

Normal prostat dokusunda, selim prostat lezyonlarında ve yüksek PİN olgularında HMWCK 34-βE12 ile boyanma özelliklerinin karşılaştırılması

Gülnihal AY-COŞKUN, Berrin GÜÇLÜER, Nazan AKSOY

ÖZET

Yüksek PİN olgularında, prostatik adenokarsinomlarıyla ayırıcı tanıda problem yaratan selim prostat lezyonlarında ve normal prostat dokusunda HMWCK 34βE12 ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlandı. Olgularımız normal ve hiperplazik prostat dokusu, atrofi, bazal hücre hiperplazisi (BHH), adenozis ve yüksek PİN içerecek şekilde seçildi. Olguların hepsine 34βE12 ile boyama yapıldı. Lezyonlarda prostatik bezlerde boyanma yüzdeleri, tipi (kesintisiz, kesintili ve yama tarzı) ve yoğunluğu (zayıf, orta, kuvvetli) tesbit edildi. Boyanma anlamlı olarak adenozis olgularında diğerlerine göre düşüktü. Normal ve atrofik bezlerde de yer yer boyanmama izlendi. % 98 kesintisiz ve kuvvetli boyanma gösteren BHH diğer gruplardan anlamlı olarak farklıydı. Yüksek PİN lezyonlarında 34βE12 ile zaman zaman kesintili ve hatta yama tarzı boyanma izledik. 34βE12 ile boyanmış bir lezyon değerlendirirken boyanmayan bezler yakınlardaki benzer sitolojik özelliklere sahip bezlere göre ve lezyondaki yerleşimlerine göre değerlendirilmelidir. Az sayıda şüpheli bezde boyanma izlenmemesi tek başına kanser tanısı koydurmaz. 34βE12 ile çalışırken yanlış negatif boyanma olabileceği akıldaki tutulmalıdır.

Anahtar kelimeler: Prostat, HMWCK 34βE12

SUMMARY

HMWCK 34βE12 immunoreactivity in normal prostate tissue, benign prostatic lesions and HIGH grade PIN

Our objective is to search the HMWCK 34βE12 immunoreactivity in high grade PIN lesions, atrophy, adenosis, basal cell hyperplasia (BCH) and normal prostatic tissue. Cases were immunostained by 34βE12. We determined the percentage, type (continuous, focally interrupted and patchy) and the density (weak, intermediate and strong) of staining. The percentage of staining was significantly low in adenosis cases. Normal or atrophic prostate glands sometimes didn't show positive staining. The staining properties of BCH group (% 98 continuous and strong in density) were significantly different from others. High grade PIN lesions also sometimes showed focally interrupted or even patchy staining. Nonreactive glands must be utilized according to their location in the lesion and compared to the cytologically similar ones. It is not recommended to diagnose a lesion as cancer by showing non-reactivity in a small amount of suspicious glands. The probability of false negative staining must be always in mind.

Key words: Prostate, HMWCK 34βE12

Çalışmamızda, yüksek PİN olgularında ve prostatik adenokarsinomlarıyla ayırıcı tanıda problem yaratan selim prostat lezyonlarında ve normal prostat dokusunda HMWCK 34βE12 ile immünohistokimyasal boyanma özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

MATERYAL ve METOD

2001-2002 yılları arasında SSK Göztepe Eğitim Hastanesi Patoloji Laboratuvarına gelen prostat materyalleri arasından 60 adet olgu seçilerek retrospektif olarak incelendi. Seçilen olguların 33'ü radikal prostatektomi, 12'si basit prostatektomi ve 15'i transüretal rezeksiyon (TUR) materyaliydi. Olgularımız normal ve hiperplazik prostat dokusu (24 kesit), atrofi (21 ke-

sit), bazal hücre hiperplazisi (12 kesit), adenozis (15 kesit) ve yüksek PİN (20 kesit) içerecek şekilde seçildi. Bazı olgularda değişik lezyonları içeren birden fazla kesit incelendi. Normal prostat dokusu da içerecek şekilde toplam 92 adet selim prostat lezyonu incelendi. Olguların hepsine 34βE12 ile boyama yapıldı. Boyanma sekretuar hücrelerle bazal membran arasında, bazal hücrelerin anatomik yerleşim yerlerinde sitoplazmik olarak izlendi. Her kesit içindeki normal prostat bezleri pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Boyanma paternleri kesintisiz, kesintili ve yama tarzı olarak üç grupta belirlendi:

