

PLEVRAL LEZYONLARDA PATOLOJİK DEĞERLENDİRMEDEKİ GÜÇLÜKLER

Büge Öz

Plevrada sıvı artışı ve plevral kalınlaşmalar klinikte primer plevral lezyonlar yanı sıra bir çok hastalığa ikincil olarak da oluşabilmektedir. Etiyolojide pek çok hastalık ya da önkoşul rol oynayabilmektedir. Buna karşın kesin tanı için uygulanacak yöntemler sınırlıdır. Klinik bulgular, radyolojik incelemeler, plevra ponksiyonu ve plevral kapalı ve açık biyopsiler sonucu tanıya ulaşılmaya çalışılmaktadır. Ancak tüm bu yöntemler uygulandığında bile kesin tanıya gidilemeyen olgular mevcuttur. Bunun nedenlerinden biri de biyopsi ve sitolojik materyalin patolojik değerlendirilmesinde yaşanan güçlüklerdir. Plevral sıvı ve biyopsi materyalinin değerlendirilmesindeki patolojik güçlükler başlıca atipik mezotelyal hücre proliferasyonu ile epiteloïd malign mezotelyoma, epiteloïd malign mezotelyoma ile metastatik adenokarsinom ve sarkomatöz mezotelioma ile diğer iğsi hücreli lezyonlar arasında yaşanır. Bu lezyonların patolojik açıdan ayırımında yardımcı olacak güncel temel ip uçları aşağıda özetlenmeye çalışılmıştır.

ATİPİK MEZOTELYAL PROLİFERASYON / EPİTELOİD MALİGN MEZOTELİYOMA

Çok çeşitli patolojik koşullarda plevral boşlukta sıvı artışı ile birlikte seröz yüzeyleri örten döşeyici mezotelyal hücreler vücuttaki bir çok dokudan daha aşırı yanıt verirler. Mezotelyal hücreler tümör dışı koşullarda da atipik özellikler kazanarak çoğalabilir, malign mezotelyomayı (MM) taklit eden kümeler, papiller proliferasyonlar, topuza benzer yumaklar meydana getirirler. Mezotelyal hücrelerde atipik değişime ve proliferasyona neden olan koşulların başında konjestif kalp yetmezliği, siroz yada diğer karaciğer yetmezlik tabloları, akciğer infarktı, kollajen-vasküler hastalıklar,

* İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

Yazışma Adresi:

Dr. Büge ÖZ İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı 34303- İSTANBUL
Telefon No: İş: 0 212 5861551 Ev: 0 212 5593831
e-mail: ferhan@oztkbbv.org.tr

renal yetmezlik-üremi, pankreatit, radyoterapi ve kemoterapi uygulanması, cerrahi girişimler ve toraks travması gelmektedir (1,2).

Reaktif atipik değişim göstererek çoğalmış mezotelyal hücreler sitolojik olarak ışık mikroskobu ile nüve/sitoplazma oranı nüve lehine artmış, belirgin nukleoluslu, genellikle hiperkromatik ve pleomorfizm gösteren nüveye sahip olarak izlenir. Tek, çift ya da çok çekirdekli hücreler bulunabilir. Bu hücreler sayısal artışla birlikte papiller yapılar, kohezif yuvarlak sınırlı topuza benzer yapılar oluşturabilirler. Nükleer büyüme, hiperkromazi, nükleollüsün büyümesi, perinükleer halo varlığı, sitoplazmik vakuolizasyon, hücreler arası pencereleşme gerçek malignite bulguları olarak bildirilmekle birlikte bu özelliklerin her biri malign mezotelyomada da izlenen bulgulardır (1). Bu nedenle yalnızca plevra sıvısına dökülen hücrelerin sitolojik incelenmesi Atipik mezotel proliferasyonu (AMH) ile Epiteloïd tipte malign mezotelyoma (EMM) ayırımında yeterli olmayabilir. Aynı zamanda uygun yerden yeterli doku içeren kapalı yada açık plevra biyopsinin alınması tanıyı kesinleştirmek için önemlidir. AMH yada bazı yazarlarca benimsenen diğer isim olarak İn-situ mezotelyomanın gerçek EMM'den ayrımı ancak biyopside bağ dokusu artışının eşlik ettiği (=desmoplazi) stromaya invazyonun saptanması ile yapılabilir. (2)

