > %80 tümör büyümesinde geçici stabilizasyon sağlarlar (99-101). IFN- α tek başına ya da somatostatin analogları/kemoterapi ile birlikte kullanılabilir. IFN- α %40-70 semptom kontrolü, %40-50 biyokimyasal kontrol ve %10-15 büyüme kontrolü sağlar (102). Fakat sağkalımı arttırdığına dair randomize kontrollü bir çalışma yoktur. İnterferon tedavisinin oktreotid tedavisine eklenmesinin sadece oktreotid dirençli olan hastaların semptomlarının kontrolünde etkin olduğu gösterilmiştir (103).

2.6. Proglukagon Derive Peptidler

Memelilerdeki Proglukagon geninin post translasyonu ile doku spesifik olarak proglukagon derive peptidler isminde bir çok önemli biyolojik peptid oluşmaktadır. Bunlar glukagon, glukagon like peptid-1 (GLP-1), glukagon like peptid-2 (GLP-2), intervening peptid 1-2 (IP-1, IP-2), glicentin ve oxyntomodulindir. Proglukagon derive peptidler, kan glukozundaki değişiklikler ya da besin alımına bağlı olarak endokrin hücrelerden salınıp etkilerini G protein ilişkili reseptörler aracılığıyla göstermektedirler (104).

Glukagon, 29 amino asitli peptid yapıda bir hormon olup pankreastaki Langerhans adacıklarındaki alfa hücrelerinden salınır ve glikojenolizis ve glukoneogenezisi kontrol ederek glukoz metabolizmasında anahtar rol oynar (105). Bunun aksine diğer peptidlerin hepsi ince ve kalın barsaktaki enteroendokrin hücrelerden salınırlar. Hepsi aynı prekürsör molekülden dönüşüme uğradıkları için salgılanmalarının da birbirine paralel olduğu düşünülmektedir.

İnsan Preproglukagon ve PGDP' ler



Şekil 3: İnsan Proglukagon Derive Peptidler (105)

Glicentin ve oxyntomodulin, GLP-1 ve GLP-2 ile beraber enteroendokrin hücrelerden salınmasına rağmen canlıdaki biyolojik aktiviteleri hakkında daha az şey bilinmektedir. Glicentinin farelerde intestinal büyümeyi arttırdığı, insülin salınımı uyarıp glukagon ve gastrik asid sekresyonu inhibe ettiği, gastrointestinal sistem motilitesini düzenlediği gösterilmiştir(106). Oxyntomodulinin de gastrik asid ve insülin sekresyonu; intestinal heksoz transportu üzerinde düzenleyici etkisi olduğu ratlarda gösterilmiştir. Ayrıca oxyntomodulinin intracerebroventriküler olarak verilmesi sonucu aç ve tok rodentlerde yiyecek alımını azalttığı gösterilmiştir (107). Fakat bu peptidlerin bağlandığı reseptörler henüz tespit edilememiştir (108).

Glukagon benzeri peptidlerin metabolik etkileri dışında hücre proliferasyonu ve doku tamirinde de görevleri vardır. Glukagonun ratlarda hepatosit proliferasyonunu arttırdığı ve in vivo parsiyel hepatektomi sonrası hepatic DNA sentezini arttırdığı görülmüştür (109).

GLP-1 ve GLP-2, proglukagondan prohormone convertaz enzimi aracılığıyla koparılıp oluşurlar (110). GLP-1 ve GLP-2, özellikle distal ileum ve kolonda yerleşmiş olan enteroendokrin L hücrelerinden salınırlar. GLP-1 ve GLP-2'nin aminoasit yapıları pankreatik glukagon hormonuyla yaklaşık % 50 benzerlik göstermektedir. GLP-1 ve GLP-2;

reseptörleriyle etkileşime girdikten sonra direkt olarak sinyal yollarını düzenleyerek hücre proliferasyonunu artırıp apoptozisi inhibe ederler.

GLP-1'in; yapılan deneysel çalışmalarda yemek sonrası barsaklardan salındığı, glukagon üzerine inhibisyon etkisi göstererek kan glukoz seviyesi kontrolünde yeri olduğu kanıtlanmıştır (111). GLP-1'in farelerde adacık hücre proliferasyonunu arttırdığı ve ratlarda da parsiyel pankreatektomi sonrası kan glukozunu düşürdüğü saptanmıştır (112). Hayvanlarda, sağlıklı insanlarda ve diyabetli bireylerde yapılan çalışmalarda GLP-1'in kan glukoz seviyesini düşürdüğü gözlenmiş ve bu da GLP-1'in insülin bağımsız diyabet hastalarında tedavi amaçlı kullanımını gündeme getirmiştir. GLP-1 sadece glukoz bağımlı insülin sekresyonunu uyarmakla kalmaz aynı zamanda somatostatin salınımını artırır; glukagon sekresyonunu, gastrik boşalmayı ve gastrik asid sekresyonunu da inhibe eder (111).

Somatostatinin de GLP sekresyonu üzerine inhibitör etkisi vardır (113). İnsülinin intestinal GLP sentezi ve salınımı üzerine olan potansiyel inhibitör etkisi halen çok açık olmamakla birlikte insülinle tedavi edilen diyabetik ratlarda dolaşımdaki intestinal proglukagon derive peptidlerin seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (114).

2.6.1.GLP-2: Sentezi, Salınımı ve Yıkılımı

GLP-2; 33 aminoasitli peptid yapıda bir hormon olup proglukagonun karboksiterminal ucunda 126-158 aminoasitler arasında yer alır ve barsak endokrin hücrelerinden salgılanır. GLP-2, barsak epitelinde kript hücre proliferasyonunu artırıp apoptozu inhibe etmek suretiyle epitelyal mukozanın genişlemesine sebep olan intestinotropik bir hormondur. Ayrıca GLP-2 intestinal glukoz transport aktivitesini artırır, mide boşalmasını geciktirir ve mide asit sekresyonunu azaltır. GLP-2'nin iki moleküler formu tariflenmiştir. Bunlar aktif formu olan GLP-2 (1-33) ve inaktif formu olan GLP-2 (3-33) dir.

GLP-2 beyin hücreleri ve hipotalamusta da sentezlenir; fakat santral sinir sistemindeki GLP-2 sentezi ve salınımı üzerinde etkili faktörler hakkında bir çok bilinmeyen vardır (115).

GLP-2'nin biyolojik rolü yakın zamana kadar bilinmemekle birlikte ilk defa 1996 yılında Drucker ve arkadaşları tarafından murinelerin ince barsaklarında mukozal epitelyal proliferasyonun potent stimülatörü olduğu gösterilerek ortaya konmuştur (116).

İntestinal proglukagon derive peptidlerin özellikle de GLP-2'nin , hem rodentlerde hem de insanlarda sentez ve sekresyonunun başlıca uyarıcısı besinlerdir. Özellikle yağ asitleri ve fiberden zengin beslenme proglukagon mRNA transkripsiyonunu artırıp gastrointestinal sistemden proglukagon derive peptid salınımını uyarmaktadır (117). Yapılan çalışmalarda özellikle karbonhidrat ve yağdan zengin beslenmenin GLP-2 uyarısını 2-5 kat arttırdığı, buna

karşın protein içerikli besinlerin postprandiyal salgı üzerine etkisi olmadığı gösterilmiştir. Besinlerin uyardığı GLP-2 salınımı bifaziktir; besin alımından sonra 10. dakikada ortaya çıkan bir pik salınım ve ardından 1. saatte ortaya çıkan ikinci bir pik salınımı vardır (118).

Besinlerin uyarısıyla salınıp dolaşımında hızla seviyeleri artan GLP-1 ve GLP-2 'nin biyoaktif formlarının seviyesi hızla azalır. DP-4 enziminin yaptığı 2. pozisyondaki alanin amino asidindeki N-terminal degradasyonla her iki peptidin de aktif formları yıkılır ve inaktif formları oluşur (119). GLP-2; dipeptidil peptidaz 4 (DP 4) enzimiyle inaktive edilip böbreklerden atılır (120). İnsanlardaki GLP-2 yarılanma ömrü 7.2 dakikadır (121).Yapılan çalışmalarda inaktif GLP-2 (3-33) formunun yarı ömrünün daha uzun olduğunun (yaklaşık 27 dakika) saptanması üzerine tedavi ajanı olarak bu formun geliştirilmesi gerektiği düşünülmüştür .

Böbrek yetmezliği olan hastalarda artmış GLP-2 seviyeleri; böbreklerin GLP-2 klirensinde non enzimatik yıkılımda sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Benzer olarak ratlarda deneysel nefrektomi sonrası GLP-2'nin klirensinde gecikme ve dolaşımdaki seviyelerinde artış tespit edilmiştir (122). GLP-2 hızla inaktive olmaktadır fakat ikinci pozisyondaki alanin bölgesindeki bir yarılanma sonucu DP 4 rezistans GLP-2 analogları oluşmaktadır (123). In vitro GLP-2 ve DP 4 birlikte verildiğinde biyoaktif GLP-2 (3-33) de artış olmuş; in vitro ve in vivo DP 4 inhibitörü verildiğinde ise GLP-2 yıkılımının engellendiği gözlemlenmiştir(121).

Hafif ya da ciddi intestinal inflamasyonu olan hastalarda dipeptidil peptidaz 4 seviyelerinde azalmaya bağlı olarak biyoaktif GLP-2 seviyelerinde artış gözlenmektedir. Bunun aksine geniş ince barsak rezeksiyonu geçirenler ya da inflamatuvar barsak hastalığı olup özellikle terminal ileum tutulumu olanlarda GLP -2 seviyeleri ve GLP-2 sekresyonu azalmıştır(124). Bunun yanında ileal rezeksiyon geçirip kolonu korunan hastalarda GLP-2 seviyelerinde ve intestinal adaptasyonda artış gözlenmiştir (125). Tüm bunlar distal ileum ve kolonun enteroendokrin L hücrelerince zengin olduğunu ve GLP-2 salınımının başlıca sorumlu alanları olduğunu göstermektedir.

2.6.2.GLP-2'nin Biyolojik Etkileri

Artmış glukagon benzeri peptidlerle barsak villus hiperplazisi arasındaki ilişkiyi ortaya çıkaran ilk kanıtlar; ince barsak hiperplazisi olan ve glukagon salgılayan tümörü olan hastalarda Gleeson ve arkadaşları tarafından ortaya çıkarılmıştır (126). Renal endokrin tümörü olan 44 yaşında bir bayan hastada kusma, kabızlık, abdominal distansiyon şikayetleri olması üzerine yapılan incelemelerde elde edilen jejunal biyopsilerde villuslarda genişleme izlenmiş;

çıkarılan sağ böbrek dokusundaki yedi cm.lik kitle incelendiğinde glukagon immunopozitifliği saptanmış ve hastanın o dönemde serum glukagon seviyesi de normalin 10 katı olarak saptanmıştır. Tümör çıkarıldıktan haftalar sonra ince barsak villus hiperplazisinde gerileme olduğu gösterilmiştir. Tüm bu bulgular glukagon ya da tümör ilişkili salınan peptidlerin ince barsak mukozasındaki değişikliklerden sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Daha sonra glukagonamalı hastalarda yapılan çalışmalarda da artmış PGDP seviyeleri ve intestinal mukozal epitelyal hiperplazi arasında ilişki saptanmıştır.

Fare ve tavşanlarda yapılan bir çalışmada 7-10 gün boyunca hayvanlara ekzojen GLP-2 verilmiş ve hayvanların ince barsak villus boylarında, ince barsak kitlesinde özellikle de jejunumda olmak üzere önemli derecede bir artış ve barsak boyunda bir miktar uzama gözlenmiştir (127). GLP-2 'nin sebep olduğu mukozal kalınlık artışı kript hücre proliferasyonundaki artış ve enterosit apoptozis oranındaki ve proteolizisteki azalmaya bağlıdır (114). GLP-2'nin proliferatif etkileri; GLP-2 ekzojen olarak verildiğinde fare, rat, domuz ve insanların ince barsak mukozalarında gösterilmiştir. Ayrıca GLP-2, daha az oranda mide ve kolon hücreleri için de mitojenik özellik göstermektedir (128).

Farelerde 3 ay boyunca günlük GLP-2 infüzyonu verilerek yapılan bir çalışmada da GLP-2'nin büyüme üzerine etkisinin sadece gastrointestinal sistemde sınırlı kaldığı ve ekstraintestinal dokularda hücre proliferasyonuna dair kanıt olmadığı saptanmıştır (129). GLP-2'nin gastrointestinal sistem üzerine koruyucu etkisi artmış epitelyal bariyer fonksiyon ve azalmış gastrointestinal sistem permeabilitesiyle ilişkilendirilmiştir (130).

Enteral beslenmenin intestinal mukozal büyüme etkisi; yiyeceklerin GLP-2 üzerine stimülatör etkisiyle açıklanıp ratlarda paranteral beslenmeyle ortaya çıkan mukozal hipoplaziye karşı GLP-2'nin koruyucu olduğu gösterilmiştir (131). İnce barsak GLP-2' ye karşı daha sensitif olmasına rağmen yüksek dozlarda GLP-2 ya da daha potent GLP-2 analogları uygulandığında kalın barsak mukoza kalınlığında da önemli derecede artış saptanmıştır (121).

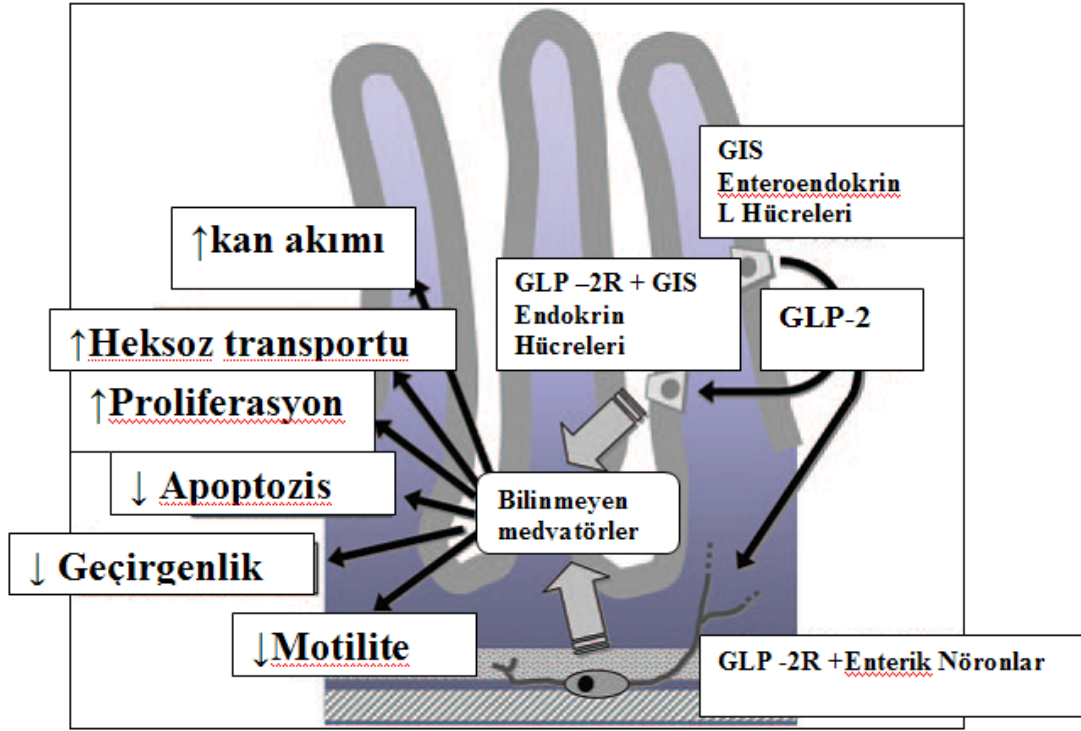
GLP-2'nin farelerin ince barsak epitelinde heksoz ve glukoz transportunu arttırdığı ve insülinin stimüle ettiği antral motiliteyi, gastrik asid sekresyonunu azalttığı gösterilmiştir. GLP-2 tüm bunları trofik etkilerinden bağımsız olarak yapmaktadır (132). GLP-2, ayrıca SGLT-1 ve GLUT-1 gibi spesifik şeker transport proteinlerinin aktivitesini, intestinal kan akımını ve glukoz uptake'ni de artırır. Paranteral GLP-2 verilmesi sonrasında ince barsakta maltaz, sukraz, laktaz, glutamil transpeptidaz ve dipeptidil peptidaz 4 aktivitelerinde artış saptanmıştır (133).