1. Kesintisiz: Tüm bezin çevresini kesintisiz halka şeklinde saran boyanma
2. Kesintili: Tüm bezi çevrelemiş, ancak aralarda dar alanlarda boyanma içermeyen, kesintili boyanma

Tablo 1. Normal prostat dokusunda, selim ve yüksek PİN lezyonlarında 34βE12 immünoaktivitesi.

	Normal + hiperplazi	Atrofi	Bazal hücre hiperplazisi	Adenozis	Yüksek PİN	p
Boyanma (ort.±SD)	98.41±3.42	95.28±9.68	100.00	84.33±17.71	100.00	0.001**
Boyanma paterni	Kesintisiz (%)	64	51	98	48	37
	Kesintili (%)	31	31	2	35	50
	Yama tarzı (%)	5	18	0	16	13
Boyanma Yoğunluğu	Zayıf (%)	3	9	0	10	4
	Orta (%)	25	31	2	35	24
	Kuvvetli (%)	72	60	98	55	72

** p<0.01 İleri düzeyde anlamlı.

3. Yama tarzı: Devamlılığı olmayan, geniş alanlarda boyanma içermeyen, yama tarzı boyanma

Boyanma yoğunluğu kuvvetli, orta derece ve zayıf olmak üzere üç grup halinde değerlendirildi:

1. Kuvvetli boyanma: Parlak kırmızı, küçük büyütmeye kolaylıkla seçilebilen yoğunlukta boyanma
2. Orta derece boyanma: Soluk renkte, küçük büyütmeye zorlukla seçilebilen yoğunlukta boyanma
3. Zayıf boyanma: Ancak büyük büyütmede seçilebilen çok soluk boyanma

İmmünohistokimyasal olarak boyanan kesitlerde lezyon başına boyanma gösteren bezlerin oranı ve çoğunluk boyanma paterni ve boyanma yoğunluğu tesbit edildi. Ortalamalar alındı (Tablo 1). Değerlendirmeler bez sayılarak yapıldı. Lezyonun tipine göre sayılabilen bez sayısı 10 ile 100 arasında değişti.

BULGULAR

Boyanma yüzde miktarlarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık vardı (p<0.01). Anlamlılığı oluşturan grup ya da grupları bulmak için yaptığımız ikili karşılaştırmalarda, adenozis grubunun boyanma ortalaması diğer gruplara göre ileri düzeyde anlamlı derecede düşük bulundu (p<0.01). Diğer 4 grup arasında boyanma düzeyleri ortalaması olarak anlamlı farklılık bulunmadı (p>0.05).

Olguların boyanma paterni yüzdesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık vardı (p<0.01). Anlamlılığı oluşturan grup öncelikle bazal hücre hiperplazisi grubu idi. Buradaki olguların % 98'i kesintisiz boyanmış bezlere sahipti. Bunu takiben normal+hiperplazi grubunun kesintisiz boyanan bez oranı % 64'dü. Bu grup da diğer gruplar ile anlamlı farklı bulundu. Atrofi, adenozis ve yüksek PİN grupları arasında anlamlı fark yoktu (p>0.05).

Olguların boyanma yoğunlukları yüzdesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık vardı (p<0.01). Anlamlılığı oluşturan grup ön-

celikle bazal hücre hiperplazisi grubu idi. Bu gruptaki bezlerin % 98'i kuvvetli yoğunlukta boyanmıştı. Normal+hiperplazi, atrofi, adenozis ve yüksek PİN grupları arasında anlamlı fark yoktu (p>0.05).

