

## Polip yaygınlığının Ki-67 ve bilgisayarlı tomografi skorlarına göre karşılaştırılması

The comparison of the expansion of polyps according to the Ki-67 and computed tomography scores

Dr. Sedat Aydın,<sup>1</sup> Dr. Arif Şanlı,<sup>1</sup> Dr. İlter Tezer,<sup>1</sup> Dr. Ümit Hardal,<sup>1</sup> Dr. Nagehan Özdemir Barışık<sup>2</sup>

Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, <sup>1</sup>Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Kliniği, <sup>2</sup>Patoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

**Amaç:** Nazal poliplerde, hastalığın yaygınlığı mitotik aktivite oranları ve bilgisayarlı tomografi skorları kullanılarak karşılaştırıldı.

**Hastalar ve Yöntemler:** Çalışmaya 19 nazal polipozis hastası (8 erkek, 11 kadın; ort. yaş 40.0±13.7 yıl; dağılım 20-63 yıl) dahil edildi. Hastaların ameliyat öncesi bilgisayarlı tomografi kayıtları Lund-Mackay evreleme sistemine göre değerlendirildi. Aynı hastaların polip dokuları immünohistokimyasal değerlendirme amacıyla Ki-67 antijeni ile boyandı. Radyolojik sonuçlarla Ki-67 boyanma yüzdeleri arasındaki ilişki Spearman korelasyon testi ile karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Hastaların bilgisayarlı tomografi skor ortalaması 14.3±4.7 (dağılım 7-24) olarak gözlemlendi. İmmünohistokimyasal boyama sonucunda elde edilen Ki-67 skor ortalaması 24.3±18.5 (dağılım %3.3-73.5) olarak hesaplandı. Ki-67 değerleri ile bilgisayarlı tomografi skorları arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ilişki saptandı (Spearman korelasyon katsayısı: 0.677; p<0.001).

**Sonuç:** Nazal poliplerdeki mitotik aktivite oranı arttıkça, hem polip hacminde hem de artan polip hacminin sinüs ostiumlarını tıkamasına bağlı olarak bilgisayarlı tomografi skorlarında artış olmaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Bilgisayarlı tomografi; immünohistokimyasal inceleme; Ki-67; nazal polip.

**Objectives:** The disease extension in nasal polyps was compared by using the mitotic activity rates and the computed tomography scores.

**Patients and Methods:** This study was conducted on 19 nasal polyposis patients (8 males, 11 females; mean age 40.0±13.7 years; range 20 to 63 years). The preoperative computed tomography records of the patients were evaluated according to the Lund-Mackay grading system. The polyp tissues of the same patients were stained with the Ki-67 antigen for immunohistochemical evaluation. The correlation between the radiologic results and the Ki-67 values was compared by means of the Spearman's correlation test.

**Results:** The mean computed tomography score was observed as 14.3±4.7 (range 7-24). The mean Ki-67 score resulting from the immunohistochemical staining was calculated as 24.3±18.5 (range %3.3-73.5). A significant correlation was determined between the Ki-67 values and the computed tomography scores. ("Spearman's" correlation factor: 0.677; p<0.001).

**Conclusion:** As the mitotic activity rate of nasal polyps increases, both the volume of the polyps and the computed tomography scores increase as a result of the blockage of the sinus ostiums by the increased polyp volume.

**Key Words:** Computed tomography; immunohistochemical assay; Ki-67; Nasal polyp.

Nazal polipler, oluşumunda birçok değişik faktörün rol aldığı ancak etyolojisi tam olarak bilinmeyen üst solunum yollarının kronik enflamatuvar bir durumudur. Poliplerin genel prevalans oranı %1-4 arasında değişmektedir. Hastalarda ilerleyen yaş ile kronik enflamatuvar hastalığın süresi uzadıkça nazal poliplerin ortaya çıkma oranı da artmaktadır. Genel inanişaya karşın poliplerin gelişiminde alerji önemli bir faktör olarak gözükmemektedir. Çoğunlukla osteomeatal bölgede unsinat cisim lateral duvarı ve serbest kenarından, bulla ön, alt ve medial duvarı, orta konka lateral duvarı ve orta konka başı ve hiatus semilunaris superior bölgesinden köken alırlar. Nazal polipler ödemli bir mukozadan atipik hücrelerin bulunduğu formlara kadar çok çeşitli histolojik görünümde olabilir. Hava akımına sürekli maruz kalınması ve epitel direncinin de az olması sonucu, epitel de transformasyon ve metaplazi olabilir.<sup>[1-3]</sup>