GLP-2'nin in vitro hipotalamus ve hipofiz ekstrelerinde adenilat siklaz aktivitesini arttırmasına rağmen, GLP-2 nin santral sinir sistemindeki rolü hala açık değildir (134). Ratlarda ve farelerde intraserebroventriküler GLP-2 verilmesi sonrası besin alımının azaldığının gözlenmesine rağmen GLP-2'nin anoreksik peptid olarak fizyolojik önemi bilinmemektedir (135). Son dönemde Drucker ve arkadaşları tarafından ratlarda yapılan in vitro bir çalışmada GLP-2'nin astrositlerde proliferasyonu uyardığı ve murinelerin hippocampal hücrelerinde glutamata bağlı sitotoksisteyi azalttığı gösterilmiştir (119). Fakat GLP-2'nin beyindeki proliferatif ve antiapoptotik etki mekanizmaları bilinmeyenlerle doludur.

2.6.3. GLP-2 Reseptörü ve Aktivitesi

Glukagon ve GLP-1'in etkilerini farklı genler tarafından kodlanan G protein ilişkili reseptörlere bağlanarak gösterdiği bilinmektedir .

GLP-2 infüzyonu sonrası intestinal glukoz transportunun artışı; memelilerdeki GLP-2 reseptörünün; glukagon, GLP-1 reseptörü ve glukagon-sekretin reseptör ailesiyle ortak sekanslar içeren bir yapıya sahip olduğunu düşündürmüştür. RT-PCR ile yapılan çalışmalarda rodentlerde GLP-2 reseptörü ekspresyonu midede, barsakta, akciğerlerde ve beyinde tespit edilmiş ve bu reseptörün glukagon ve GLP-1 reseptörleriyle ciddi yapısal benzerliğinin olduğu gösterilmiştir (108). Son dönemde Orskov ve arkadaşları tarafından immunhistokimyasal ve in situ hibridizasyon yöntemleriyle yapılan çalışmalarda GLP-2R ekspresyonu insanların enteroendokrin hücrelerinde , murinlerin enterik nöronlarında ve rat, fare ve insanların subepitelyal miyofibroblastlarında saptanmıştır (136).



Şekil 4: GLP-2'nin Gastrointestinal Mukoza Epiteli Üzerine Etkileri (105)

GLP-2R geni 550 aminoasitten oluşur ve 17. kromozom üzerinde lokalizedir (136). GLP-2R pozitif enteroendokrin hücreler aynı zamanda GIP, serotonin, peptid YY, kromogranin ve GLP-1 açısından da immunopozitiflik gösterirler (136).

GLP-2; reseptörle birleştikten sonra adenilat siklaz aktivitesini arttırarak adozin 3,5-siklik monofosfat seviyesini ve PKA'yı yükselterek etki etmekte fakat intrasellüler kalsiyumu etkilememektedir (108). ELK-1, c-fos ve c-jun genleri aktive olmakta ve hücre proliferasyonu artmaktadır.

Son yapılan çalışmalar GLP-2'nin hücresel proliferasyonda birden fazla sinyal yolağı aracılığıyla etki gösterdiğini düşündürmektedir. Bu elde edilen sonuçlar verilen GLP-2 nin dozu ve epitel hücrelerinin yapısına bağlıdır. İki birbirinden bağımsız çalışmada GLP-2'nin ince barsak epitel hücreleri olan IEC-6 ve IEC-18 in proliferasyonunu inhibe ettiği ; aynı zamanda kanser ilişkili insan derive epitel hücreleri olan Caco-2 ve Colo-320 proliferasyonunda artışa sebep olduğu gösterilmiştir (137).

Son dönemde yayınlanan ve farelerde yapılan yeni bir çalışmada da GLP-2'nin sinyal yolağında beta catenin / T cell factor (THC) ün önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Farelerde GLP-2 verilmesi sonrası reseptör aktivasyonu ile birlikte beta catenin mediyatör seviyelerinde

artış tespit edilmiş ve bu artış kript hücre proliferasyonundan direkt olarak sorumlu tutulmuştur (138).

GLP-2'nin farelerde indometazin verilmesi sonrası oluşan barsaklardaki kript hücre apoptozisini inhibe ettiği gösterilmiş olup GLP-2'nin bu anti apoptotik etkisini reseptörle etkileşim sonrası direkt ya da indirekt hangi mekanizmalarla yaptığı açığa kavuşturulamamıştır.

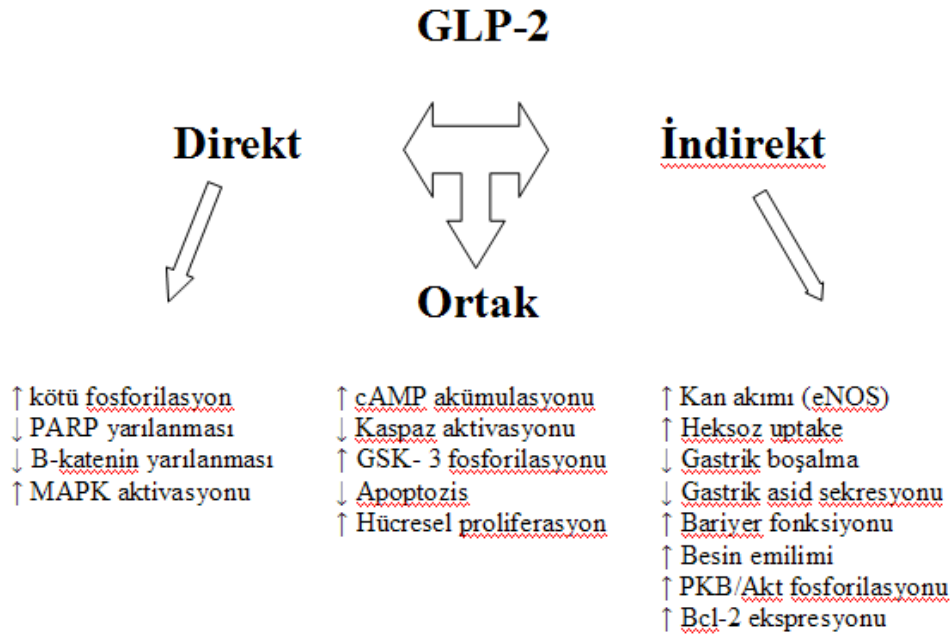
Bebek hamster böbrek fibroblastlarında yapılan bir çalışmada GLP-2 R aktivasyonu sonrası; sikloheksimidle oluşturulan apoptozisin inhibe edildiği gösterilmiştir. GLP-2'nin DNA kırıklarını azalttığı ve hücre sel sağ kalımı arttırdığı; tüm bunları kaspaz-3, kaspaz-8, kaspaz-9 aktivitelerini, sitokrom c salınımını ve poly ADP riboz polimerazı azaltarak yaptığı gösterilmiştir (139).

Yeni doğan domuzlarda yapılan bir çalışmada da GLP-2 infüzyonu sonrası hücre sel sağ kalımın arttığı ve bunun artmış GLP-2 infüzyon sıklığına paralel olarak artan intestinal bcl-2 ekspresyonuyla artmış intestinal protein sentezi ve azalmış proapoptotik glikojen-sentaz kinaz-3 fosforilasyonuna; yine artmış kaspaz-3 supresyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir (140). Yine aynı çalışmada sadece yüksek doz GLP-2'nin intestinal nitrik oksit sentetazı arttırdığı ve bunun apoptozisi azalttığı gösterilmiştir.

Ayrıca GLP-2R fetal ya da neonatal rodentlerin de gastrointestinal sistemlerinde tespit edilmiş olup GLP-2 ve reseptör etkileşiminin gastrointestinal sistem epitel oluşumunda da rolü olabileceğini düşündürmektedir. Ekzojen GLP-2 verilmesi sonrası neonatal ratların ince ve kalın barsak boyutlarında ve ince barsak gelişiminde artış olması bu teoriyi desteklemektedir (141).

GLP-2R mürinlerin hem enterik nöronlarında hem de serebral korteks astrositlerinde bulunmuştur. Bjerknæs ve Cheng, in situ hibridizasyonla GLP-2R'nü enterik sinir hücrelerinin non epitelyal elemanlarında da tespit etmiş ve GLP-2'nin enterik nöronlarda c-Fos aktivitesini arttırdığını; bunu da jejunum ve kolondaki kript hücrelerindeki c-Fos aktivite artışının izlediğini göstermişlerdir (142). Bu da bize enterik nöronal aktiviteye ikincil olarak kript hücre proliferasyonunun gerçekleştiğini göstermektedir.

GLP-2R'nin insanlarda enteroendokrin hücreler ve nöronlarda eksprese edildiği bilinmesine rağmen barsak hastalıklarında GLP-2R yerleşimi hakkında henüz kesin bilgiler mevcut değildir.



Şekil 5: GLP-2 ve Hücre Proliferasyonundaki Etki Mekanizmaları (105)

2.6.4. GLP-2 ve İntestinal Hasar

GLP-2'nin in vivo ve in vitro epitelyal hücre proliferasyonunda artışa yol açtığına görülmesi üzerine barsak hastalıklarında GLP-2'nin tedavi amaçlı kullanımı tartışılmaya başlanmıştır.

Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda, intestinal hasar oluşturulan deney hayvanlarının kanında artmış oranda GLP-2 ve diğer proglukagon derive peptidleri saptanmıştır (143). Major ince barsak rezeksiyonu yapılan ratlarda; GLP-2 infüzyonu sonrası mukozal ağırlıkta, villus boyunda, sukroz aktivitesinde ve D-xyloz absorpsiyonunda artış saptanmıştır (144). Benzer şekilde inflamatuvar barsak hastalığı olan hastaların kanlarında da plazma GLP-2 seviyelerinde ve özellikle GLP-2 (1-33) / GLP-2 (3-33) oranında artış izlenmiştir (124).

Buna karşılık farelerde yapılan çalışmalarda çok ciddi oranda barsak mukozasında hasar oluşturulduğunda GLP-2 sekrete eden enteroendokrin hücrelerin de hasarlandığı ve biyosentez kapasitelerinde azalma olduğu izlenmiştir (145). Bunun yanında, fonksiyonel barsak mukozasının büyük kısmı çıkarılan ve kısa barsak sendromu gelişen insanlarda da GLP-2 seviyelerinde azalma ve salınımlında defektler izlenmiştir (119).

Chance ve arkadaşlarının ratlarda yaptıkları bir çalışmada sadece intravenöz beslenen hayvanlarda gelişen villöz atrofi ve mukozal hipoplazinin eş zamanlı GLP-2 infüzyonu da

verilmesi halinde geri döndüğü gösterilmiştir (131). GLP-2 tedavisi ince barsak kitlesinde ve DNA içeriğinde artışa yol açmakla birlikte kalın barsak üzerinde etkileri anlamlı olarak gözlenmemiş, tümör oluşumu da izlenmemiştir; bu da GLP-2 'ye karşı gastrointestinal sistemin her bölgesinin farklı duyarlılığa sahip olmasıyla açıklanmıştır. GLP-2 tedavisi kesildikten sonrada intestinal mukozadaki değişiklikler başlangıç durumuna geri dönmüştür.

Benzer şekilde Boushey ve arkadaşları tarafından farelerle yapılan bir çalışmada, farelere indometazin verilmiş ve enterit tablosu oluşturulmuş; bu hayvanlara indometazin öncesi, eş zamanlı ya da 48-72 saat sonrasında da DP4 rezistans GLP-2 (h(Gly)-GLP-2) infüzyonu verildiğinde her üç grupta da anlamlı derecede farelerdeki sağ kalım oranlarının arttığı görülmüştür. Mortalitedeki azalma GLP-2'nin hastalık aktivitesini, intestinal sitokin salınımını ve önemli oranda intestinal geçirgenliği azaltarak bakteriyel infeksiyon görülme oranını azaltmasına bağlanmıştır (146).

Ratlardaki iskemik barsak hasarında da GLP-2'nin pozitif etkileri gözlenmiştir. Superior mezenterik arter tıkanması sonrası verilen GLP-2 ile mukozal yenilenme ve mortalitede önemli derecede azalma izlenmiştir (147)

GLP-2'nin koruyucu etkileri; Drucker ve arkadaşlarının farelerde yaptığı bir çalışmada dextran sulfat ile kalın barsakta kolit oluşturulup konkomitan GLP-2 verilmesi sonrası hastalık aktivitesinin, intestinal interlökin ekspresyonunun azaldığı (özellikle IL-1) ve anlamlı derecede kilo kaybında azalma olduğu gözlenerek gösterilmiştir (145)

Tavakkolizadeh ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmalarda sadece 5 FU ile tedavi edilen tümörü olan ratlarla GLP-2 ve 5-FU birlikte verilen tümörlü ratlar karşılaştırılmış ve ikinci grupta intestinal hasarın azaldığı gözlemlenmiştir (148). Yine bir topoizomeras inhibitörü olan irinotekan verilmeden önce h(Gly₂ GLP-2) verilen farelerde sadece irinotekan verilen farelere göre önemli derecede bakteriyel infeksiyonunun , intestinal hasarın ve mortalitenin azaldığı gösterilmiştir. Histolojik ve biyokimyasal analizler kript hücre apoptozisinde azalma ve intestinal kaspaz-8 aktivitesinde azalma olduğunu ortaya koymuştur (149).

Yine Drucker ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada GLP-2 ile birlikte barsak dokusu üzerinde trofik etkileri olan GH, IGF 1 ve 2, EGF de ratlara verilmiştir. GLP-2'ye bağlı trofik etkiler sadece barsaklarda görülmüş diğerlerine bağlı değişiklikler birçok dokuda gözlenmiştir. Barsaklarda GLP-2 intestinal epitel dokusunda etki göstermiş diğer faktörler ise etkilerini submukozal muskuler kas tabakasında göstermişlerdir (150).

Tüm bu kanıtlar bize GLP-2'nin hem ince hem de kalın barsakta intestinal hasara onarıcı bir yanıt oluşturduğunu göstermektedir. Bunun yanı sıra ekzojen GLP-2'nin düşük

dozlarının (2.5nM/kg/gün) gastrointestinal sistem epitelyumunda daha ön planda antiapoptotik etki gösterdiği fakat yüksek dozlarının da (10nM/kg/gün) hücre proliferasyonunda etkin rol aldığı gösterilmiştir (140).

Tüm bunlara karşılık olarak Schmit ve arkadaşları da sağlıklı kontrol grubu ve inflamatuvar barsak hastalığı olan insanların plazmalarında hem açlık hem de beslenme sonrası GLP-2 seviyelerinde farklılık tespit etmemişlerdir (151)

2.6.5.GLP-2'nin İnsan Barsak Hastalıklarının Tedavisinde Kullanımı ve

GLP-2'nin Potansiyel Karsinojenik Etkisi

GLP-2' nin deneysel olarak barsak hasarındaki olumlu etkilerine rağmen GLP-2 'nin insanlarda barsak hastalıklarının tedavisindeki yeri hakkında bilgilerimiz çok sınırlıdır. GLP-2'nin besin emilimini, mukozal emilim alanını ve intestinal hücrelerde sağ kalımı arttırdığının gösterilmesinden sonra başta kısa barsak sendromu olmak üzere GLP-2'nin barsak hastalığı olan insanlarda kullanımı düşünülmeye başlanmıştır.

Kısa barsak sendromu ve buna bağlı malabsorpsiyonu olan sekiz hastada yapılan bir çalışmada; hastalara 35 gün boyunca günde iki kez subkutan GLP-2 verilmiştir (128). Tedavi sonunda hastaların kilo ve vücut kitle indekslerinde artış, yağ kitlelerinde azalma, kemik dansitelerinde artış ve hastalardan beşinin biyopsisinde ince barsak villus boylarında, kripte derinliğinde ve mitotik indekste artış izlenmiştir. Bu süre zarfında hastaların tedaviye uyumları iyi olup hiçbir biyokimyasal ya da hematolojik tetkikte anormallik saptanmamıştır. Tüm bu pozitif sonuçlar küçük oranlarda olsa da GLP-2 nin potansiyel tedavi edici kullanımı ve daha potent rezistans GLP-2 analoglarının geliştirilmesi konusunda ümit vaat etmektedir.

