

PROSTATİK İNTRAEPİTELYAL NEOPLAZİ II: İmmünofenotipik Özellikler Prostatic intraepithelial neoplasia II: Immunophenotypic features

Aykut Onursever¹, Olgun Konaş², Mustafa Kösem³, Yüksel Okumuş⁴, H Ali Kahya⁵

Özet: Onbir hafif, 16 şiddetli prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) ile sekiz prostatik karsinomu (PK) vakasına immünohistokimyasal olarak prostat spesifik antijen (PSA) ve prostatik asit fosfataz (PAP) boyaları uygulandı. PIN bulunan vakalardaki nodüler hiperplazi (NH) sahaları kriter kabul edilerek PIN ve PK'larındaki boyanma şiddeti değişiklikleri değerlendirildi. Hafif PIN odaklarında PSA ve PAP immünohistokimyasal boyanma hafif ve orta derecede boyanma azalması olduğu görüldü. Şiddetli PIN'lerde ise hafif, orta ve ileri derecelerde boyanma azalması tesbit edildi. PK'larında orta ya da ileri derecede boyanma azalması bulundu. Aynı lezyon gruplarındaki boyanmalarda, PSA ve PAP arasında fark yoktu. Hafif ve şiddetli PIN'lerin PAP ile boyanmalarında fark görülmezken PSA immünoaktivitelerinde fark olduğu izlendi. Hafif PIN ile PK immünohistokimyasal boyanma arasında hem PSA hem de PAP'de fark bulundu. Şiddetli PIN'ler PK'larından daha şiddetli reaksiyon verdi. İleri derecede boyanma azalması gözlenen durumlarda dahi bezlerin lüminal yüzlerinde boyanma kalıntısı bulunduğu dikkati çekti. Boyanma kaybının supranükleer bölgeden başlayarak lüminal yüzeye ilerlediği gözlemlendi. PSA'nın belirgin stromal zemin boyanması yaptığı ancak PAP'da böyle bir zemin boyanması olmadığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Prostatik intraepitelyal neoplazi, Nodüler hiperplazi, Prostatik karsinomu, Prostatik asit fosfataz, Prostatik spesifik antijen

Prostat hastalıkları yaşlanma sonucu ortaya çıkar ve bir anlamda kaçınılmaz bir durum gibi görünmektedir. Bu, özellikle nodüler hiperplazi

Ereğli Devlet Hastanesi ZONGULDAK
Patoloji.Uzm.Dr.¹
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi KAYSERİ
Patoloji. Yrd.Doç.Dr.²
Giresun Devlet Hastanesi GİRESUN
Patoloji.Uzm. Dr.³
Bursa Devlet Hastanesi BURSA
Patoloji. Uzm. Dr.⁴
Amasya Devlet Hastanesi AMASYA
Patoloji. Uzm. Dr.⁵

Geliş tarihi: 30 Ocak 1996

Summary: An immunohistochemical study was carried out with anti-prostatic acid phosphatase (PAP) and anti-prostate specific antigen (PSA) antibodies on eleven mild, sixteen severe prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) and eight prostatic carcinoma (PC). One positive stained areas of nodular hyperplasia were accepted as normal and deviation in immunohistochemical reactions of PIN and PC were investigated. PAP and PSA immunoreactivities were decreased mild or moderate degree in the mild PIN cases. Deviation of the immunoreactivity was found mild, moderate or high in the severe PIN. There was moderate or severe decrease in the PSA and PAP immunoreactivity in PC's. PAP and PSA immunoreactivities were similar in every group. There was no difference in the PAP reactivities between the mild and severe PIN but in the PSA. PAP and PSA immunoreactivities showed difference between mild PIN and PC. Severe PIN cases were stained densely than were the PC cases. There was a residual luminal staining in the glands even that showed severe deviation. Deviation of staining was starting from the supranuclear area and advancing to luminal border. There was stromal background staining with PSA, although there was not with PAP.

Key Words: Prostatic intraepithelial neoplasia, Nodular hyperplasia, Prostatic carcinoma, Prostatic acid phosphatase, Prostate specific antigen

(NH)'ler için geçerli olup NH sıklığı dördüncü onyıldan itibaren giderek artmakta ve nihayet sekizinci onyılda popülasyonun %80'ine ulaşmaktadır (1). Prostat adenokarsinomları da sıklığı yaşlılarda artan lezyonlar olup yedinci onyılda yüzbinde 500 civarında görülür (2).

Prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) ise prostat karsinomu (PK)'nin öncüsü olarak suçlanan bir lezyondur, ancak nodüler hiperplazi (NH)'lerde de değişik oranlarda bildirilmiştir (3,4). PIN'in prostat içindeki yerleşimi ve histolojik özellikleri

PK'na benzer. Ayrıca immünofenotipik özellikler açısından NH ile PK'na ne kadar benzediği ya da benzemediği de ilgi çekicidir. Biz bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelenen bir dizi NH, hafif ve şiddetli PIN ve PK'ndaki immünofenotipik özellikleri karşılaştırmak istedik.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı konulan 11 hafif PIN, 16 şiddetli PIN ve 8 PK vakası üzerinde yapıldı. PIN'ler çeşitli çalışmalarda belirlenen kriterlere göre hafif ve şiddetli şeklinde iki gruba ayrıldı. İmmünohistolojik malzemenin sınırlı miktarda olması, reaksiyonun kontrolü için her hastanın kendisine ait nodüler hiperplazi sahalalarının kontrol olarak kullanılması ve bu sahalaların tekrarlayan kesitlerde bulunabilmesi için özellikle açık prostatektomi materyallerinin tercihi vaka sayısını kısıtladı. Parafin bloklardan hazırlanan 5 mikron kalınlıktaki kesitlere poliklonal anti-prostat spesifik antijen ve poliklonal anti-prostatik asit fosfataz antikolarıyla (Lipshaw-Immunon®) immünohistokimyasal boyama yapıldı. Kesitler arasında inkübasyon süresi farklılıklarını ortadan kaldırmak ve boyanmalarda eşit şartları sağlamak için damla yöntemi değil, kitle boyama sistemi uygulandı ve reaksiyonlar solüsyon kapları içinde manyetik karıştırıcı yardımıyla gerçekleştirildi. İmmünohistokimyasal olarak boyanmış preparatlar, ışık mikroskopuyla iki kez değerlendirildi. NH'lerdeki epitelyal boyanma temel alınarak boyanmaların normalden sapmaları araştırıldı. Her vakadaki tüm sahalalar incelenerek hakim olan özelliğe göre tablo 1'deki gibi bir skorlama yapıldı (Resim 1,2,3,4). Skorlama sonrası elde edilen değerlerin istatistiksel anlamını araştırmak için Khi-kare önemlilik testi kullanıldı.

BULGULAR

İmmünohistokimyasal boyama yapılan vakaların 11'i hafif 16'sı şiddetli PIN, sekizi de PK tanısı konulmuş vakalardı. PIN veya karsinom özellikleri taşımayan normal bezlerdeki epitel hücreleri hem prostat spesifik antijen (PSA) hem de prostatik asit fosfataz (PAP) antikolarıyla koyu

kırmızı ve granüler bir sitoplazmik boyanma gösterdiler. Normal sahalardaki boyanmalar üniformdu ve duktus ve asinüs yapıları birbirinden ayırdedilemiyordu. Değişici ve yassı epitel metaplazisi olan sahalarda boyanma yoktu.

Boyanma şiddetinin hafif ve orta derecede sapma gösterdiği alanlarda iki özellik dikkati çekti: İlk olarak sitoplazmik granüler boyanma, hücrenin bazal kısımlarından itibaren kaybolmaya başlıyor ve bunun sonucunda apikal kısım koyu kırmızı, bazal kısım ise soluk boyanma gösteriyordu. Ayrıca bazı sahalarda granüler boyanma yerini homojen bir boyanmaya terk ediyordu.

İleri derecede boyanma azlığı olan vakalarda bile bezleri döşeyen epitel hücrelerinin lüminal yüzünün ince bir çizgi şeklinde boyanmaya devam ettiği görüldü.

PSA ile boyanan kesitlerde yer yer stromada zemin boyanması oduğu izlendi.

Hafif PIN vakalarının PSA ile yapılan boyamalarında sekiz vakada hafif, üç vakada orta derecede; PAP ile yapılan boyamalarında ise sekiz vakada hafif, iki vakada orta derecede boyanma azalması izlendi. PAP ile boyanan bir vaka normal epitel ile aynı özelliklerde boyanmıştı.

Şiddetli PIN vakalarına yapılan boyamalarda PSA'da dört vakada hafif, dokuz vakada orta, üç vakada ileri derecede boyanma değişikliği; PAP'de altı vakada hafif, sekiz vakada orta ve bir vakada şiddetli boyanma değişikliği görüldü. Bir vakanın PAP boyanması normalden farksızdı (Tablo 2 ve 3).