TARTIŞMA

Prostatik adenokarsinomlar bazal tabaka içermezler ve bu nedenle şüpheli olgularda bazal tabakanın gösterilmesi karsinom tanısının ekarte edilmesinde yardımcıdır. Fakat, H&E kesitlerle bazal hücrelerin alttaki fibroblastlardan ayırt edilememesi veya bazen artefakt sebebiyle neoplastik bezlerde iki tabakalı görünümün oluşması tanıda zorluk yaratmaktadır. Günümüzde, özellikle prostatın bazal tabakasını işaretleyen monoklonal antikeratinler rutinde kullanılmaya başlanmıştır. Anti-CKHMW34βE12 Moll kataloğunda sitokeratin 1, 5, 10 ve 14'e karşılık gelen 66, 57, 51 ve 49 kDa proteinler ile reaksiyon verir. Yüksek moleküler ağırlıklı sitokeratinler için spesifiktir. Bazal hücrelerin keratinlerini boyar ve iyi diferansiye prostat karsinomlarının selim lezyonlardan ayırımında yardımcıdır (1,2). Bu sebeple prostat karsinomu tanısında ve özellikle adenozis, bazal hücre hiperplazisi ve atrofi gibi karsinomu taklit eden selim lezyonlarla karsinomun ayırımında yaygın olarak kullanılmaktadır (3-5).

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, 34βE12'nin kullanımı ile ilgili bir problemi ortaya çıkarmıştır: 34βE12 ile bazen normal prostat bezlerinde de boyanma izlenmemektedir. Shah ve ark. (6) çalışmalarında, 108 adet prostat iğne biyopsisinin 25'inde ve 12 tane TURP materyalinin 12'sinde morfolojik olarak selim görünümlü bezlerde dağınık şekilde boyanma kaybı izlenmişlerdir. Ayrıca çalışmalarında atrofi, adenozis ve yüksek PİN alanlarında boyanmayı yama tarzı veya seyrek bir şekilde izlenmişlerdir. Goldstein ve ark. (7), 21 radikal prostatektomi materyalinde normal prostat bez-

lerinde 34βE12 immünoaktivitesini araştırdıkları çalışmalarında, normal prostat bezlerinin toplamının % 98'inde boyanma izlemişlerdir. Boyanmayan bezlere yakın yerleşimli birçok bezde de kesintili boyanma paterni izlemişlerdir. Hedrick ve ark. (3), 44 olgu ile yaptıkları çalışmalarında, normal prostat bezlerinin % 98'inde boyanma izlemişlerdir. Boyanma normal prostat bezlerinin % 61'inde kesintili ve % 11'inde ise yama tarzındadır. Biz çalışmamızda, normal ve hiperplazik olgularımızda değerlendirdiğimiz prostat bezlerinin % 98'inde boyanma izledik. Bunların % 31'i kesintili ve % 5'i yama tarzı izlendi (Resim 1, 2).

Hedrick ve Epstein (3), çalışmalarında formol tesbitli dokuda kesintili boyanma izlerken, frozen kesitlerde kesintisiz bir boyanma paterni izlemişlerdir. Tesbitli dokulardaki kesintili boyanmayı formol tesbitinin veya doku takibinin prostat dokusunun antijenitesini etkilemesi ve 34βE12 ile boyanmayı bozması ile açıklamış-



Resim 1. Nodülün periferinde kesintili boyanan ve hiç boyanmayan selim bezler izlenmektedir. (HMWCK 34bE12X100).



Resim 2. Normal prostat bezlerinde yama tarzı boyanma ve boyanmama izlenmektedir. (HMWCK 34bE12X100).

lardır. Normal prostat bezlerinde boyanmama veya yama tarzı boyanmaya başka bir sebep de, bu alanlarda bazal hücre sitoplazmasının çok incilmesi ve antikorun bağlanması için yeterli antijen içermemesidir. US olarak bazal hücrelerin sitoplazmasının bazı alanlarda bazal lamina kadar incelendiği gözlemlenmiştir. Ayrıca bazı yazarlar bazal hücrelerdeki intermediate keratin flamanlarının gelişigüzel dağıldığını ve sayılarının çok değişken olabildiğini savunmaktadırlar (7). Bu, özellikle kistik atrofideki ve hiperplazilerdeki periferde basıya uğramış bezlerdeki boyanma problemlerini açıklamaktadır.