Son yıllarda GLP-2 hakkında yapılan birçok çalışmaya rağmen GLP-2 nin gastrik boşalma ve asit sekresyonu, ince barsak proliferasyonu ve apoptozisi, besin absorpsiyonu ve epitelyal permeabilite üzerine olan etkileri halen çok açık değildir. Benzer şekilde GLP-2'nin kolon mukozasındaki proliferasyona katkısı hakkında da bilinmeyenler bulunmaktadır. Şu anda degridasyona dirençli GLP-2 analogu olan Teduglutide; Crohn hastalığı için faz 2 aşamasında, kısa barsak sendromu için ise faz 3 aşamasındaki çalışmalarda denenmektedir.

GLP-2'nin barsak hastalıklarında yararlı proliferatif etkilerinin olması akla acaba bu proteinin kanser gelişiminde de yeri var mı sorusunu getirmiştir. Bunu incelemek üzere Thulesen ve arkadaşları; 210 dişi fareye karsinojen olan 1,2 dimetilhidrazine (DMH)i subkutan olarak 7 günde bir 12 hafta boyunca vermişlerdir. Bu süre sonunda fareler 3 gruba ayrılmış; bir gruba SC GLP-2, diğer gruba SC stabil analog olan Gly2-GLP-2 ve diğer gruba da plasebo verilmiş ve bu gruplarda kendi içlerinde 10 günlük ve 1 aylık tedavi süreleri olmak

üzere alt gruplara ayrılmışlardır. Daha sonra postmortem bu farelerin kolon ve rektum dokuları incelenmiştir. Gly2-GLP-2 verilenlerde daha fazla olmak üzere GLP-2 verilenlerde de plaseboya göre anlamlı olarak barsak kitlesinde artış gözlenmiş ve bu yapılan enjeksiyonların toplam sürelerinden bağımsız bulunmuştur. Tüm farelerde kolon poliplerinin geliştiği gözlenmiştir. Tüm poliplerin histolojisi tubuler adenom olarak saptanmıştır. Bu çalışma Gly2- GLP-2 nin kolon kanseri insidansını ciddi anlamda artırdığını düşündürmektedir (152)

Dolayısıyla barsak hastalıklarında tedavi amaçlı kullanımı tartışılan GLP-2'nin aynı zamanda kolon kanseri gelişimi açısından da risk oluşturabileceği düşünülmüştür.

2.6.6 Gastrointestinal Nöroendokrin Tümör ve GLP-2 İlişkisi

GIS nöroendokrin tümörleri ve GLP-2 arasındaki ilişkiye ait bir adet 4 olgudan oluşan küçük bir çalışma mevcuttur. Yusta ve ark. 4 olguda GLP-2 R ekspresyonunu değerlendirmişlerdir ve 3 hastada küçük fokal alanlarda pozitiflik bulunmuştur (136). Bu çalışmada olgu sayısı azdır. Ayrıca GLP-2'nin barsak hastalıklarında yararlı proliferatif etkilerinin olması akla acaba bu proteinin kanser gelişiminde de yeri var mı sorusunu getirmiştir ve GIS Nöroendokrin tümörlerle de ilişkili olabileceğinden bu çalışma planlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya 2003-2009 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesinde tanı konulmuş GEP-NET'li hastalar alınmıştır. Çalışmaya başlamadan önce genel etik kurul onayı alınmıştır. etik kurul onayı alındıktan sonra başlanmıştır.

3.1. Hastalar

Çalışmaya, 2003-2009 arasındaki 6 yıllık dönemde Dokuz Eylül Üniversitesi Gastroenteroloji Bilim Dalında takip edilen 47 GEP-NET'li hasta ile 46 kontrol grubu dahil edilmiştir. Çalışmada hastaların patolojiden elde edilen parafin blokları kullanılmıştır.

3.2.İmmunohistokimyasal Boyama

Poli-L-lizinli lamlara hazırlanan kesitler GLP-2 Reseptör Antikor (1:100-1:200, 1 mg/ml) immunhistokimyasal boyasıyla boyanmıştır. Bu immunhistokimyasal boyama işlemi sırasında şu aşamalar uygulanmıştır:

1- Hazırlanan kesitler 1 saat süreyle 65 derecede etüvde bekletilmiştir.

2- Kesitler 20 dk. Ksilolde bekletilerek parafinden ayrıştırılmıştır.

3- Daha sonra % 96'lık alkolden başlayarak % 70'lik alkole dek azalan alkol serilerinden geçirilerek yeniden hidrate edilmiştir.

4- Kesitler akan suda yıkanmıştır.

5- Kesitler EDTA ile 20 dk. süreyle 99 derecede kaynatılmıştır.

6- Daha sonra Lab Vision Autostainer 360 ile boyama işlemi yapılmıştır. Bu işlem sırasında kesitler:

* % 3 'lük H₂O₂ damlatılarak 15 dk. bekletilmiştir.

* Sonra Tris ile yıkanmıştır.

* Large Volume Ultra V Block damlatılarak 5 dk. bekletilmiştir.

* Yıkama yapılmadan primer antikor (GLP-2, 1:100-1:200 oranında sulandırılarak) damlatılarak 60 dk bekletilmiştir.

* Süre sonunda Tris ile yıkanmıştır.

* Daha sonra biotinlenmiş keçi anti-polyvalent ile 20 dk süreyle yıkanmıştır.

* Süre sonunda Tris ile yıkanmıştır.

* Daha sonra streptavidin peroksidaz ile 20 dk süreyle yıkanmıştır.

* Diaminobenzidin (DAB) kromojen damlatılarak 7 dk süreyle bekletilmiştir. (DAB Kromojen solüsyonu 10 ml Tris içinde DAB kromojen tabletin eritilip 3 damla H₂O₂ eklenmesiyle elde edilmiştir.)

* Distile su ile yıkanmıştır.

7- Boyama işlemi sonrası kesitler 30 sn. Mayer's hematoksilen ile boyanıp distile suda yıkanmıştır.

8- Kesitler % 70'lik alkolden başlayarak % 96'lık alkole dek çoğalan alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilmiştir.

9- Ksilol ile 10 dk süreyle şeffaflandırdıktan sonra lamlar kapatma (montaj) makinesinde kapatılmıştır.

10- Pozitif kontrol olarak kolon dokusu kullanılmıştır.

Kesitlerdeki boyanma düzeyi, ışık mikroskopik olarak değerlendirilmiştir.

3.3.İstatistiksel Analiz

Tüm veriler SPSS 15.0 paket programına girildi. Sürekli değişkenler ortalama ve standart sapma olarak, kategorik değişkenler yüzde olarak ifade edildi. Gruplar arasında fark olan parametreler sürekli değişkenler için ikili gruplar şeklinde Mann Whitney U testi yapılarak karşılaştırıldı. Kategorik değişkenler karşılaştırılırken dört gözlü tabloda ki-kare testi uygulandı. P< 0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

4. SONUÇLAR

4.1. Demografik Bulgular

Çalışmaya gastrointestinal nöroendokrin tümör tanısı bulunan toplam 47 hasta alındı. Bu hastaların 27'si (% 57.4) kadın ve 20'si (% 42.6) erkek cinsiyetti. Kontrol grubunun ise 25'i (% 54.3) kadın ve 21'i (% 45.7) erkekti. Kontrol grubu cinsiyet dağılımı açısından hasta grubuyla benzer özellikteydi. Hastaların yaş ortalamaları 54 ve standart sapma 15.5 (min: 11 ve max:78) bulundu. Kontrol grubunun yaş ortalaması 57.ve standart sapma 14.8(min:11 ve max:84) bulundu ve hasta grubuyla benzer özellikteydi.

Tablo 5. Hastaların yaş dağılımı

	<i>Minimum</i>	<i>Maksimum</i>	<i>Ortalama</i>
<i>Yaş</i>	<i>11</i>	<i>78</i>	<i>54 ± 15.5</i>

Tablo 6. Kontrol grubu yaş dağılımı

	<i>Minimum</i>	<i>Maksimum</i>	<i>Ortalama</i>
<i>Yaş</i>	<i>11</i>	<i>84</i>	<i>57.5 ± 14.8</i>

Tablo 7. Hastaların cinsiyet dağılımı

	<i>Sayı</i>	<i>Oran(%)</i>
<i>Kadın</i>	<i>27</i>	<i>57.4</i>
<i>Erkek</i>	<i>20</i>	<i>42.6</i>
<i>Toplam</i>	<i>47</i>	<i>100</i>

Tablo 8. Kontrol grubu cinsiyet dağılımı

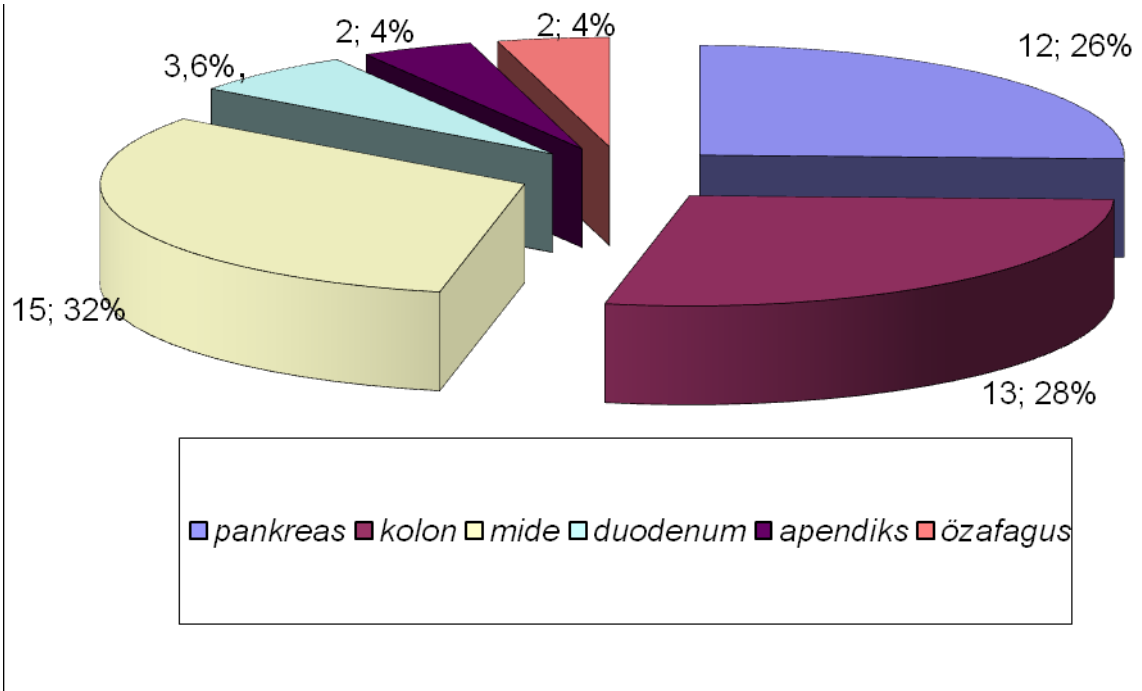
	Sayı	Oran(%)
<i>Kadın</i>	<i>25</i>	<i>54.3</i>
<i>Erkek</i>	<i>21</i>	<i>45.7</i>
<i>Toplam</i>	<i>46</i>	<i>100</i>

4.2.Olguların Klinik-Patolojik Özellikleri

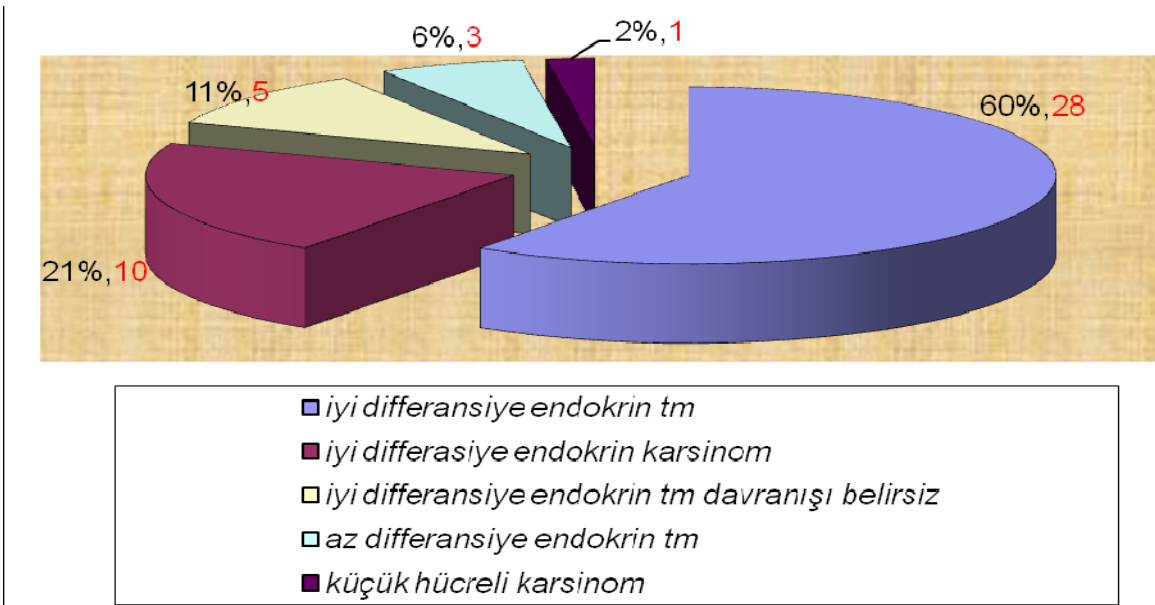
Nöroendokrin tümörlerin lokalizasyona göre dağılımına bakıldığında 15'i mide, 12'si pankreas, 13'ü kolon, 3'ü duodenum, 2'si apendiks ve 2'si özofagusda lokalize saptandı.

Olguların histopatolojik olarak dağılımlarına bakıldığında 28'i iyi differansiye endokrin tümör olarak saptandı. Geriye kalan 10'u iyi differansiye endokrin karsinom, 5'i iyi differansiye endokrin tümör davranışı belirsiz tür, 3'ü az differansiye endokrin tümör ve 1'i küçük hücreli karsinom olarak saptandı. GEP-NET'lerin boyutlarına bakıldığında 22'si 1 cm'den küçük, 17'si 2 cm'den büyük, 5'i 1 ve 2 cm arasında, 3'ünde de tümör boyutu tanımsızdı.