PSA immünoreaktiviteyi incelendiğinde gruplar arasındaki boyanmanın anlamlı bir şekilde farklı olduğu görüldü ($p < 0.05$). Hafif PIN'lerdeki PSA boyanması da diğer gruplara göre belirgin bir şekilde normale yakın bulundu ($p < 0.05$). Şiddetli PIN ile PK'nun PSA reaksiyonları arasında ise anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$).

PAP immünoreaktivitesi değerlendirildiğinde gruplar arasındaki farkların anlamlı olmadığı görüldü ($p > 0.05$).

Hafif ve şiddetli PIN'ler ile PK'larının PSA ve

Tablo 1. İmmünohistokimyasal boyanma skorlaması

Sapma derecesi	Boyanma Şiddeti
Yok	Koyu kırmızı boyanma
Hafif	Açık kırmızı boyanma
Orta	Soluk pembe boyanma
İleri	Boyanma yok

Tablo 2. Hafif ve şiddetli PIN'ler ile PK'larında PSA immünohistokimyası sonuçları

Lezyon	Normal boyanma	Hafif değişiklik	Orta derecede değişiklik	İleri derecede değişiklik	Toplam
Hafif PIN	-	8	3	-	11
Şiddetli PIN	-	4	9	3	16
PK	-	-	5	3	8
Toplam	-	12	17	6	35

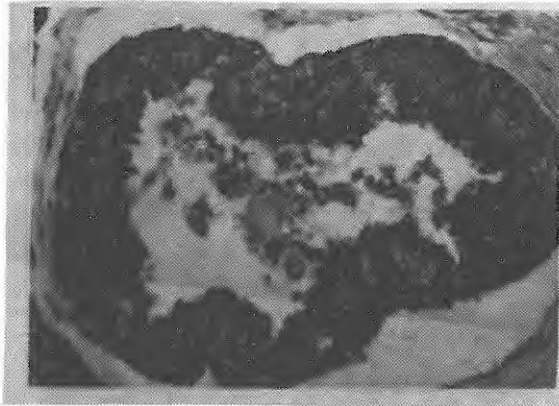
$X^2=13.271$, S.D.=4, $p<0.05$

Şiddetli PIN ve PK arasında $X^2=2.784$, S.D.=2, $p>0.05$

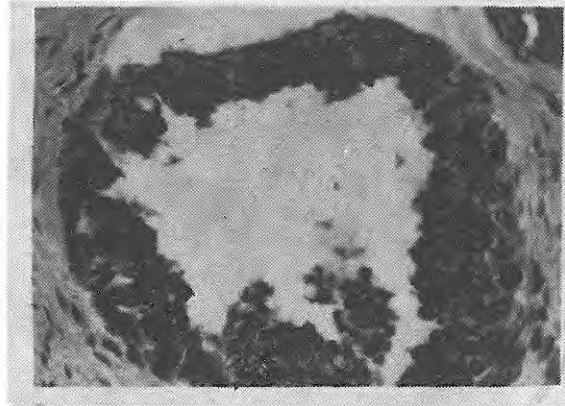
Tablo 3. Hafif ve şiddetli PIN'ler ile PK'larında PAP immünohistokimyası sonuçları

Lezyon	Normal boyanma	Hafif değişiklik	Orta derecede değişiklik	İleri derecede değişiklik	Toplam
Hafif PIN	1	8	2	-	11
Şiddetli PIN	1	6	8	1	16
PK	-	-	7	1	8
Toplam	2	14	17	2	35

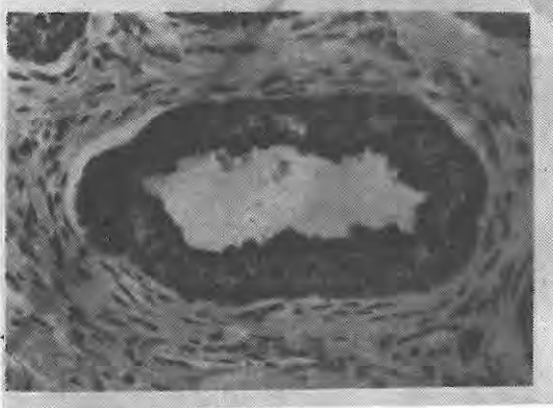
$X^2=12.541$, S.D.=6, $p>0.05$



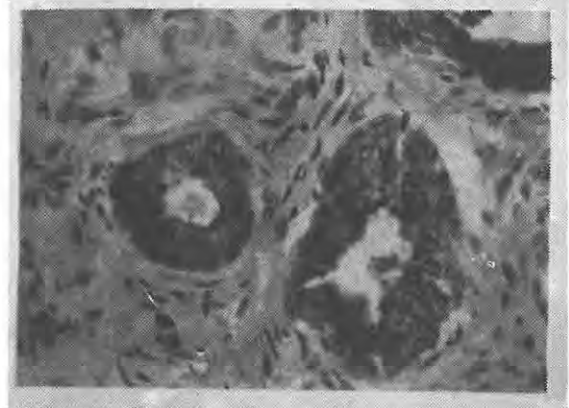
Resim 1. PSA immünoaktivitesinin normal olduğu bir prostat bezinin görünümü (PSA immünohistokimyası, x400).