Diğer bir sebep, bazı yazarların belirttiği gibi transizyonel zon bezlerindeki az yoğunluktaki immünoaktivitedir. Bu durum bazılarında özellikle immünohistokimyasal boyama işlemi sırasında kullanılan buffer tipine bağlanmaktadır. Goldstein ve ark. (7), sitrat buffer ile yaptıkları immünohistokimyasal boyamada, transizyonel zonda soluk bir boyanma veya hiç boyanmama tesbit etmişlerdir. EDTA buffer kullandıklarında transizyonel zonda immünoaktivitede azalma izlememişlerdir. Diğer bir sebep de, bazal hücrelerin yan yana tam bir halka şeklinde sıralanmamalarıdır. US olarak bazı alanlarda luminal epitelyal hücrelerin arada bir bazal hücre olmaksızın bazal lamina ile direkt ilişkide olduğu gözlenmiştir (7).

Çalışmamızda 34βE12 ile immünoaktif olmayan selim bezler hemen her zaman bir bez topluluğunun en periferinde yerleşimliydi. Ayrıca, genelde boyanmayan beze en yakın bezlerde yama tarzı veya kesintili boyanma mevcuttu. Bu sebeple, 34βE12 ile boyanmış bir lezyon değerlendirirken boyanmayan bezler yakınlarındaki benzer sitolojik özelliklere sahip bezlere göre ve lezyondaki yerleşimlerine göre değerlendirilmelidir. Cerrahi patoloğlar sıklıkla 34βE12 ile boyanmamış veya çok zayıf boyanmış, ancak açıkça selim görünümde asinuslarla karşılaşabilirler. Bu durumda, boyama işleminde bir problem olabileceği düşünülmelidir. Bu sebeple, boyanın çalışıp çalışmadığını göstermek için kesit içinde kuvvetli pozitif selim bezlerin izlenmesi gerekir. Olguların çoğunluğunda morfoloji ile sonuca gidilebilir, ancak bu değişken boyanma paternleri yüksek sayıda yanlış negatif sonuçlar doğurabilir (6).

Karsinom ile selim lezyon ayrımında eğer lezyonun tamamında 34βE12 ile boyanma izlenmiyorsa karsinom lehine düşünülebilir, ancak uniform histoloji gösteren bir lezyonda bir miktar boyanma lezyonu selim katego-

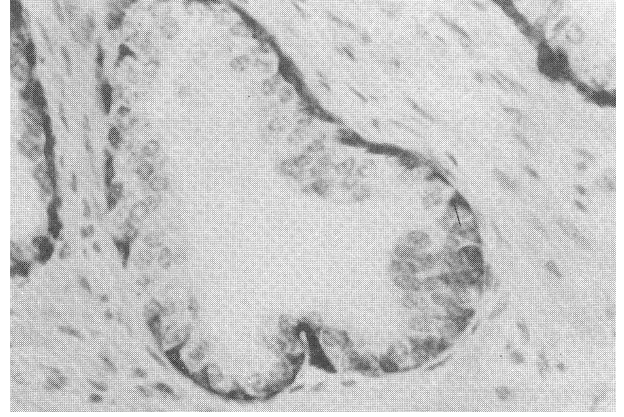
risine sokabilir (3). 34βE12 ile çalışırken boyanmama yerine boyanma dikkate alınmalıdır. Yukarıda belirttiğimiz sebeplerden dolayı, normal prostat dokusunda dahi boyanma izlenmeyebilir. Bu nedenle, özellikle iğne biyopsilerinde şüpheli alanda 34βE12 ile boyanma izleniyorsa karsinom tanısı rahatlıkla ekarte edilebilir. Ancak özellikle iğne biyopsilerinde karşılaştığımız gibi az sayıda şüpheli bezde boyanma izlenmemesi tek başına kanser tanısı koydurmamalıdır.

Çalışmamızda adenozis, bazal hücre hiperplazisi, atrofi ve yüksek PİN vakalarında da yer yer boyanmama veya kesintili veya yama tarzı boyanma izledik. Cheville ve Bostwick (8), postatrofik hiperplazili olgularının % 30'unda kesintili boyanma izlemişlerdir. Boyanmanın özellikle PAH lezyonlarının periferindeki bezlerde değişken ve genellikle zayıf olduğunu belirtmişlerdir.