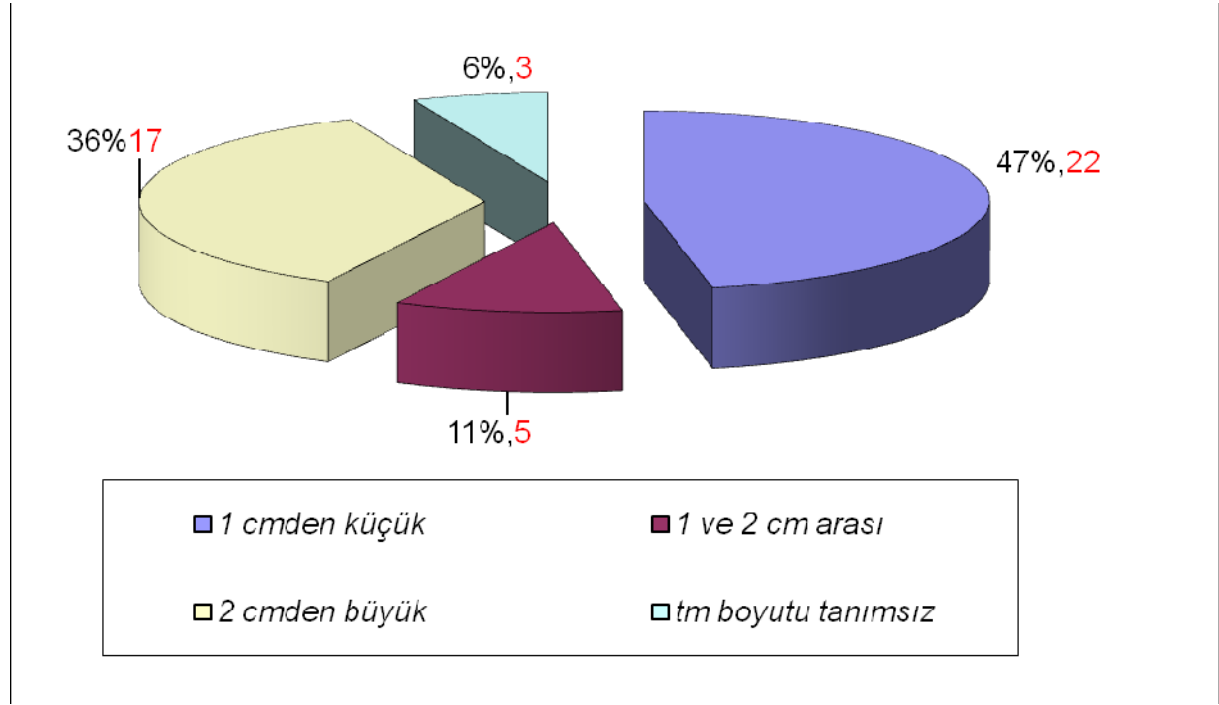
Şekil 6. Nöroendokrin Tümörlerin GIS Dağılımı



Şekil 7. GIS Nöroendokrin Tümörlerinin Histopatolojik Dağılımı



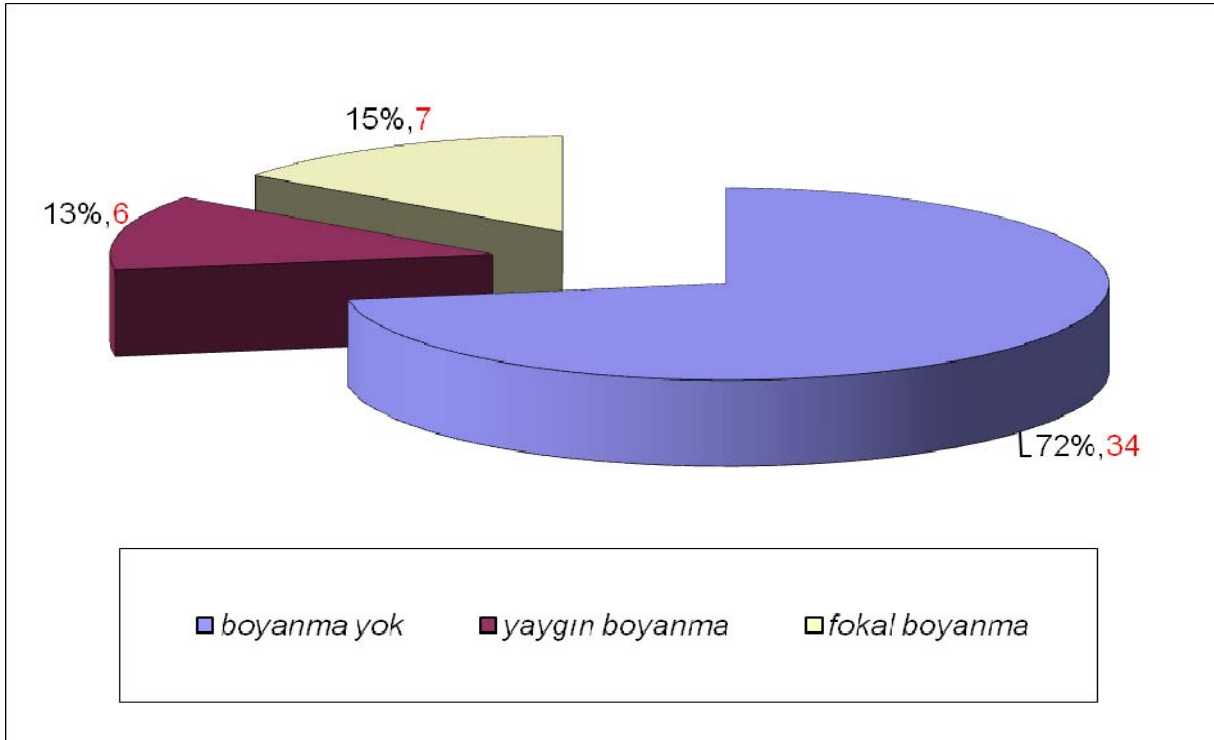
Şekil 8. GIS Nöroendokrin Tümörlerin Boyutları



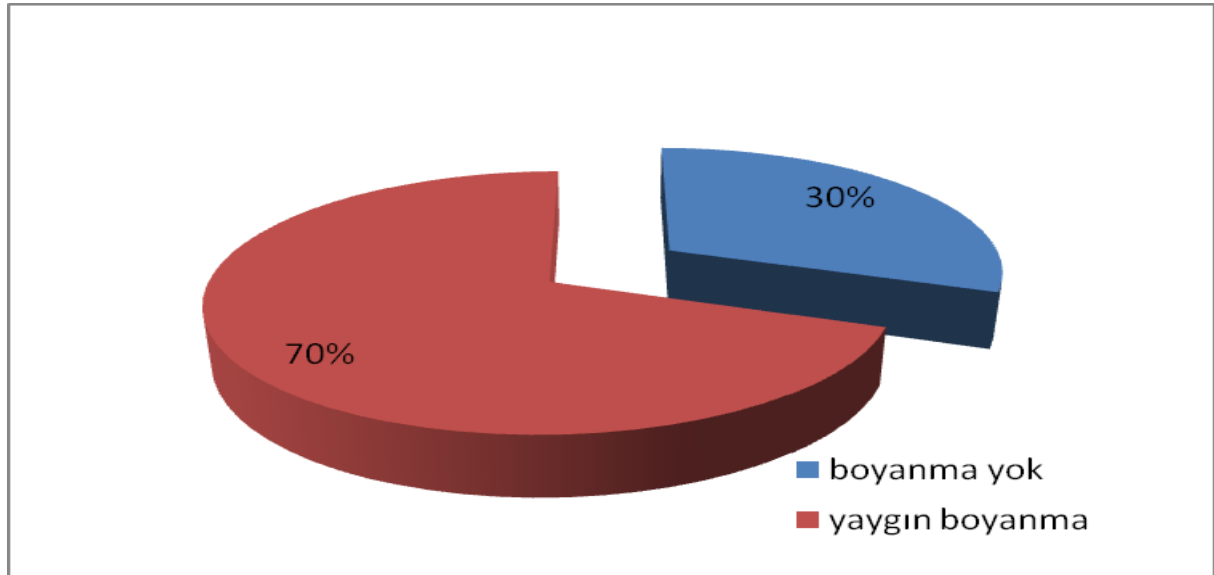
4.3.İmmünohistokimyasal Olarak Değerlendirme

Olguların hepsinde immünohistokimyasal olarak GLP-2 Reseptör Antikor (1:100-1:200, 1 mg/ml) çalışılmıştır. Kontrol olarak kolon, mide ve pankreasın normal dokuları alınmış ve bunların hepsinde enteroendokrin hücrelerdeki GLP-2 reseptör ekspresyonunu gösterecek şekilde immünohistokimyasal boyama yapılmıştır. Şekil 11 ve 12'de görüldüğü gibi normal mukoza hücrelerinde kromogranin pozitifliği ve aktin negatifliğinin saptanması GLP-2R açısından boyanan bu hücrelerin enteroendokrin hücre özelliğinde olduklarını göstermektedir. GEP-NET'li olgularda 6 (%20) hastada fokal sitoplazmik boyanma paterni saptanırken, 34 (%72) hastada hiç boyanma olmamıştır. 7 (%15) olguda fokal boyanma saptandı.

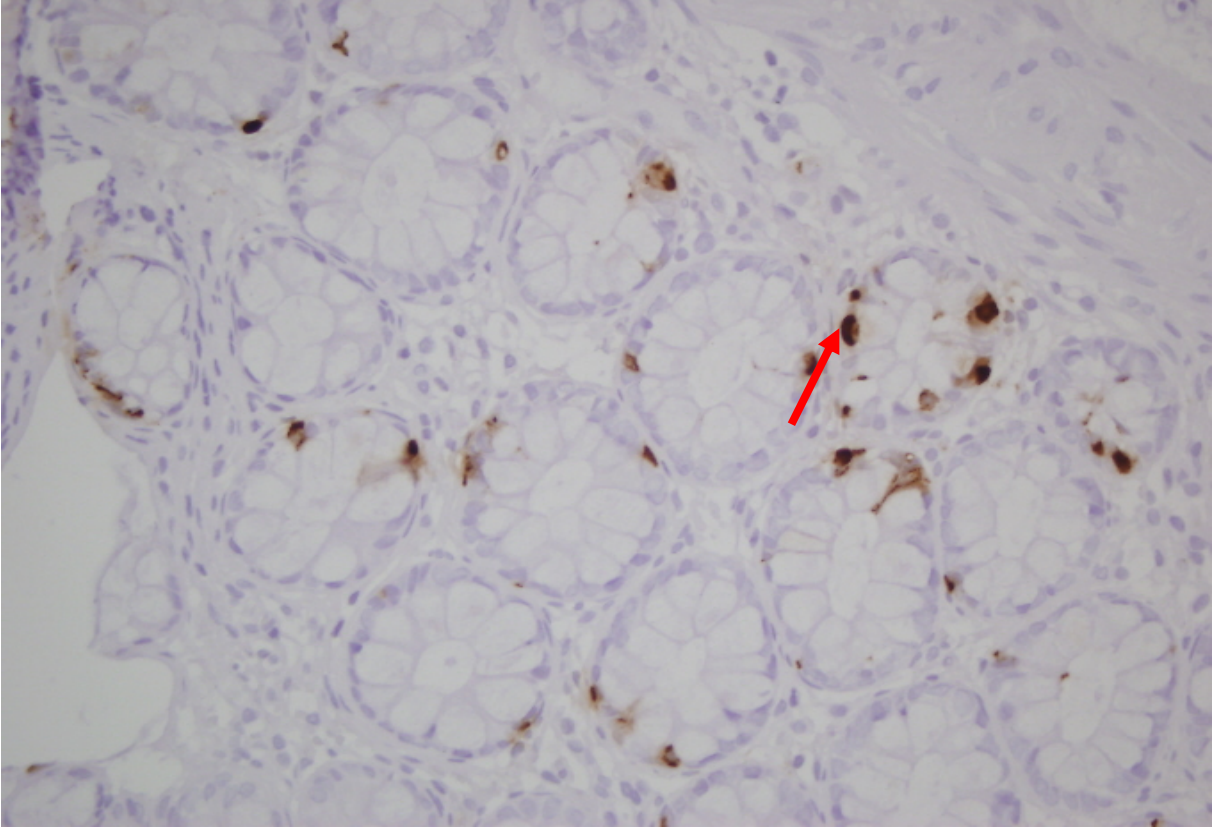
Şekil 9. GIS Nöroendokrin Tümörlerinde GLP-2 R Boyanma Paterni



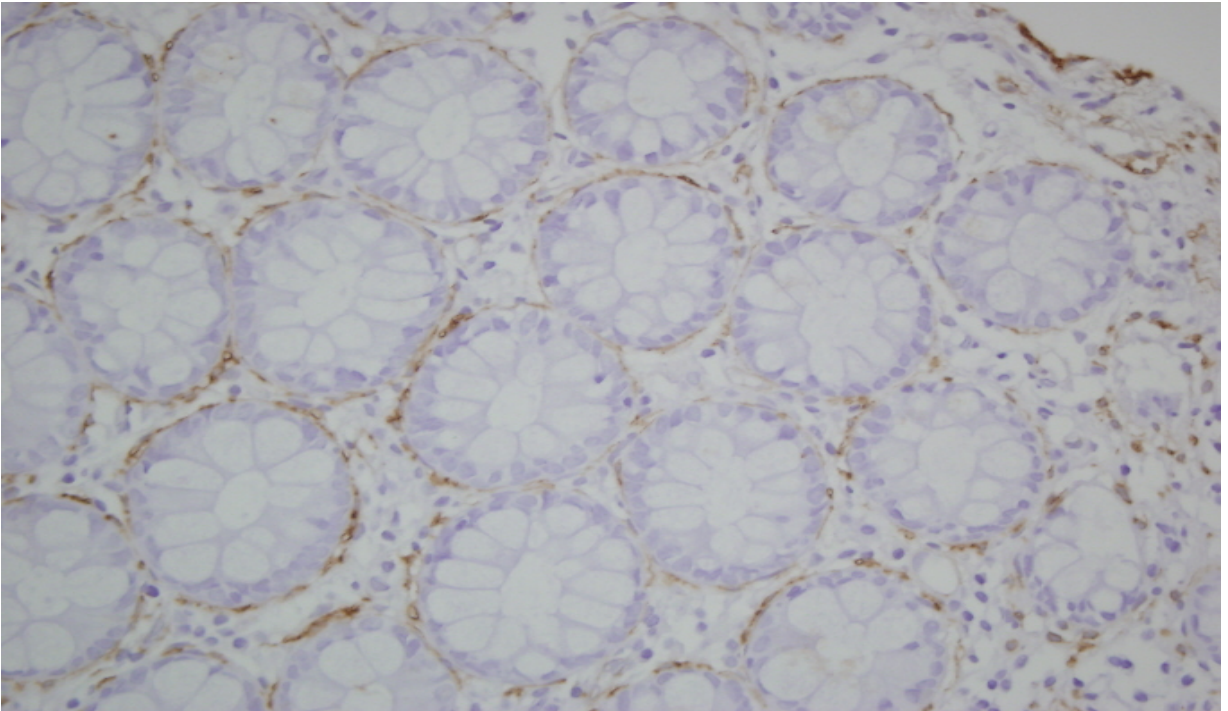
Şekil 10. Kontrol grubu GLP-2 R Boyanma Paterni



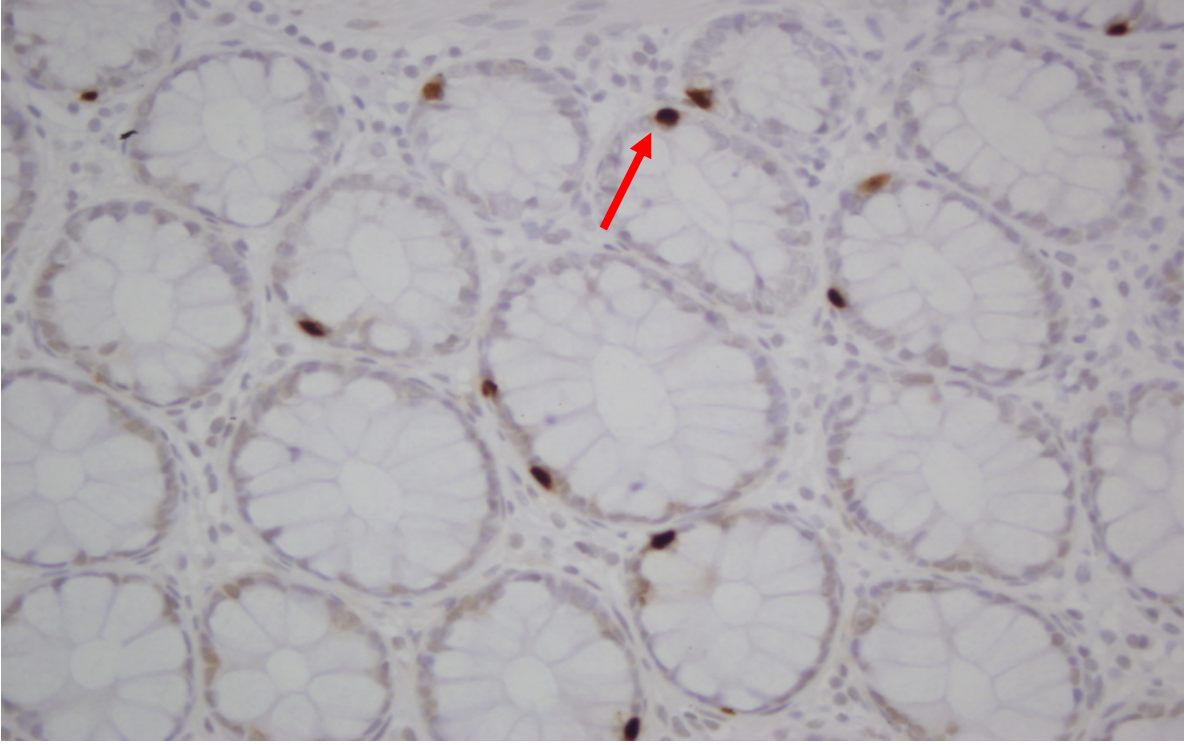
Şekil 11. Normal Dokudaki Endokrin Hücrelerde Kromogranin Pozitifliği (x40 Büyütme).