Resim 2. İmmünoaktivitede hafif değişiklik gösteren prostat bez epitelinde boyanmanın bazaldan başlayarak azaldığı izlenmektedir (PSA immünohistokimyası, x400).



Resim 3. Orta derecede immünoaktivite değişikliği. Boyanmanın lüminal yüzde bulunduğu görülmektedir (PSA immünohistokimyası, x400).



Resim 4. İmmünoaktivitede şiddetli azalma. Lüminal yüzde ve seyrek epitel hücrelerinde boyanma kalmıştır (PSA immünohistokimyası, x400).

PAP immünohistokimyası ise birbirine benzer bulundu ($p>0.05$).

TARTIŞMA

PIN prostatın sık görülen ve iyi bilinen lezyonları olan NH ve PK arasında yer aldığı düşünülen bir lezyondur. Özellikle şiddetli PIN morfolojik özellikler açısından PK'na benzerlik göstermekte hatta bazı uzmanlar tarafından karsinoma in situ olarak kabul edilmektedir.

Prostat bezlerini döşeyen epitel hücreleri için bilinen iki immünohistokimyasal işaretleyici PAP ve PSA'dır. Bunlardan PAP ilk kez idrarda ve seminal sıvıda tanımlanmış, daha sonra hem histokimyasal hem de immünohistokimyasal olarak doku kesitlerinde gösterilmiş bir işaretleyicidir (5). Prostat malignitelerinin tanısı ve tedavi sonrası takibinde başarıyla kullanılmaktadır. PSA ise daha yeni bir antijen olup önce seminal sıvı sonra da prostat dokusunda gösterilmiş bir glikoprotein olup, PAP gibi tanı ve tedavi takibi amacıyla kullanılabilir (6). PAP'a göre daha hassas olduğu belirtilmektedir (7). Ancak her iki antijenin de normal, preneoplastik veya neoplastik dokulara özel bir afinitesi olmadığı bilinmektedir (1). Bununla birlikte genel tümör diferansiyasyon bilgilerine uygun olarak diferansiyasyonun azaldığı

durumlarda antijen yoğunluğunun azalması beklenebilir.

Bu çalışmada değişik prostat lezyonlarındaki PAP ve PSA immünoaktiviteleri karşılaştırıldı. Boyanmalar değerlendirilirken kontrol olarak lezyonsuz bezlerdeki immünoaktivite kriter alındı. Bu bez epitel hücreleri her iki antikorla da koyu kırmızı ve granüler bir immünoaktivite gösterirken lezyonlu bezlerde değişen oranlarda normalden sapma olduğu izlendi.

Hafif PIN bulunan odaklarda hem PAP hem de PSA immünoaktivitesinde hafif ila orta derecede boyanma azalması bulundu. Şiddetli PIN'lerde ise hafif ve orta derecedeki sapmaların yanı sıra boyanmanın ileri derecede azaldığı vakalar da görüldü. Bu bulgular sitoplazmik diferansiyonda kayıp olduğu şeklinde değerlendirildi. PIN'in şiddeti arttıkça hücrel ve yapısal farklılıkların yanı sıra antijenik seviyede de değişiklik olduğu düşünüldü. PK'larında da bu görüşümüzü destekler bir şekilde orta veya ileri derecelerde boyanma azalması gözlemlendi. Literatürde benzer sonuçların kaydedildiği görüldü (8).

Lezyonlardaki boyanma şiddeti değişiklikleri açısından PAP ile PSA da birbiriyle karşılaştırıldı. Hafif ve şiddetli PIN'ler ve PK'larının PAP ve PSA immünoaktiviteleri

arasında sayısal ve istatistiksel bir fark görülmedi. Bu lezyonların değerlendirilmesinde PAP ve PSA'nın birbirlerine üstünlüğü olmadığı düşünüldü.