Boyanmadaki azalma anlamlı olarak adenozis olgularında diğer lezyonlara göre düşüktü. Hedrick ve ark. (3), 22 adenozis olgusunda bezlerde 34βE12 immünoaktivitesini ortalama olarak % 61 olarak izlemişlerdir. İmmünoaktif bezlerin % 32'si kesintili, % 63'ü yama tarzı boyanma paterni göstermiştir. Biz çalışmamızda adenozisli 15 olguda bezlerde % 84 oranında boyanma izledik. Kesintili boyanma oranı % 35, yama tarzı boyanma oranı ise % 16 idi. Boyanma şeklindeki çeşitlilikten ve morfolojik olarak Grade-I karsinomlara benzerliğinden dolayı adenozis özellikle iğne biyopsilerinde kanserle ayırıcı tanıda sorun oluşturmaktadır.

Boyanma paternlerine baktığımızda, % 98 kesintisiz ve kuvvetli boyanma gösteren bazal hücre hiperplazisi diğer gruplardan anlamlı olarak farklıydı. Bunu hiperplastik bezlerde bazal hücrelerin sıralanmasının artmış olmasına bağladık.

34βE12 ile yüksek PİN alanlarında bazal hücre tabakasında boyanmayan alanlar bazı yazarlarca bazal hücre tabakasının bu alanlarda eksikliği olarak yorumlanmaktadır ve bu alanlar prostat karsinomunun erken invazyonu olarak değerlendirilmektedir (3). Ancak biz çalışmamızda yüksek PİN lezyonlarında 34βE12 ile



Resim 3. Yüksek PİN içeren bezde boyanmada fokal kesinti izlenmektedir. (HMWCK 34βE12X400).

zaman zaman kesintili ve hatta yama tarzı boyanma izledik (Resim 3). Normal prostat bezlerinde de zaman zaman bu tarz boyanma izleyebildiğimiz düşünülecek olursa, açıkça invazyon alanı seçilmediği takdirde yüksek PİN lezyonlarında kesintili ve yama tarzı boyanmanın erken karsinom invazyonu olarak değerlendirilmemesi görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Young RH, Srigley JR, Amin MB, Ulbright TM, Cubilla AL: Tumors of the Prostate Gland, Seminal Vesicles, Male Urethra, and Penis, Third Series, U.S.A., AFIP, 2000, 118-130
2. Wojno KJ, Epstein JI: The utility of basal cell-specific anti-cytokeratin antibody (34βE12) in the diagnosis of prostate cancer. Am J Surg Pathol 19(3):251-260, 1995.
3. Hedrick L, Epstein JI: Use of 903 as an adjunct in the diagnosis of prostatic carcinoma. Am J Surg Pathol 13(5):389-396, 1989.
4. Ollai BR, Kahane H, Epstein JI: Can basal cells be seen in adenocarcinoma of prostate?: An immunohistochemical study using high molecular weight cytokeratin (Clone 34βE12) antibody. Am J Surg Pathol 26(9):1151-1160, 2002.
5. Kahane H, Sharp JW, Shuman GB, Dasilva G, Epstein JI: Utilization of high molecular weight cytokeratin on prostate needle biopsies in an independent laboratory. Urology 54(6):981-986, 1995.
6. Shah RB, Zhou M, LeBlanc M, Snyder M, Rubin MA: Comparison of the basal cell-specific markers, 34βE12 ve p63, in the diagnosis of prostate cancer. Am J Surg Pathol 26(9):1161-1168, 2002.
7. Goldstein NS, Underhill J, Rozska J, Neill JS: Cytokeratin 34βE-12 immunoreactivity in benign prostatic acini: Quantitation, pattern assessment, and electron microscopic study. Am J Clin Pathol 112:69-74, 1999.
8. Cheville JC, Bostwick DG: Postatrophic hyperplasia of the prostate. A histologic mimic of prostatic adenocarcinoma. Am J Surg Pathol 19(9):1068-1076, 1995.