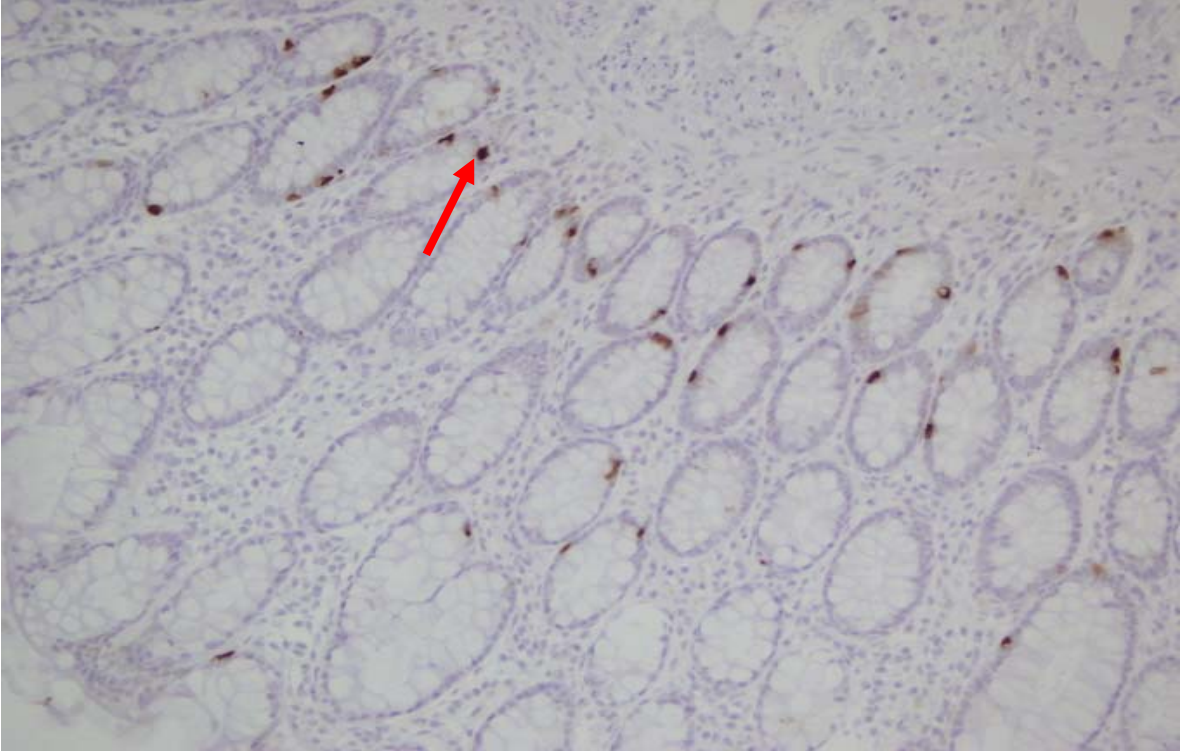
Şekil 12: Normal Dokudaki Endokrin Hücrelerde Aktin Negatifliği (x 40 Büyütme)



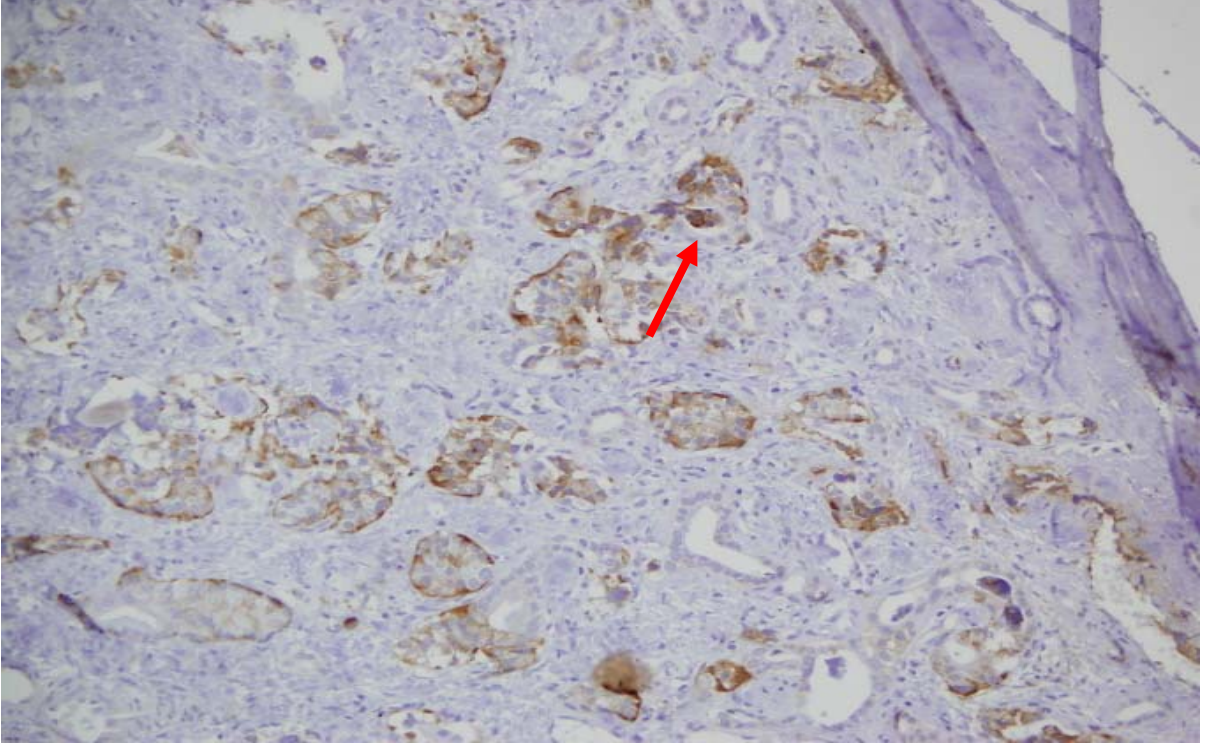
Şekil 13: Normal Dokudaki Endokrin Hücrelerde GLP-2 Pozitifliği (x 40 Büyütme)



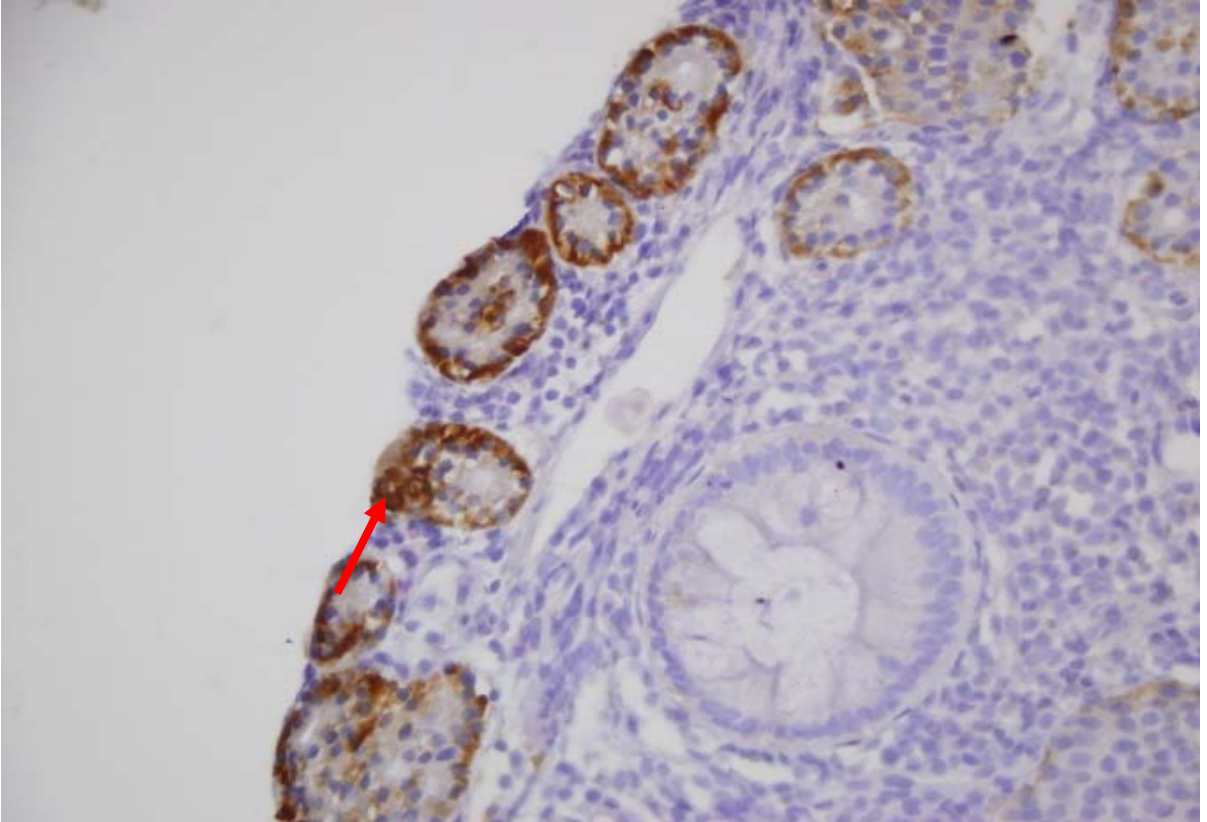
Şekil 14: Normal Mukozadaki Endokrin Hücrelerde GLP-2 Pozitifliği (x 20 'lik Büyütme).



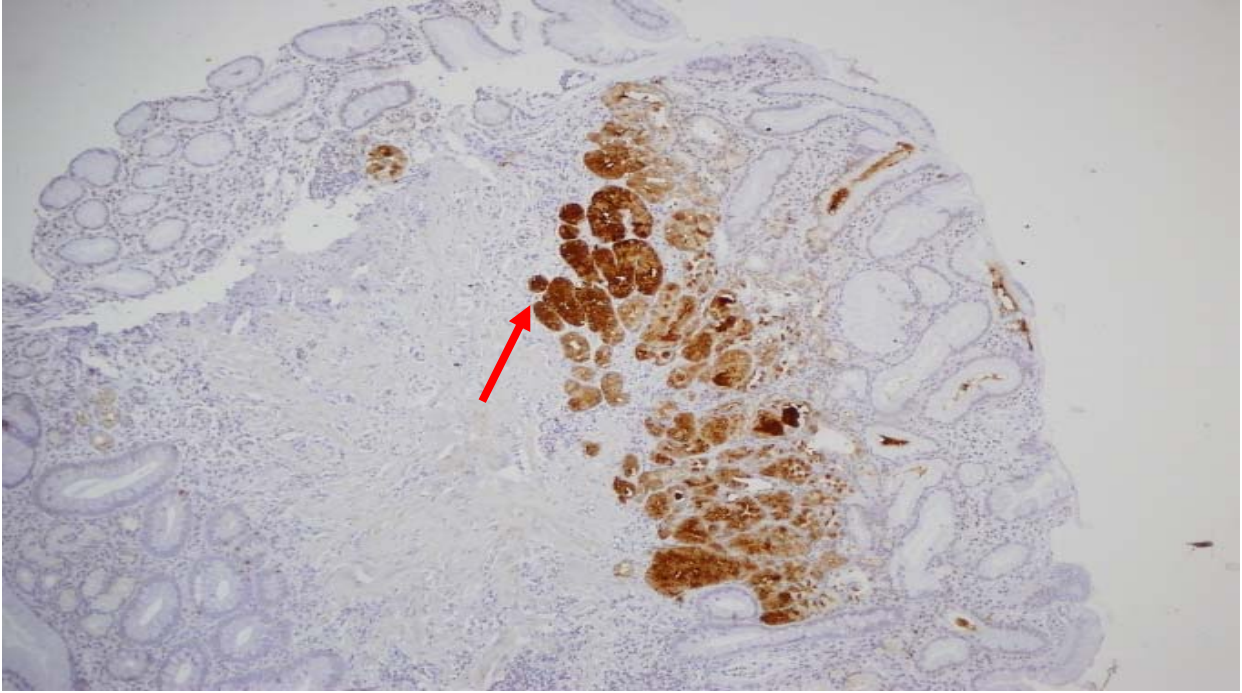
Şekil 15. Pankreas NET Endokrin Hücrelerde GLP-2 Pozitifliği (x 20 Büyütme).



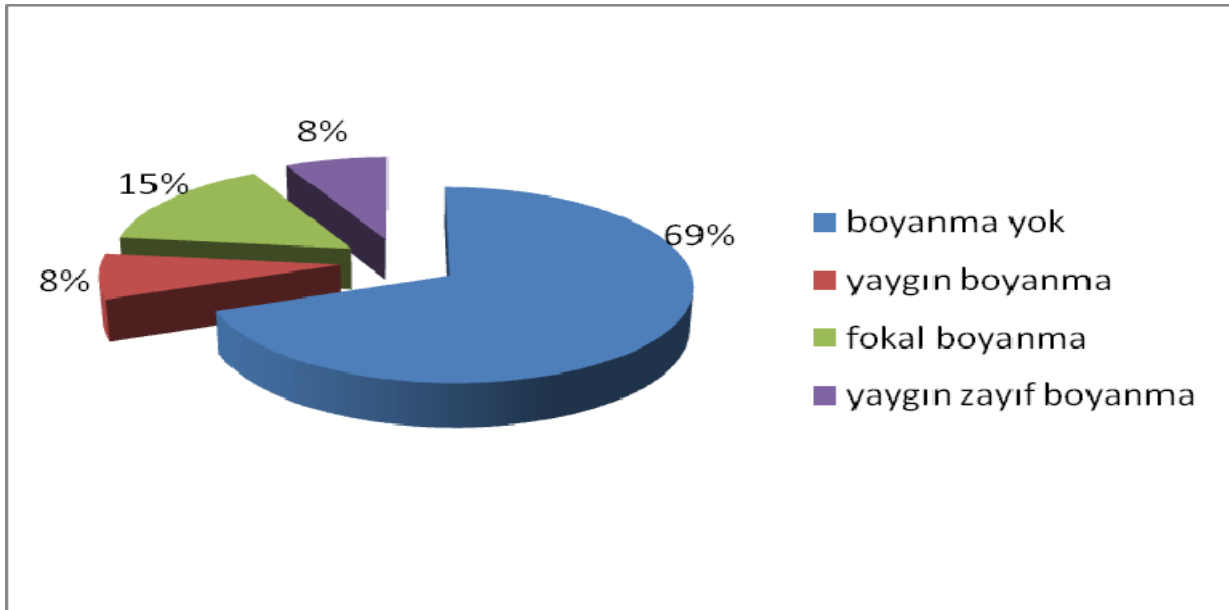
Şekil 16. Kolon NET GLP-2 Pozitifliği(x 20 Büyütme)



Şekil 17. Mide NET GLP-2 Pozitifliği



Şekil 18. Kolon NET'lerde GLP-2R boyanma paterni



Kolon NET ve kontrol grubu karşılaştırıldığında kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı oranda GLP-2 ekspresyonu izlendi. ($p=0,003$)

Tablo 9. Kolon NET ve kontrol grubunun GLP-2R ekspresyonunun karşılaştırılması

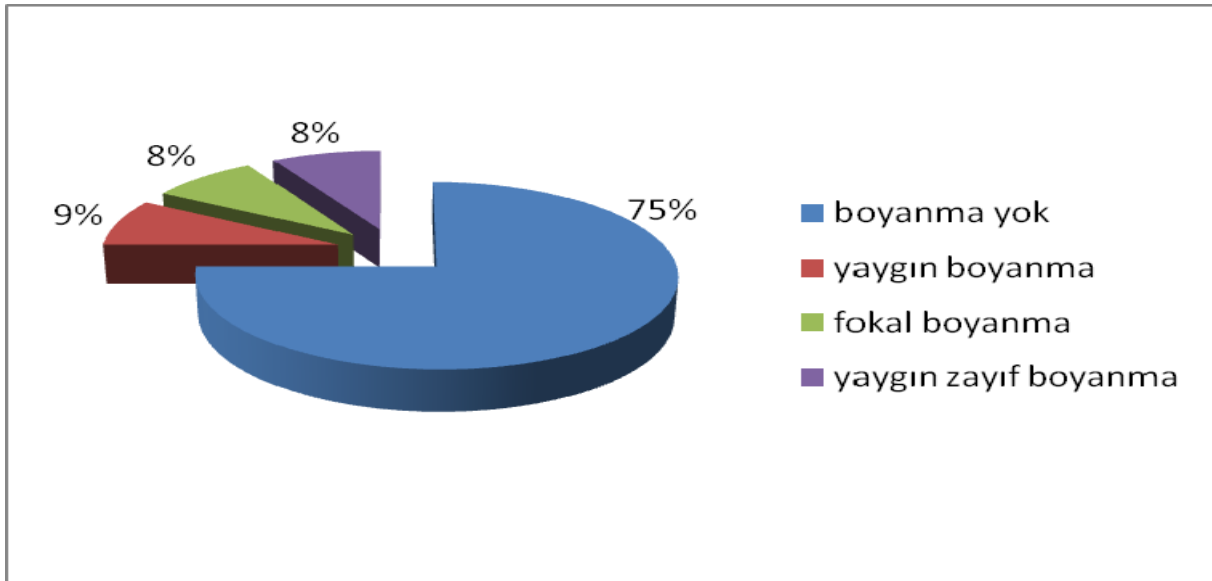
TANI	GLP-2R BOYANMA	
	VAR	YOK
KOLON NET	4(%30)	9(%70)
KONTROL	17(%100)	0

$\chi^2:11$ $p=0,003$

Pankreas NET pankreas normal dokusu ile karşılaştırıldığında normal dokuda istatistiksel olarak anlamlı oranda artmış GLP-2R ekspresyonu saptanmıştır ($p=0,003$)

Normal pankreas dokusunda adacıklarda yaygın boyanma, asinus hücrelerinde fokal boyanma izlendi. Küçük duktuslarda ise boyanma yoktu.