İmmunhistokimyasal olarak da sitolojik yada biyopsi materyalindeki atipik mezotelyal hücrelerde p53 immün boyanmanın saptanması mezotelyomayı destekleyen önemli bir bulgudur(3-5). Mullick ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada EMM'da %53 oranında p53 pozitifliği saptarlarken, AMH olgularında p53 pozitifliği görülmemektedir (5). Reaktif atipinin EMM'den ayrımı için immünhistokimyasal diğer bir yardımcı bulgu da reaktif mezotel hücreleri Epitelyal Membran Antijen (EMA) pozitifliği göstermezken malign mezotelyal hücrelerde çoğunlukla sitoplazmik sınır boyanması şeklinde EMA pozitifliği mevcuttur.(6). Wolanski ve arkadaşları EMA pozitifliği ve hücre proliferasyon belirleme yöntemlerinden biri olan AgNOR sayımının birlikte AMH ile EMM ayırımında yardımcı olduğunu saptamışlardır. AgNOR sayısının tek tek olgularda bazen örtüştüğü görülmekle birlikte maligniteyi saptamada yardımcı yöntemler arasında almaktadır (7).

EPİTELOİD MALİGN MEZOTELİYOMA/ METASTATİK ADENOKARSİNOM

Plevral biyopsilerin değerlendirilmesinde pratikte en sık karşılaşılan sorun da EMM ile metastatik veya akciğer kaynaklı adenokarsinom (AK) ların, özellikle küçük biopsilerin doku kesitlerinde rutin yöntemlerle

ayırımının zorluğudur. Plevrada AK infiltrasyonun ve epiteloid mezotelyal hücrelerin hücre bazında ışık mikroskopik özellikleri ve oluşturdukları paternler çok benzer hatta birbirinden ayırlamaz özelliklerde olabilir.

Bu nedenle günümüzde AK ve EMM ayırımında hematoksilen +eozin boyasına ek olarak elektron mikroskopik, histokimyasal ve immunhistokimyasal incelemeler yapılmaktadır.

Elektron mikroskopi:

Metastatik AK ve EMM ayırımı için ışık mikroskopik değerlendirme yanı sıra elektron mikroskopik incelemenin de yapılması yardımcıdır. Ülkemiz koşullarında elektron mikroskopik çalışma yapmak bir çok merkez için çok masraflı ve hatta imkansız olmakla birlikte yapılabildiğinde oldukça yardımcıdır. Tümör hücrelerinde çok sayıda uzun ve dallanan mikrovillusların görülmesi mezotelyal hücreleri tanımak için önemlidir. Adenokarsinom hücrelerinde ise mikrovilluslar az sayıda ve kısadır (8-10).

Histokimya:

AK ile EMM ayırımında kullanılacak histokimyasal boyalar mezotelyal hücrelerin asidik mukopolisakkarid, hyalüronik asid üretmeleri, glikojen içermeleri buna karşın adenokarsinom hücrelerinin başta nötral olmak üzere değişik tipte müsin üretmeleri ve bunların gösterilmesi esasına dayanır(8-10). Özellikle epiteloid mezotelyomalarda hyalüronik asid üretiminin artmış olması plevra sıvısının viskozitesinde artışa neden olacaktır(1).

Histokimyasal boyalarla AK ve EMM ayırımına yardımcı sık kullanılan boyalar ve beklenen sonuçları Tablo I'de verilmiştir. Konvansiyonel histokimya bazı araştırmacılarca oldukça yardımcı bulunurken (8,10), ne yazık ki bu boyaların sonuçları her olgu için yüzde yüz değildir. Son yıllarda immunhistokimyanın patolojide yaygın kullanımı histokimyaya önemli bir alternatif oluşturmuştur.