PIN şiddetine paralel olarak artması beklenen antijenik farklılığın gösterilmesi açısından PAP ve PSA karşılaştırıldığında lezyon şiddetlendikçe oluşan PSA immünoaktivitesi azalmasının istatistiksel anlamı olmasına karşılık PAP immünohistokimyasının istatistiksel olarak anlamlı farkı olmadığı görüldü. Bu bulgular sitoplazmik diferansiyasyon kaybını ortaya koyma açısından PSA'nın daha duyarlı olduğu şeklinde yorumlandı.

Histolojik olarak şiddetli PIN'i karsinoma in situya eşdeğer sayan görüşe (9) uygun şekilde şiddetli PIN ve PK immünoaktiviteleri arasında anlamlı bir fark görülmedi.

PK'larında boyanma şiddetindeki kaybın yanında sitoplazmik granüler boyanmanın yerini homojen bir boyanmanın aldığı görüldü.

Bu bulgular özellikle şiddetli PIN ile PK arasında biyolojik bir ilişki ve devamlılık olduğunu düşündürür niteliktedir.

Ancak bazı vakalarda şiddetli PIN'lerin PK'larından daha fazla antijenik değişiklik gösterdiğinin bulunması sadece PSA veya PAP immünoaktivitesine bakılarak lezyonların malignitesi hakkında fikir vermenin hatalı olacağını düşündürdü. Malign değişiklik tek parametrelili bir olay olmadığından bir lezyon

hakkında karar verirken diğer özelliklerin, konumuzla ilgili olarak da özellikle bez bazal membranları ile bazal hücre tabakasının durumunun değerlendirilmesinin yararlı olduğu söylenebilir (5).

PSA ve PAP antikorları prostat bez epiteliyi tanıdıklarından en kötü diferansiye sahalarda bile en azından lüminal yüzde boyanma gösterdiler. Bir anlamda lezyon içinde diferansiyasyon değerlendirme problemi doğuran bu durum diğer taraftan metastatik lezyonların kaynağını araştırmada güvenilir bir destek sağlayabilir bir özellik olarak unutulmamalıdır.

Bazı vakalarda PIN şiddeti ile uyumsuz derecede immünoaktivite değişikliklerinin görülmesi nükleer anormalliklerle antijenik değişimin birbirine paralel olmadığı şeklinde yorumlanabileceği gibi her türlü titizliğe rağmen PIN derecelendirmesinin subjektif olabileceği unutulmamalıdır.

PIN'in şiddeti arttıkça sekreteruar diferansiyasyon göstergelerinde şiddetlenen ve giderek PK'na benzer hal alan bir azalma gözlenir. Bu durum hücresele diferansiyasyon ve regülasyon kontrolünün kaybına işaret eder.

Sonuç olarak prostat karsinomlu hastaların tanısı ve takibinde kullanılan PAP ve PSA'nın karsinomlar yanında PIN'lerde de normalden farklı konsantrasyonlarda bulunduğu görülmektedir. Bu immünohistolojik işaretleyiciler tek parametre olarak alınmamak kaydıyla PIN tanısında da kullanılabilirler.

KAYNAKLAR

1. Rosai J. *Ackerman's Surgical Pathology* (7th ed). CV Mosby, St Louis 1989, pp 923-943.
2. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Robbins' Pathologic Basis of Disease* (5th ed). Saunders, Philadelphia 1994, pp 1023-1031.
3. McNeal JE, Bostwick DG. *Intraductal dysplasia: A premalignant lesion of the prostate*. *Hum Pathol* 1986; 17:64-71.
4. Sakr WA, Haas GP, Cassin BF, et al. *The frequency of carcinoma and intraepithelial neoplasia of the prostate in young male patients*. *J Urol* 1993; 150:379-385.
5. Bostwick DG, Brawer MK. *Prostatic intraepithelial neoplasia and early invasion in prostate cancer*. *Cancer* 1987; 59: 788-794.
6. Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, et al.

- Purification of a human prostatespecific antigen. Invest Urol 1979; 17: 159-163.*
7. *Ercole J, Lange PH, Mathisen M, et al. Prostate Specific Antigen and Prostatic Acid Phosphatase in the Monitoring and Staging of Patients with Prostatic Cancer. J Urol 1987; 138: 1181-1184.*
 8. *McNeal JE, Alroy J, Leav I, et al. Immunohistochemical Evidence for Impaired Cell Differentiation in the Premalignant phase of prostate carcinogenesis. Am J Clin Pathol 1988; 90: 23-32.*
 9. *Bostwick DG. Prostatic intraepithelial neoplasia. Urology 1989; 34: 16-22.*