Şekil 19. Pankreatik NET GLP-2 R boyanma paterni



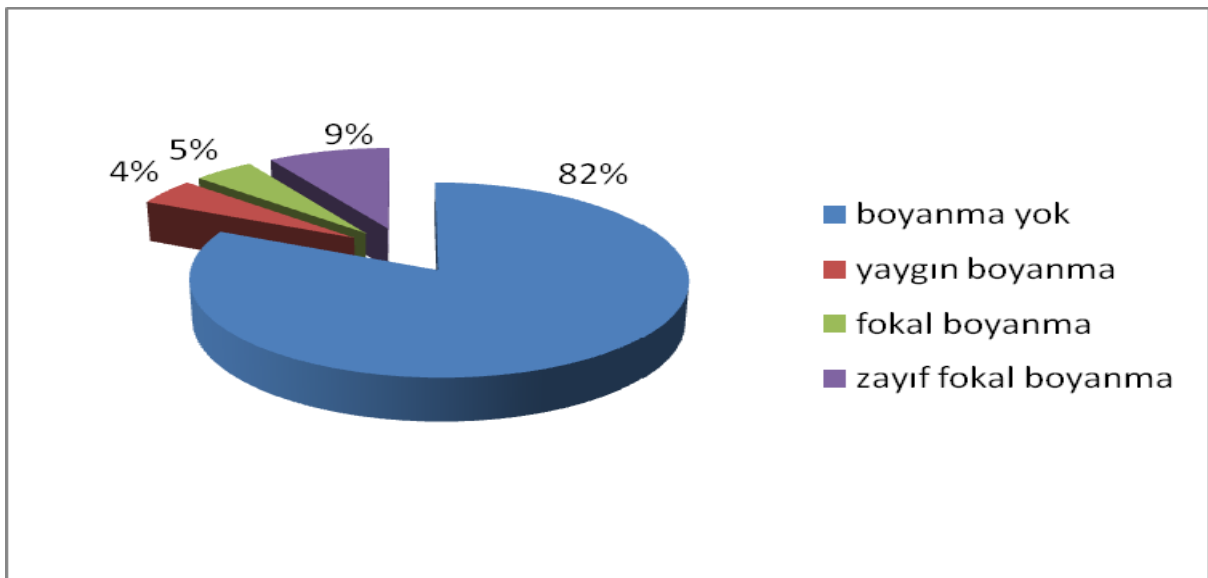
Tablo 10. Pankreas NET ve kontrol grubunun GLP-2R ekspresyonunun karşılaştırılması

TANI	GLP-2R BOYANMA	
	VAR	YOK
PANKREAS NET	3(%25)	9(%75)
KONTROL	15(%100)	0

$\chi^2=23$ $p<0,001$

Mide NET lerde ise sadece 1 hastada yaygın boyanma, 1 hastada fokal boyanma, 2 hastada ise zayıf fokal boyanma izlendi. Mide normal dokusundaki endokrin hücrelerde de boyanma izlenmedi. Mide NET'ler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı (p değeri anlamsız).

Şekil 18. Mide NET GLP-2 R boyanma paterni



Tablo 11. Mide NET ve kontrol grubunun GLP-2R ekspresyonunun karşılaştırılması

TANI	GLP-2R BOYANMA	
	VAR	YOK
MİDE NET	4(%18)	11(%82)
KONTROL	0	14(%100)

$X^2=4$ p:0.22(p değeri anlamsız)

5. TARTIŞMA

Nöroendokrin tümörler, çeşitli nöroendokrin hücrelerin malign transformasyonun sonucu olarak vücudun hemen her lokalizasyonda gelişebilen, nadir görülen, heterojen bir grup tümördür. En sık gastrointestinal sistemde görülür. GEP-NET'ler bir peptid yapılı hormonun aşırı salgılanmasına bağlı nöroendokrin sendromlara yol açtıklarında "Fonksiyonel GEP-NET", herhangi bir klinik tabloya neden olmuyorsa "Non-fonksiyonel GEP-NET" olarak adlandırılırlar(8).

GEP-NET'ler somatostatin başta olmakta üzere pek çok peptid reseptörünü eksprese ederler. Hormon sekrete eden semptomatik olgularda somatostatin reseptörü hedeflenerek bu tümörler tedavi edilebilmektedir. Somatostatin reseptörleri dışında bu tümörler kolesistokinin 2, bombesin, nöropeptide Y, vazoaaktif intestinal peptid reseptörlerini de eksprese edebilir ve bu reseptörlere yönelik olarak yeni tedavilerin geliştirilebileceği düşünülmektedir(153)

Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda intestinal hasar oluşturulan deney hayvanlarının kanında artmış oranda GLP-2 ve diğer proglukagon derive peptidleri saptanmıştır (143). Yine bu çalışmalarda deneysel olarak hayvanlarda NSAİİ ve kemoterapötik ajan kullanımı sonrası oluşan intestinal hasarın GLP-2 infüzyonuyla gerilediği gösterilmiştir (146,148). Benzer şekilde inflamatuvar barsak hastalığı olan hastaların kanlarında da plazma GLP-2 seviyelerinde ve özellikle GLP-2 (1-33) / GLP-2 (3-33) oranında artış izlenmiştir (124). Tüm bunlar GLP-2' nin hücre proliferasyonunda ne kadar etkin olduğunun ve belki de kontrolsüz hücre büyümesinde de rolü olabileceğinin en güzel kanıtlarıdır.

GLP-2 'nin; yapılan insan ve hayvan çalışmalarında özellikle intestinal hasar sonrası plazma konsantrasyonunda artış gösterdiği tespit edilmiştir. Deneysel çalışmalardaki sonuçlarla GLP-2 nin özellikle kolondaki proliferatif ve antiapoptotik etkileri göz önüne alındığında, insan kolon kanseri ve polip gelişiminde de önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Bulut ve arkadaşlarının yaptığı birbirinden bağımsız iki doku kültür çalışmasında; GLP-2'nin kanser ilişkili insan derive epitel hücreleri olan Caco-2 ve Colo-320 proliferasyonunda artışa sebep olduğu flow sitometri ve immunblotting yöntemleriyle gösterilmiştir(140). Fakat insanlarda kolon kanseri gelişimi sırasında GLP-2R ekspresyonu üzerine çalışma yapılmamıştır.

GLP-2 'nin ince ve kalın barsak üzerindeki proliferatif etkilerine dayanarak; normal mukozadan adenoma, karsinoma ve metastaza geçiş sırasında progresif GLP-2R ekspresyon olabileceği öngörülmüştür. Bu konuda yapılan ilk çalışma Bengi ve ark tarafından yapılmıştır(3). Bu çalışmada adenom veya kanser dokusu çevresindeki normal kolon

mukozasında immunhistokimyasal yöntemle incelenen 60 dokunun hepsinde enteroendokrin hücrelerde GLP-2 reseptörü eksprese edildiğini belirlenmiştir. Bununla birlikte adenom olgularında hiç GLP 2R ekspresyonunu yansıtan boyanma izlenmedi. Karsinom vakalarında ise sadece 6 vakada (%20) GLP-2R ekspresyonunda artışa paralel olarak fokal sitoplazmik boyanma olduğunu saptandı. Bu çalışmada sonuç olarak; farelerde yapılan çalışmanın aksine insanda kolon poliplerinde GLP-2R ekspresyonu gösterilmemiştir. Bu; kolon adenom-kanser patogenezinde GLP-2R ekspresyonunun etkin olmadığını düşündürmektedir. Ancak ileri evre kolon kanseri ve olasılıkla metastaz patogenezinde, GLP-2R ekspresyonunun etkisi olabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada, GEP-NET'lilerde hücrelerden eksprese edilen GLP-2R değerlendirilmiştir. GLP-2R ile GEP-NET arasında ilişki saptandığında hem patogenetik süreç hakkında yeni bir bilgi edinilmiş olacak hem de nöroendokrin tümörlerde somatostatin reseptörü benzeri ikinci bir hedef reseptör bulunarak aynı şekilde GLP-2R bloke eden tedavi yaklaşımları gündeme gelebilir.

2005 yılında Orskov ve arkadaşları tarafından immunhistokimyasal ve in situ hibridizasyon yöntemleriyle yapılan çalışmalarda GLP-2R ekspresyonu; insanların enteroendokrin hücrelerinde, murinlerin enterik nöronlarında ve rat, fare ve insanların subepitelyal miyofibroblastlarında saptanmıştır (136)

Yusta ve arkadaşları immunhistokimyasal olarak insanların mide, ince ve kalın barsak epitelinde GLP-2R (+) hücrelerin varlığını göstermişlerdir. Bu GLP-2 (+) hücrelerin aynı zamanda kromogranin pozitifliği de gösterdiği anlaşılmıştır. Benzer olarak duodenum ve kalın barsaktaki endokrin hücrelerin hem GLP-2R pozitifliği hem de serotonin pozitifliği gösterdiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada non endokrin mide hücreleri ve ince barsak villus epitelinin enterositlerinde GLP-2R (+) hücrelere rastlanmamıştır. Fakat bu çalışmada GLP-2R ekspresyonu; northern blotting, RT-PCR ve immunohistokimyasal çalışmaların kombinasyonu ile saptanmıştır. Böylelikle düşük seviyede GLP-2R mRNA transkripsiyonu olan hücreler de daha duyarlı olan Northern blotting ve RT-PCR yöntemleriyle tespit edilebilmiştir(136).

Biz çalışmamızda; kolon ve pankreas NET çevresindeki immunhistokimyasal yöntemle incelenen 25 normal dokunun hepsinde enteroendokrin hücrelerde GLP-2 reseptörü eksprese edildiğini belirledik. Bununla birlikte kolon NET olgularının sadece 4'ünde (%30) GLP 2R ekspresyonunu yansıtan boyanma izlendi. Bu olguların da sadece 2'sinde yaygın boyanma mevcuttu. Pankreas NET'te ise olguların sadece 3'ünde GLP 2R ekspresyonunu yansıtan boyanma izlendi. Bunlardan da 1'inde yaygın boyanma mevcuttu. İmmunohistokimyasal

yöntemlerde düşük düzeyde antijen ekspresyonlarının saptanamayabileceğini gözönüne aldığımızda Yusta ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayla uyumlu olarak daha duyarlı olan RT-PCR yöntemi kullanılmış olsaydı belki de daha fazla oranda karsinom dokusunda GLP-2R ekspresyonu tespit edilebilirdi.

Orskov ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları çalışmada subepitelyal miyofibroblastlardan lokal keratinosit growth faktör (KGF) salınımının GLP-2 'ye bağlı intestinal hücre proliferasyonundan sorumlu olabileceğini göstermişlerdir (153). Bulut ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da GLP-2 nin intestinal onarımda TGF-beta ve VEGF gibi büyüme faktörlerini salgılatmak suretiyle etkin olduğunu RT-PCR yöntemiyle ileum ve kolon dokularında ayrı ayrı göstermişler. Kolon kanser patogenezinde önemli rolleri olan bu büyüme faktörlerinin artışı; GLP-2'nin indirekt yoldan bu faktörler üzerinden kolon kanser gelişiminde rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Kolon kanseri patogenezinde büyüme faktörlerine yönelik yapılan daha önceki çalışmalarda da reseptör pozitifliklerinde belirgin farklılıklar tespit edilmiştir. Bu belirgin farklılık nedeni olarak; a-doku tipi (fresh doku, parafinize doku, kanser kültür hücre serilerinin kullanılması), b-belirleme metodu (EIA, İHK), c-reseptörlerin pozitiflik cut-off değerinin standart olmayıp tüm çalışmalarda yazarın insiyatifinde olması gösterilebilir. Bizim çalışmamızda da kolon, mide ve pankreas NET'inde GLP-2R ekspresyonunun düşük oranda tespit edilmesi; belirleme metodu olan İHK'nın duyarlılığının daha az olmasının yanı sıra çalışılan doku tipinden de kaynaklanıyor olabilir. Ancak kontrol grubunda özellikle kolon ve pankreastaki tüm endokrin hücrelerde GLP-2R gösterilmesi kullanılan yöntemin negatif etkisini bir ölçüde gidermektedir.

Bizim çalışmamızda, mide NET'lerinde ve mide normal dokusunda da GLP-2R (+) hücrelere rastlanmamıştır. Bunun nedeni midede kolon ve incebarsağa göre GLP-2R ekspresyonunun daha az olması olabilir. Bununla ilgili olarak Yusta ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da incebarsak ve kolonda mideye göre belirgin olarak yüksek oranda GLP-2 R pozitifliğini daha yüksek bulmuşlardır. Gastrointestinal sistemin distaline doğru gidildikçe ekspresyonun arttığını ispat etmişlerdir. Bu çalışmada midede gastrin pozitif pek çok hücrenin ve incebarsakta sekretin ve somatostatin pozitif hücrelerin GLP-2 R pozitifliği göstermediği bulunmuştur. Ayrıca GLP-2 üreten endokrin hücrelerin çoğunluğu distal incebarsak ve kolonda lokalize olduğundan GLP-2 mide ve proksimal jejunumdaki etkilerini dolaşıma katılarak endokrin ve parakrin şekilde göstermektedir(136). Bütün bu nedenlerden dolayı mide endokrin hücrelerinde ve mide NET'lerde GLP-2R pozitifliği saptanamamış olabilir.

GEP-NET'lerde GLP-2 R pozitifliğini gösteren literatürde başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak yine Yutsa ve arkadaşlarının çalışmasında karsinoid tümörlerin intestinal endokrin hücrelerden köken aldığından bu tümörlerde GLP-2 R pozitifliği olması gerektiği hipotezine dayanarak 4 hastada GLP-2 R ekspresyonu bu hastalarda değerlendirilmiştir. Bu olgularda tahmin edildiği gibi GLP-2 R ekspresyonu belirgin izlenmemiş ancak 3 hastada küçük fokal alanlarda pozitiflik bulunmuştur. Küçük bir grup hastada da olsa bu sonuçlar bizim çalışmamızdaki sonuçlarla uyumludur (136).