Tablo I: Adenokarsinom ile Ep. M. Mezotelyoma ayırımında kullanılan histokimyasal boyalar:

	Adenokarsinom (AK)	Ep. M. Mezoteryoma (EMM)
Müsi-carmen	+++ (intrasitoplazmik)	+, - (ekstrasellüler)
PAS/D-PAS*	+++ / +++	++ / -
Alcian mavisi/HYL**	++ / ++	+++ / ---
Kolloidal demir/HYL**	++ / ++	+++ / ---

* D- PAS : diastaz muamelesi ile birlikte periyodik asid shift reaksiyonu.

** HYL: Hyalüronidaz enzimi uygulandıktan sonra boyama

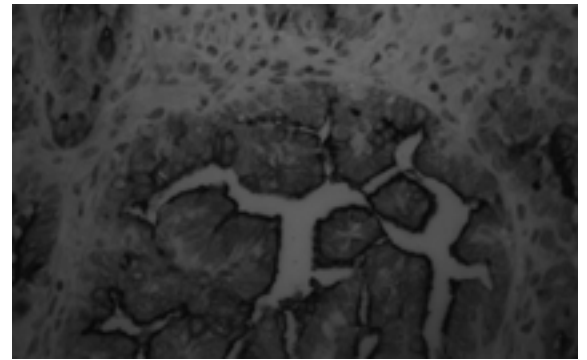
İmmunhistokimya:

AK ile EMM 'nin immunhistokimyasal ayırımı temelde AK hücrelerinde karsinomun ispatlanması ve bu işaretleyicilerin büyük çoğunluğu ile mezotelyal hücrelerin boyanmaması esasına dayanır. Uzun yıllardan beri AK/EMM ayırımı için kullanılan primer antikorlar CEA (karsino Embryonik Antijen), Leu M1(CD15), Ber-Ep4,B72.3, HMFG-2' dir(8-13). Ancak bu primer antikorların hepsiyle düşük bir yüzde ile de olsa mezotelyal hücreler de pozitif reaksiyon vermektedir. Ordonez, Ber-EP4 ile AK'da yaygın ve kuvvetli boyama izlerken EMM'da seyrek hücrede pozitiflik saptamıştır(14).

Son yıllarda ise sadece AK hücrelerini saptanması dışında mezotelyal hücreler pozitif boyayan primer antikorlar saptanmaya yönelik çalışmalar sürmektedir(15-19).

Trombomodulin,glikoprotein yapısında, intravasküler kuagulan düzenleyici görevi olan bu amaçla ortaya atılan ilk primer antikorlardandır(15,16). EMM trombomodulin ile daha kuvvetli ve yaygın boyanma gösterse de AK'larda da pozitif reaksiyon olabilmektedir.

Hücre adezyon moleküllerinden Cadherin ailesinin değişik alt grupları çalışılmış, Malign mezotelyomalarda histolojik tipe bakılmaksızın N-cadherin, buna karşın AK'larda E-cadherin pozitif bulunmuştur(17). Yeni arayışlar içinde mezotelyal hücrelerde pozitif reaksiyon veren Calretinin üzerinde durulmaktadır.Calretinin selim ve habis tüm mezotelyal hücrelerde pozitif olduğu gösterildi (18,19).(Resim 1)



Resim 1:

Sonuç olarak AK/EMM ayırımında immunhistokimyanın panel olarak uygulanması, bu panele karsinom hücrelerinde pozitif reaksiyon veren 2 veya 3 ve mezotelyal hücrelerde pozitif reaksiyon veren 1 adet (özellikle calretinin) primer antikorun kullanılması önerilmektedir (8,9,10,19).

AK/ EMM ayırımında biopsi değerlendirmede yaşanan bazı sorunlar plevral sitolojinin değerlendirilmesinde

yaşanmayabilir; çünkü plevral AK infiltrasyonlu hastada adenokarsinom hreleri yanı sıra genellikle buna eşlik eden, farklı morfolojik özellikler taşıyan proliferen mezotelyal hreler izlenir. AMH ile EMM ayırımında değerlendirmesi daha zor gibi görünen plevral sitoloji (nk sitolojik materyelde mezotel için invazyon değerlendirmesini yapmak mümkün değildir) AK ile EMM ayırımında önem kazanır. Bu nedenle klinikte özellikle tek taraflı plevral efüzyonun eşlik ettiği plevral kalınlaşma, nodüler infiltrasyon varlığında alınacak doku biyopsileri ile birlikte, eř zamanlı sitolojik materyalin de patolojik incelemeye gönderilmesi histopatolojik tanı için çok önem taşıtmaktadır.