Sonuç olarak, GEP-NET'lerde endokrin hücrelerden köken alması nedeniyle GLP-2 R ekspresyonunun tanı ve tedavide kullanılabileceği öngörülebilir. Ancak bizim çalışmamızda bu tümörlerde belirgin GLP-2 R ekspresyonu gösterilmemiştir. Bu nedenle GEP-NET'lerin tedavisinde somatostatin analogları gibi GLP-2 benzeri ajanların kullanımı şu an için olası görünmemektedir. Yine GLP-2 R'in somatostatin reseptörleri gibi tanısal yöntem için kullanılması uygun görünmemektedir. GEP-NET'lerde GLP-2 R ekspresyonu ile ilgili bulgularımızı desteklemek için başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

1. Damholt AB, Buchan AM, Holst JJ, Kofod H. Proglucagon processing profile in canine L cells expressing endogenous prohormone convertase 1/3 and prohormone convertase 2. *Endocrinology*. 1999 Oct;140(10):4800-8..
2. Brubaker PL, Drucker D. Minireview: Glucagon-like peptides regulate cell proliferation and apoptosis in the pancreas, gut, and central nervous system. *Endocrinology*. 2004 Jun;145(6):2653-9. Epub 2004 Mar 24. Review.
3. Bengi G, Akarsu M and et al. Is There any effect of GLP-2 Receptor expression in development of human colorectal cancer? *Turkish Journal of Gastroenterology* 2011 article in press
4. Kloppel G., Peren A., Heitz PU. The gastroenteropancreatic neuroendocrine cell system and its tumors. The WHO classification. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Apr;1014:13-27. Review.
5. Rindi G., Leiter A.B., Kopin A.S., Bordi C., Solcia E. The ‘‘normal’’ endocrine cell of the gut. Changing concepts and new evidences. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Apr;1014:1-12. Review.
6. Solcia E., Capella C., Fiocca R., Sessa F., La Rosa S., Rindi G. ve diğeri. Disorders of the endocrine system. S.C. Ming ve H. Goldman (Ed.). *Pathology of the Gastrointestinal Tract Philadelphia: W.B. Saunders*. 1992 :(240-263).
7. Çakaloğlu, Y. GEP NET Klinik yaklaşım-Gastroenteroloji. Y. Çakaloğlu (Ed) *Gastroenteropankreatik Nöroendokrin Tümörler*. 2006:(pages17-26). İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık.
8. Schnirer I., Yao J.C., Ajani J.A. Carcinoid: A Comprehensive Review. *Acta Oncologica Acta Oncol*. 2003;42(7):672-92. Review.
9. Williams E.D., Sandler M. The classification of carcinoid tumours. *Lancet*. 1963 Feb 2;1(7275):238-9
10. Capella C., Heitz P.U., Hofler H., Solcia E., Kloppel G. Revised classification of neuroendocrine tumours of the lung, pancreas and gut. *Virchows Arch*. 1995;425(6):547-60. Review
11. Arnold R. Endocrine tumours of the gastrointestinal tract. Introduction: Definition, historical aspects, classification, staging, prognosis and therapeutic options. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2005 Aug;19(4):491-505.

12. Rindi G, Arnold R, Bosman FT, et al.: Nomenclature and classification of neuroendocrine neoplasms of the digestive system. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (eds.) WHO classification of tumors of the digestive system. Lyon: IARC 2010.
13. Rindi G, Klöppel G, Alhman H, Caplin M, Couvelard A, de Herder WW, Eriksson B, Falchetti A, Falconi M, Komminoth P, Körner M, Lopes JM, McNicol AM, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B; and all other Frascati Consensus Conference participants; European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS). TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch.* 2006 Oct;449(4):395-401. Epub 2006 Sep 12.
14. Rindi G, Klöppel G, Couvelard A, Komminoth P, Körner M, Lopes JM, McNicol AM, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B. TNM staging of midgut and hindgut (neuro) endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch.* 2007 Oct;451(4):757-62. Epub 2007 Aug 3.
15. Tomassetti P., Migliori M., Lalli S., Cmapana D., Tomasetti V., Corinaldesi R. Epidemiology, clinical features and diagnosis of gastroenteropancreatic endocrine tumors. *Ann Oncol.* 2001;12 Suppl 2:S95-9.
16. Modlin IM, Oberg K, Chung DC, Jensen RT, de Herder WW, Thakker RV, Caplin M, Delle Fave G, Kaltsas GA, Krenning EP, Moss SF, Nilsson O, Rindi G, Salazar R, Ruszniewski P, Sundin A. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Lancet Oncol.* 2008 Jan;9(1):61-72.
17. Jetmore A.B., Ray J.E., Gathright J.B.Jr., McMullen K.M., Hicks T.C., Timmcke A.E. Rectal carcinoids: The most frequent carcinoid tumor. *Dis Colon Rectum.* 1992 Aug;35(8):717-25.
18. Maggard M.A., O'Connell J.B., Ko C.Y. Updated population-based review of carcinoid tumors. *Ann Surg.* 2004 Jul;240(1):117-22.
19. Modlin I.M., Lye K.D., Kidd M. A 5-decade analysis of 13715 carcinoid tumors. *Cancer.* 2003 Feb 15;97(4):934-59
20. Modlin I.M., Lye K.D., Kidd M. A 50-year analysis of 562 gastric carcinoids: Small tumor or larger problem?. *Am J Gastroenterol.* 2004 Jan;99(1):23-32.
21. Hemminki K., Li X. Incidence trends and risk factors of carcinoid tumors: A nationwide epidemiologic study from Sweden. *Cancer.* 2001 Oct 15;92(8):2204-10.
22. Oberg, K., Eriksson, B. Endocrine tumours of the pancreas. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2005 Oct;19(5):753-81

23. Buchanan KD, Johnston CF, O'Hare MM, Ardill JE, Shaw C, Collins JS, Watson RG, Atkinson AB, Hadden DR, Kennedy TL, et al. Buchanan K.D., Johnston C.F., O'Hare M.M., Ardill J.E., Shaw C., Collins J.S. et al. Neuroendocrine tumors. A European view. *Am J Med.* 1986 Dec 22;81(6B):14-22.
24. Plockinger U., Wiedenmann B. Neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic: The role of early diagnosis, genetic testing and preventive surgery. *Dig Dis.* 2002;20(1):49-60
25. Gorman B, Reading CC. Imaging of gastrointestinal neuroendocrine tumors. *Semin Ultrasound CT MR.* 1995 Aug;16(4):331-41.
26. Hemminki K., Li X. Familial carcinoid tumors and subsequent cancers: A nationwide epidemiologic study from Sweden. *Int J Cancer.* 2001 Nov 1;94(3):444-8.
27. Kaerlev L., Teglbjaerg P.S., Sabroe S., Kolstad H.A., Ahrens W., Eriksson M. and et al. The importance of smoking and medical history for development of small bowel carcinoid tumor: A European population-based case-control study. *Cancer Causes Control.* 2002 Feb;13(1):27-34.
28. Kloppel G., Anlauf M. Epidemiology, tumour biology and histopathological classification of neuroendocrine tumours of the gastrointestinal tract. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2005 Aug;19(4):507-
29. Quaedvlieg P.F., Visser O., Lamers C.B., Janssen-Heijnen M.L., Taal B.G. Epidemiology and survival in patients with carcinoid disease in The Netherlands. An epidemiological study with 2391 patients. *Ann Oncol.* 2001 Sep;12(9):1295-300
30. Godwin, J.D. Carcinoid tumors. An analysis of 2837 cases. *Cancer.* 1975 Aug;36(2):560-9
31. Chu Q.D., Hill H.C., Douglas H.O., Driscoll D., Smith J.L., Nava H.R., Gibb J.F. Predictive factors associated with long-term survival in patients with neuroendocrine tumors of the pancreas. *Ann Surg Oncol.* 2002 Nov;9(9):855-62.
32. Phan G.Q., Yeo C.J., Hruban R.H., Lillemoe K.D., Pitt H.A., Cameron J.L. Surgical experience with pancreatic and peripancreatic neuroendocrine tumors: Review of 125 patients. *J Gastrointest Surg.* 1998 Sep-Oct;2(5):472-82.
33. Van Gompel, J.J., Sippel R.S., Warner T.F., Chen H. Gastrointestinal Carcinoid Tumors: Factors that Predict Outcome. *World J Surg.* 2004 Apr;28(4):387-92. Epub 2004 Mar 4.
34. Duerr E.M., Chung D.S. Molecular genetics of neuroendocrine tumors. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2007 Mar;21(1):1-14

35. Corleto V.D., Dele Fave G., Jensen R.T. Molecular insights into gastrointestinal neuroendocrine tumours: Importance and recent advances. *Digestive and Liver Dis.* 2002 Sep;34(9):668-80
36. Roncalli M., Springall D.R., Varndell I.M., Gaitonde V.V., Hamid Q., Ibrahim N.B. and et al. Oncoprotein immunoreactivity in human endocrine tumours. *J Pathol.* 1991 Feb;163(2):117-27
37. Wang D.G., Johnston C.F., Buchanan K.D. Oncogene expression in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: Implication for pathogenesis. *Cancer.* 1997 Aug 15;80(4):668-75
38. Evers B.M., Rady P.L., Sandoval K., Arany I., Tying S.K., Sanchez R.L. et al. Gastrinomas demonstrate amplification of the HER2/neu protooncogene. *Ann Surg.* 1994 Jun;219(6):596-601; discussion 602-4
39. Evers B.M., Rady P.L., Tying S.K., Sanchez R.L., Rajaman S., Townsend C.M.Jr., Thompson J.C. Amplification of the HER2/neu protooncogene in human endocrine tumors. *Surgery.* 1992 Aug;112(2):211-7; discussion 217-8.
40. Grotzinger C. Tumour biology of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Neuroendocrinology.* 2004;80 Suppl 1:8-11.
41. Kloppel G., Clemens A. The biological relevance of gastric neuroendocrine tumors. *Yale J Biol Med.* 1996 Jan-Feb;69(1):69-74.
42. Rindi G., Luinetti O., Cornaggia M., Capella C., Solcia E. Three types of gastric argyrophil carcinoid and the gastric neuroendocrine carcinoma: A clinicopathologic study. *Gastroenterology.* 1993 Apr;104(4):994-1006.
43. Gough D.B., Thompson G.B., Crotty T.B., Donohue J.H., Kvols L.K., Carney J.A. and et al. Diverse clinical and pathologic features of gastric carcinoid and the relevance of hypergastrinemia. *World J Surg.* 1994 Jul-Aug;18(4):473-9; discussion 479-80.
44. Moses R.E., Frank B.B., Leavitt M., Miller R. The syndrome of type A chronic atrophic gastritis, pernicious anemia and multiple gastric carcinoids. *J Clin Gastroenterol.* 1986 Feb;8(1):61-5
45. Thomas R.M., Baybick J.H., Elsayed A.M., Sobin L.H. Gastric carcinoids: an immunohistochemical and clinicopathologic study of 104 patients. *Cancer.* 1994 Apr 15;73(8):2053-8.
46. Rindi G., Bordi C., Rappel S., La Rosa S., Stolte M., Solcia E. Gastric carcinoids and neuroendocrine carcinomas: pathogenesis, pathology and behavior. *World J Surg.* 1996 Feb;20(2):168-72.

47. Rappel S., Altendorf-Hofmann A., Stolte M. Prognosis of gastric carcinoid tumours. *Digestion*. 1995;56(6):455-62.
48. Hamilton S.R., Aaltonen L.A. WHO Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. 2000. Lyon: IARC Press.
49. Moertel C.G., Sauer W.G., Dockerty M.B., Baggenstoss A.H. Life history of the carcinoid tumor of the small intestine. *Cancer*. 1961 Sep-Oct;14:901-12.
50. Yıldız Ö., Özgüroğlu M. Carcinoid Tumors. Ş. Yalçın (Ed.). *Neuroendocrine Tumors of Gastroenteropancreatic System* (s.117-135). (2006).
51. Modlin I.M., Sandor A. An analysis of 8305 cases of carcinoid tumors. *Cancer*. 1997 Feb 15;79(4):813-29.
52. Kapran Y., Dizdaroğlu F. Gastroenteropankreatik Endokrin Tümörlerin Patolojisi. Y. Çakaloğlu. *Gastroenteropankreatik Nöroendokrin Tümörler* (s.31-48). (2006).
53. Moertel C.G., Weiland L.H., Nagorney D.M., Dockerty M.B. Carcinoid tumor of the appendix: Treatment and prognosis. *N Engl J Med*. 1987 Dec 31;317(27):1699-701.
54. Grabowski P., Schonfelder J., Ahnert-Hilger G., Foss H.D., Heine B., Schindler I. And et al. Expression of neuroendocrine markers: A signature of human undifferentiated carcinoma of the colon and rectum. *Virchows Arch*. 2002 Sep;441(3):256-63. Epub 2002 Jun 7.
55. Eriksson B., Oberg K. Neuroendocrine tumours of the pancreas. *Br J Surg*. 2000 Feb;87(2):129-31.
56. Lam K.Y., Lo C.Y. Pancreatic endocrine tumour: A 22-year clinicopathological experience with morphological, immunohistochemical observation and a review of the literature. *Eur J Surg Oncol*. 1997 Feb;23(1):36-42.
57. Heitz P.U., Kasper M., Polak J.M., Kloppel G. Pancreatic endocrine tumors. *Hum Pathol*. 1982 Mar;13(3):263-71
58. Kloppel G., Heitz P.U. Pancreatic endocrine tumors. *Pathol Res Pract*. 1988 Apr;183(2):155-68.
59. Service F.J., McMahon M.M., O'Brien P.C., Ballard D.J. Functioning insulinoma incidence, recurrence and long-term survival of patients: a 60-year study. *Mayo Clin Proc*. 1991 Jul;66(7):711-9.
60. Soga J., Yakuwa Y., Osaka M. Insulinomas/hypoglycemic syndrome: A statistical evaluation of 1085 reported cases of Japanese series. *J Exp Clin Cancer Res*. 1998 Dec;17(4):379-88.

61. Soga J., Yakuwa Y. The gastrinoma / Zollinger Ellison syndrome: Statistical evaluation of a Japanese series of 359 cases. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 1998;5(1):77-85.
62. Oberg K., Astrup L., Eriksson B., Falkmer S.E., Falkmer U.G., Gustafsen J. And et al. Guidelines for the management of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours (including bronchopulmonary and thymic neoplasms). Part II-Specific NE tumour types. *Acta Oncol.* 2004;43(7):626-36.
63. Ectari N. Pancreatic endocrine tumors: Diagnostic pitfalls. *Hepatogastroenterology.* 1999 Mar-Apr;46(26):679-90.
64. Friesen S.R. Update on the diagnosis and treatment of rare neuroendocrine tumors. *The Surg Clin North Am.* 1987 Apr;67(2):379-93.
65. Metz D.C. Diagnosis and treatment of pancreatic neuroendocrine tumors. *Semin Gastrointest Dis.* 1995 Apr;6(2):67-78.
66. Ardill J.E., Eriksson B. The importance of the measurement of circulating markers in patients with neuroendocrine tumours of the pancreas and gut. *Endocr Relat Cancer.* 2003 Dec;10(4):459-62
67. Hendy G.N., Bevan S., Mattei M.G., Mouland A.J. Chromogranin A. *Clin Invest Med.* 1995 Feb;18(1):47-65.
68. Ferrari L., Seregni E., Martinetti A., Van Graafeiland B.S., Nerini-Molteni S., Botti C. And et al. Chromogranin A measurement in neuroendocrine tumors. *Int J Biol Markers.* 1998 Jan-Mar;13(1):3-9.
69. Wu H.J., Rozansky D.J., Parmer R.J., Gill B.M., O'Connor D.T. Structure and function of the chromogranin A gene. Clues to evolution and tissue specific expression. *The Journal of Biological Chemistry* July15;266(20):13130-4.
70. Seregni E., Ferrari L., Bajetta E., Martinetti A., Bombardieri E. Clinical significance of blood chromogranin A measurement in neuroendocrine tumours. *Ann Oncol.* 2001;12 Suppl 2:S69-72.
71. Ferrari L., Seregni E., Bajetta E., Martinetti A., Bombardieri E. The biological characteristics of chromogranin A and its role as a circulating marker in neuroendocrine tumours. *Anticancer Res.* 1999 Jul-Aug;19(4C):3415-27.
72. Nobels F.R., Kwekkeboom D.J., Bouillon R., Lamberts S.W. Chromogranin A: its clinical value as a marker of neuroendocrine tumours. *Eur J Clin Invest.* 1998 Jun;28(6):431-40.

73. Nobels F.R., Kwekkeboom D.J., Coopmans W., Schoenmakers C.H., Lindemans J., De Herde W.W. and et al. Chromogranin A as serum markers for neuroendocrine neoplasia: Comparison with neuron-specific enolase and the alpha-subunit of glycoprotein hormones. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997 Aug;82(8):2622-8..
74. Tomassetti P., Migliori M., Simoni P., Casadei R., De Lasio R., Corinaldesi R., Gullo L. Diagnostic value of plasma chromogranin A in neuroendocrine tumours. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001 Jan;13(1):55-8.
75. Janson, E.T., Holmberg, L., Stridsberg, M., Eriksson, B., Theodorsson, E., Wilander, E. ve Oberg, K. Carcinoid tumors: Analysis of prognostic factors and survival in 301 patients from a referral center. *Annals of Oncology*, 8(7), 685- 690, 1997.
76. O'Connor, D.T., Deftos, L.J. Secretion of chromogranin A by peptideproducing endocrine neoplasms. *The New England Journal of Medicine*, 314(18), 1145-1151, 1986.
77. Oberg K., Janson E.T., Eriksson B. Tumour markers in neuroendocrine tumours. *Italian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 31(Suppl 2), S160-162, 1999.
78. Baudin E., Gigliotti A., Ducreux M., Ropers, J., Comoy E., Sabourin J.C. and et al. Neuron-specific enolase and chromogranin A as markers of neuroendocrine tumours. *British Journal of Cancer*, 78(8), 1102-1107, 1998.
79. Modlin I.M., Tang, L.H. Approaches to the diagnosis of gut neuroendocrine tumors: The last word (today). *Gastroenterology.* 1997 Feb;112(2):583-90.
80. Haller D.G. Endocrine tumors of the gastrointestinal tract. *Curr Opin Oncol.* 1994 Jan;6(1):72-6.
81. Panzuto F., Severi C., Cannizzaro R., Falconi M., Angeletti S., Pasqual A. **and** et al.. Utility of combined use of plasma levels of chromogranin A and pancreatic polypeptide in the diagnosis of gastrointestinal and pancreatic endocrine tumors. *J Endocrinol Invest.* 2004 Jan;27(1):6-11.
82. Goebel S.U., Serrano J., Yu F., Gibril F., Venzon D.J., Jensen R.T. Prospective study of the value of serum chromogranin A or serum gastrin levels in the assesment of the presence, extent or growth of gastrinomas. *Cancer.* 1999 Apr 1;85(7):1470-83.
83. Granberg D., Stridsberg M., Seensalu R., Eriksson B., Lundqvist G., Oberg K., Skogseid B. Plasma chromogranin A in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Aug;84(8):2712-7.
84. Eriksson B., Oberg K., Stridsberg M. Tumor markers in neuroendocrine tumors. *Digestion.* 2000;62 Suppl 1:33-8.

85. Stridsberg M., Eriksson B., Oberg K., Janson E.T. A comparison between three commercial kits for chromogranin A measurements. *J Endocrinol.* 2003 May;177(2):337-41.
86. Onaitis M.W., Kirshbom P.M., Hayward T.Z., Quayle F.J., Feldman J.M., Seigler H.F., Tyler D.S. and et al. Gastrointestinal carcinoids: Characterization by site of origin and hormone production. *Ann Surg.* 2000 Oct;232(4):549-56.
87. Meijer W.G., Kema I.P., Volmer M., Willemsse P.H., de Vries E.G. Discriminating capacity of indole markers in the diagnosis of carcinoid tumors. *Clin Chem.* 2000 Oct;46(10):1588-96.
88. Tormey W.P., FitzGerald R.J. The clinical and laboratory correlates of an increased urinary 5-hydroxyindoleacetic acid. *Postgrad Med J.* 1995 Sep;71(839):542-5.
89. Kjell Öberg & Daniel Castellano. Current knowledge on diagnosis and staging of neuroendocrine tumors. *Cancer Metastasis Rev* (2011) 30 (Suppl 1):S3–S7
90. Leja J., Essaghir A., Essand M., et al. Novel markers for enterochromaffin cells and gastrointestinal neuroendocrine carcinomas. *Mod Pathol.* 2009 Feb;22(2):261-72. Epub 2008 Oct 24.
91. Krenning E.P., Bakker W.H., Kooij, P.P., Breeman W.A., Oei H.Y., de Jong M. And et al. Somatostatin receptor scintigraphy with indium-111-DTPA-DPhe-1-octreotide in man: Metabolism, dosimetry and comparison with iodine-123-Tyr-3-octreotide. *J Nucl Med.* 1992 May;33(5):652-8.
92. Oberg K. Carcinoid tumors: Current concepts in diagnosis and treatment. *The Oncologist.* 1998;3(5):339-345.
93. Oberg K., Eriksson B. Nuclear medicine in the detection, staging and treatment of gastrointestinal carcinoid tumors. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2005 Jun;19(2):265-76.
94. De Herder W.W., Kwekkeboom D.J., Valkema R., Feelders R.A., van Aken M.O., Lamberts S.W. ve diğerleri. Neuroendocrine tumors and somatostatin: imaging techniques. *J Endocrinol Invest.* 2005;28(11 Suppl International):132-6.
95. Rufini V., Calcagni N.L., Baum R.P. Imaging of neuroendocrine tumors. *Semin Nucl Med.* 2006 Jul;36(3):228-47.
96. Kaltsas G., Korbonits M., Heintz E., Mukherjee J.J., Jenkins P.J., Chew S.L. vand et al. Comparison of somatostatin analog and metaiodobenzylguanidine radionuclides in the diagnosis and localization of advanced neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Feb;86(2):895-902.

97. Adams S., Baum R., Rink T., Schumm-Drager P.M., Usadel K.H., Hor G. Limited value of fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography for the imaging of neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med.* 1998 Jan;25(1):79-83.
98. Toumpanakis C., Meyer, T., Caplin M.E. Cytotoxic treatment including embolization/chemoembolization for neuroendocrine tumours. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2007 Mar;21(1):131-44.
99. Rubin J., Antonuzzo A., Galli, L., Ferdeghini M., Bodei L., Orlandini C., Conte P.F. Octreotide acetate long-acting formulation versus open-label sc octreotide acetate in malignant carcinoid syndrome. *Journal of Clinical Oncology*, 1999 Feb;17(2):600-6.
100. Ruszniewski P., Ducreux M., Chayvialle J.A., Blumberg J., Cloarec D., Michel H. and et al. Treatment of carcinoid syndrome with long-acting somatostatin analogue lantreotide: A prospective study in 39 patients. *Gut.* 1996 Aug;39(2):279-83.
101. Wymenga A.N., Eriksson B., Salmela P.I., Jacobsen M.B., Van Cutsem E.J., Fiasse R. Hand et al. Efficacy and safety of prolonged-release lantreotide in patients with gastrointestinal neuroendocrine tumors and hormone-related symptoms. *Journal of Clinical Oncology*, 17(4), 1111, 1999.
102. Oberg K. Neuroendocrine gastrointestinal tumors--a condensed overview of diagnosis and treatment. *Annals of Oncology*, 10 (Suppl 2), S3-8, 1999.
103. Fjallsko M.L., Sundin A., Westlin J.E., Oberg K., Janson E.T., Eriksson B. Treatment of malignant endocrin pancreatic tumours with combination of alpha-interferon and somatostatin analogs. *Medical Oncology*, 19, 35-42, 2002.
104. Irwin, D.M., Molecular evolution of proglucagon. *Regul Pept*, 2001. **98**(1-2): p. 1-12.
105. Drucker, D.J., Glucagon-like peptides. *Diabetes*, 1998. **47**(2): p. 159-69.
106. Myojo, S., et al., Trophic effects of glicentin on rat small-intestinal mucosa in vivo and in vitro. *J Gastroenterol*, 1997. **32**(3): p. 300-5.
107. Dakin, C.L., et al., Oxyntomodulin inhibits food intake in the rat. *Endocrinology*, 2001. **142**(10): p. 4244-50.
108. Munroe, D.G., et al., Prototypic G protein-coupled receptor for the intestinotrophic factor glucagon-like peptide 2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. **96**(4): p. 1569-73.
109. Kimura, M. and M. Ogihara, Density-dependent proliferation of adult rat hepatocytes in primary culture induced by epidermal growth factor is potentiated by cAMP-elevating agents. *Eur J Pharmacol*, 1997. **324**(2-3): p. 267-76.

110. Damholt, A.B., et al., Proglucagon processing profile in canine L cells expressing endogenous prohormone convertase 1/3 and prohormone convertase 2. *Endocrinology*, 1999. **140**(10): p. 4800-8.
111. Holst J.J., Glucagon-like Peptide 1 (GLP-1): An Intestinal Hormone, Signalling Nutritional Abundance, with an Unusual Therapeutic Potential. *Trends Endocrinol Metab*, 1999. **10**(6): p. 229-235.
112. Xu, G., et al., Exendin-4 stimulates both beta-cell replication and neogenesis, resulting in increased beta-cell mass and improved glucose tolerance in diabetic rats. *Diabetes*, 1999. **48**(12): p. 2270-6.
113. Rocca, A.S. and P.L. Brubaker, Role of the vagus nerve in mediating proximal nutrient-induced glucagon-like peptide-1 secretion. *Endocrinology*, 1999. **140**(4): p. 1687-94.
114. Fischer, K.D., et al., Intestinal growth is associated with elevated levels of glucagon-like peptide 2 in diabetic rats. *Am J Physiol*, 1997. **273**(4 Pt 1): p. E815-20.
115. Drucker, D.J., et al., Regulation of the biological activity of glucagon-like peptide 2 in vivo by dipeptidyl peptidase IV. *Nat Biotechnol*, 1997. **15**(7): p. 673-7.
116. Drucker, D.J., et al., Induction of intestinal epithelial proliferation by glucagon-like peptide 2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996. **93**(15): p. 7911-6.
117. Hoyt, E.C., et al., Effects of fasting, refeeding, and intraluminal triglyceride on proglucagon expression in jejunum and ileum. *Diabetes*, 1996. **45**(4): p. 434-9.
118. Jeppesen, P.B., et al., Impaired meal stimulated glucagon-like peptide 2 response in ileal resected short bowel patients with intestinal failure. *Gut*, 1999. **45**(4): p. 559-63.
119. Xiao, Q., et al., Secretion of the intestinotropic hormone glucagon-like peptide 2 is differentially regulated by nutrients in humans. *Gastroenterology*, 1999. **117**(1): p. 99-105.
120. Brubaker, P.L., et al., Circulating and tissue forms of the intestinal growth factor, glucagon-like peptide-2. *Endocrinology*, 1997. **138**(11): p. 4837-43.
121. Hartmann, B., et al., In vivo and in vitro degradation of glucagon-like peptide-2 in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000. **85**(8): p. 2884-8.
122. Orskov, C., J. Andreasen, and J.J. Holst, All products of proglucagon are elevated in plasma from uremic patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992. **74**(2): p. 379-84.
123. Drucker, D.J., L. DeForest, and P.L. Brubaker, Intestinal response to growth factors administered alone or in combination with human [Gly²]glucagon-like peptide 2. *Am J Physiol*, 1997. **273**(6 Pt 1): p. G1252-62.

124. Xiao, Q., et al., Circulating levels of glucagon-like peptide-2 in human subjects with inflammatory bowel disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000. **278**(4): p. R1057-63.
125. Ulshen, M.H., et al., Increased ileal proglucagon expression after jejunectomy is not suppressed by inhibition of bowel growth. *Dig Dis Sci*, 1996. **41**(4): p. 677-83.
126. Stevens, F.M., et al., Glucagonoma syndrome demonstrating giant duodenal villi. *Gut*, 1984. **25**(7): p. 784-91.
127. Tsai, C.H., M. Hill, and D.J. Drucker, Biological determinants of intestinotrophic properties of GLP-2 in vivo. *Am J Physiol*, 1997. **272**(3 Pt 1): p. G662-8.
128. Jeppesen, P.B., et al., Glucagon-like peptide 2 improves nutrient absorption and nutritional status in short-bowel patients with no colon. *Gastroenterology*, 2001. **120**(4): p. 806-15.
129. Tsai, C.H., et al., Intestinal growth-promoting properties of glucagon-like peptide-2 in mice. *Am J Physiol*, 1997. **273**(1 Pt 1): p. E77-84.
130. Kouris, G.J., et al., The effect of glucagon-like peptide 2 on intestinal permeability and bacterial translocation in acute necrotizing pancreatitis. *Am J Surg*, 2001. **181**(6): p. 571-5.
131. Chance, W.T., et al., Prevention of parenteral nutrition-induced gut hypoplasia by coinfusion of glucagon-like peptide-2. *Am J Physiol*, 1997. **273**(2 Pt 1): p. G559-63.
132. Wojdemann, M., et al., Inhibition of sham feeding-stimulated human gastric acid secretion by glucagon-like peptide-2. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999. **84**(7): p. 2513-7.
133. Brubaker, P.L., et al., Intestinal function in mice with small bowel growth induced by glucagon-like peptide-2. *Am J Physiol*, 1997. **272**(6 Pt 1): p. E1050-8.
134. Hoosein, N.M. and R.S. Gurd, Human glucagon-like peptides 1 and 2 activate rat brain adenylate cyclase. *FEBS Lett*, 1984. **178**(1): p. 83-6.
135. Lovshin, J., et al., Glucagon-like peptide (GLP)-2 action in the murine central nervous system is enhanced by elimination of GLP-1 receptor signaling. *J Biol Chem*, 2001. **276**(24): p. 21489-99.
136. Yusta, B., et al., Enteroendocrine localization of GLP-2 receptor expression in humans and rodents. *Gastroenterology*, 2000. **119**(3): p. 744-55.
137. Bulut, K., et al., Glucagon-like peptide 2 improves intestinal wound healing through induction of epithelial cell migration in vitro-evidence for a TGF--beta-mediated effect. *Regul Pept*, 2004. **121**(1-3): p. 137-43.

138. Kim, K.A., et al., Mitogenic influence of human R-spondin1 on the intestinal epithelium. *Science*, 2005. **309**(5738): p. 1256-9.
139. Yusta, B., R.P. Boushey, and D.J. Drucker, The glucagon-like peptide-2 receptor mediates direct inhibition of cellular apoptosis via a cAMP-dependent protein kinase-independent pathway. *J Biol Chem*, 2000. **275**(45): p. 35345-52.
140. Burrin, D.G., et al., Glucagon-like peptide 2 dose-dependently activates intestinal cell survival and proliferation in neonatal piglets. *Endocrinology*, 2005. **146**(1): p. 22-32.
141. Lovshin, J., et al., Ontogeny of the glucagon-like peptide-2 receptor axis in the developing rat intestine. *Endocrinology*, 2000. **141**(11): p. 4194-201.
142. Bjerknes, M. and H. Cheng, Modulation of specific intestinal epithelial progenitors by enteric neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. **98**(22): p. 12497-502.
143. Rountree, D.B., et al., Nutrient-independent increases in proglucagon and ornithine decarboxylase messenger RNAs after jejunoileal resection. *Gastroenterology*, 1992. **103**(2): p. 462-8.
144. Scott, R.B., et al., GLP-2 augments the adaptive response to massive intestinal resection in rat. *Am J Physiol*, 1998. **275**(5 Pt 1): p. G911-21.
145. Drucker, D.J., et al., Human [Gly²]GLP-2 reduces the severity of colonic injury in a murine model of experimental colitis. *Am J Physiol*, 1999. **276**(1 Pt 1): p. G79-91.
146. Boushey, R.P., B. Yusta, and D.J. Drucker, Glucagon-like peptide 2 decreases mortality and reduces the severity of indomethacin-induced murine enteritis. *Am J Physiol*, 1999. **277**(5 Pt 1): p. E937-47.
147. Prasad, R., K. Alavi, and M.Z. Schwartz, Glucagonlike peptide-2 analogue enhances intestinal mucosal mass after ischemia and reperfusion. *J Pediatr Surg*, 2000. **35**(2): p. 357-9.
148. Tavakkolizadeh, A., et al., eds. Glucagon-like peptide 2: a new treatment for chemotherapy-induced enteritis. *J Surg Res*. Vol. 91. 2000. 77-82.
149. Boushey, R.P., B. Yusta, and D.J. Drucker, Glucagon-like peptide (GLP)-2 reduces chemotherapy-associated mortality and enhances cell survival in cells expressing a transfected GLP-2 receptor. *Cancer Res*, 2001. **61**(2): p. 687-93.
150. Drucker, D.J., et al., Regulation of the biological activity of glucagon-like peptide 2 in vivo by dipeptidyl peptidase IV. *Nat Biotechnol*, 1997. **15**(7): p. 673-7.
151. Schmidt, P.T., et al., Tissue levels and post-prandial secretion of the intestinal growth factor, glucagon-like peptide-2, in controls and inflammatory bowel disease: comparison with peptide YY. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2005. **17**(2): p. 207-12.

152. Thulesen, J., et al., Glucagon-like peptide 2 (GLP-2) accelerates the growth of colonic neoplasms in mice. *Gut*, 2004. **53**(8): p. 1145-50.
153. Orskov, C., et al., GLP-2 stimulates colonic growth via KGF, released by subepithelial myofibroblasts with GLP-2 receptors. *Regul Pept*, 2005. **124**(1-3): p. 105-12.