SARKOMATOID MEZOTELYOMA / DİğER SARKOMLAR ve İğSİ HÜCRELİ TÜMÖR ve BENZERİ LEZYONLAR

AK ve EMM ayırımında kullanılan histokimyasal ve immunhistokimyasal yöntemler ne yazık ki sarkomatöz veya desmoplastik mezotelyoma ayırımında çok yardımcı olamamaktadır. Ancak gerek sarkomatöz mezotelyoma, gerekse onunla karışabilecek olan lezyonlar pratikte daha nadir olarak karşımıza çıkmaktadır.

Ayırımında güçlük yaratacak lezyonlar (8,10);

- Sarkomatöz mezotelyoma (SM) / lokalize fibröz tümör (LFT)
- Sarkomatöz mezotelyoma / reaktif serozal fibrozis (RSF)
- Sarkomatöz mezotelyoma / Göğüs duvarının primer veya metastatik sarkomları
- Desmoplastik mezotelyoma / lokalize fibröz tümör (LFT)
- Desmoplastik mezotelyoma / reaktif serozal fibrozis olarak gruplandırılabilir.

Sarkomatöz / desmoplastik tip mezotelyomada mutlaka biyopsi hatta açık biyopsi alınması daha uygun olacaktır. Biyopsinin kalınlığı, bu kalınlığı oluşturan hrelerin zonal dağılım göstermesi; matürasyon bulgularının varlığı reaktif serozal fibrozisten ayırmda oldukça yardımcıdır(matürasyon görülmesi RSF lehinedir.). Değişken sellariteye sahip proliferatif nodüler yapılaşma, storioform patern oluşturma, infarkt benzeri kk nekrozların ve mitotik aktivasyon (zellikle atipik mitoz) görülmesi habaset lehine yorumlanması gereken morfolojik bulgulardır(20).Göğüs duvarına invazyonun saptanması morfolojik olarak da radyolojik olarak da habaseti destekler bulgudur. AK ve EMM ayırımında

nemli bulunan Calretinin'in uygulanması hrelerde yalnızca mezotelyal orjini gösterip, habaset yönünde bulgu olamayacağından pratik yardımı olamaz (20). Biyopsilerde immunhistokimyasal keratin belirleyicilerin kullanımı LFT ve RSF'den SM ayırımında yardımcı olacaktır; SM'da sitokeratin pozitifliği beklenirken diğer tümörler negatif reaksiyon verir. Ayrıca SFT CD34 pozitifliği gösterir(2,10). Ancak sitokeratin, SM ile diğer sarkomların ayırımında her zaman yardımcı olamaz, çünkü sinovial sarkom, malign periferik sinir tümörleri gibi aynı lokalizasyonlu olabilen bazı sarkomlar da keratin ile pozitif reaksiyon verebilirler(10). Sarkomatoid ve daha nadir görülen desmoplastik mezotelyoma kk biyopsi örneklerinde morfolojik bazda ve immunhistokimyasal uygulandığında bile ayırıcı tanıda zorluk yarattığından mutlaka klinik verilerle, özellikle görüntüleme yöntemlerinin sunduğu veriler işığında değerlendirilmelidir.

Sonuç olarak plevral lezyonların en iyi şekilde değerlendirilmeleri için ayrıntılı klinik bilgi ile plevra sıvı rneği ve biyopsisi birlikte patoloji laboratuvarına gönderilmesi uygun olur. İncelenecek sitolojik ve biyopsi materyalinin en kısa zamanda patoloji birimine ulaştırılması materyallerin bozulmadan işleme tabi tutulması için şarttır.

KAYNAKLAR

1. Naylor B. Pleural, pritoneal and pericardial fluids. In Bibbo M. Diagnostic Cytology. Philadelphia: WB Sanders, 1991: 590-594.
2. Galateau-Salle F. Atypical Mesothelial Hyperplasia. Handout of Pleural Mesothelioma Slide Seminar pp2-12, in XXII International Congress of International Academy of Pathology, October 18-23, 1998, Nice-France.
3. Mayall F G, Goddard H, Gibbs A: p53 Immunostaining in the distinction between benign and malignant mesothelial proliferations using formalin-fixed paraffin sections. J Pathol. 1992;168: 377-381.
4. Cagle P T, Brown R W, Lebovitz R M: p53 Immunostaining in the differatiation of reactive processes from malignancy in pleural biopsy specimens. Hum Pathol 1994; 25:443-448.
5. Mullick S S, Green L K, Ramzy R W, et al. P53 gene product in pleural effusion Acta Cytologica 1996; 40:855-860.
6. Wolanski K D, Whitaker D, Shilkin K B, Henderson D W. The use of epithelial membrane antigen and silver-stained nucleolar organizer regions testing in the differential diagnosis of mesothelioma from

- benign reactive mesotheliomas. *Cancer* 1998;82 (3):583-590.
7. Öz B, Dervişoğlu S, Girişken G, Yılmaz N, Özsan H. Differentiation of Malignant from Normal and Reactive Mesothelial Cells in Human Pleural Effusion by Ag-Nor Technique. *Turk J Med Bio Res* 1993; 4(2): 115-122.
 8. Mccaughey WTE, Colby TV, Battifora H, Churg A, et al. Diagnosis of diffuse malignant mesothelioma: Experience of a US/ Canadian Mesothelioma panel. *Modern Pathol* 1991;4 (3): 342-353.
 9. Wick RM. Immunophenotyping of malignant mesothelioma. *Am J Surg Pathol* 1997; 21(1): 1395-1398.
 10. Attanoos RL, Gibbs AR. Pathology of malignant mesothelioma. *Histopathol* 1997;30:403-418.
 11. Cibas ES, Corson JM, Pincus GS. The distinction of adenocarcinoma from malignant mesothelioma in cell blocks of effusions. *Hum Pathol* 1987; 18: 67-74.
 12. Wirc MR, Loy T, Stacey EM, et al. Malignant epitheloid pleural mesothelioma versus peripheral pulmonary adenocarcinoma. *Hum Pathol* 1990; 21:759-766.
 13. Sheibani K, Esteban JM, Bailey A, et al. Immunopathologic and molecular studies as an aid to the diagnosis of malignant mesothelioma. *Hum Pathol* 1992; 23 (2):107-116.
 14. Ordonez NG. Value of the Ber-EP4 antibody in Differentiating epithelial pleural mesothelioma from adenocarcinoma. *Am J Clin Pathol* 1998;109:85-89.
 15. Fetsch PA, Abati A, Hijazi YM. Utility of the antibodies CA 19-9, HMBE-1, and thrombomodulin in the diagnosis of malignant mesothelioma and adenocarcinoma in cytology. *Cancer (cancer cytopathol)* 1998; 84 (2):101-108.
 16. Ordonez NG. The value of antibodies 44-3A6, SM3, HMBE-1, and thrombomodulin in differentiating epithelial pleural from lung Adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 1997; 21(1):1399-1408.
 17. Soler AP, Knudsen KH, Jaurand MC, et al. The differential expression of N-Cadherin and E-Cadherin distinguishes pleural mesotheliomas from lung adenocarcinomas. *Hum Pathol* 1995; 26: 1363-1369.
 18. Leers MPG, Aarts MMJ, Theunissen. E-cadherin and calretinin: a useful combination of immunochemical markers for differentiation between mesothelioma and metastatic adenocarcinoma. *Histopathology* 1998; 32: 209-216.
 19. Ordonez NG: Role of immunohistochemistry in differentiating epithelial mesothelioma from adenocarcinoma. *Am J Clin Pathol* 1999;112:75-89.
 20. Praet M. Idiopathic Chronic Fibrosing Pleuritis. Pleural Mesothelioma, Handout of Pleural Mesothelioma Slide Seminar pp13-14, in XXII International Congress of International Academy of Pathology, October 18-23, 1998, Nice- France.