Ki-67 proteini, orijinal olarak ilk defa Gerdes ve ark.<sup>[4]</sup> tarafından, kobayların Hodgkin lenfoma hücreleri ile immünize edilmeleri sonucu 1983 yılında tanımlanmıştır. Bu yapı çoğalan bütün hücrelerde izlenmiş ve hücre nüfusunun büyüyen bölümü araştırmada kullanılan en önemli belirteç olmuştur. Epitelyal hücre proliferasyonu flowsitometrik ya da immünohistokimyasal olarak bakılabilir. Ki-67 çoğalan hücrelerde görülen bir çekirdek proteindir. Esas olarak G<sub>1</sub>, S, M ve G<sub>2</sub> fazında görülür. G<sub>0</sub> fazında yoktur. Hücre proliferasyonunun morfolojik özelliklerini iyi bir şekilde gösteren protein olup, mitotik indeks ve tümör evrelemesinde sıklıkla kullanılır.<sup>[5]</sup>

Sinüs anatomisinin değerlendirilmesi, anatomik anormalliklerin saptanması ve cerrahiye yol gösterici olması açısından paranazal sinüslerin bilgisayarlı tomografi (BT) değerlendirilmesi en değerli yöntemdir. Bu yöntem ile infundibulumdaki küçük polipler bile görülebilir.<sup>[6]</sup> Bilgisayarlı tomografi incelemesinden elde edilen basit nümerik skorlamaya dayanan Lund-Mackay evreleme sistemi cerrahi girişimlerden önce enflamatuvar hastalığın yaygınlığını göstermek için kullanılmaktadır.<sup>[7]</sup>

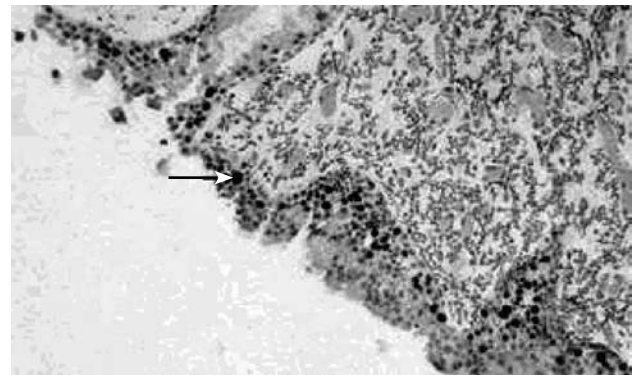
Bu çalışmanın amacı poliplerdeki mitotik aktivite oranlarının ve Lund-Mackay skorunun hesaplanarak hastalığın yaygınlığının immünohistokimyasal ve radyolojik olarak karşılaştırılmasının yapılmasıdır.

## HASTALAR VE YÖNTEMLER

Çalışmaya Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Kulak Burun Boğaz

kliniğinde nazal polipozis tanısıyla yatan 19 hasta (8 erkek, 11 kadın; ort. yaş 40.0±13.7 yıl; dağılım 20-63 yıl) dahil edildi. Hastalara çalışma hakkında bilgi verilip, gerekli izinleri alındıktan sonra hastaların ameliyat öncesi BT kayıtları değerlendirildi. Aynı hastalardan ameliyatla sağlanan polip dokuları, formol solüsyonunda fikse edilerek değerlendirilmesi amacıyla patoloji bölümüne gönderildi. Nazal polipozisli hastaların ameliyat öncesi BT incelemeleri değerlendirilirken Lund-Mackay evreleme sistemi kullanıldı. Bu skorlama sisteminde frontal, ön etmoid, arka etmoid, maksiller ve sfenoid sinüsleri için opafikasyon derecesine göre 0 ile 2 arasında bir değer (0: normal, 1: parsiyel opafikasyon, 2: total opafikasyon) verildi. Ayrıca osteomeatal kompleks (OMK) bölgesi de skorlamaya dahil edilir. Obstrüksiyonun olup olmasına göre OMK, 0 ya da 2 olarak bir değer (0: obstrüksiyon yok, 2: obstrüksiyon var) alır. Böylece her hastanın sağ taraf ve sol taraf için toplam 0 ile 24 arasında değişen skorları tespit edilip kaydedildi.<sup>[7]</sup> Diğer taraftan daha önce formolde tespit edilerek patoloji bölümüne gönderilen preparatlar Ki-67 ile immünohistokimyasal değerlendirme yapılması için boyandı. Ki-67 boyanma paterni değerlendirilirken Bujia ve ark.<sup>[8]</sup> yöntemi esas alındı. Değerlendirmeye alınan lamlar üzerinde 400 büyük büyütme alanında 150 ile 500 hücre sayıldı. Ki-67 nükleer boyanma gösteren hücrelerin sayısının, toplam hücre sayısına oranı yüzde olarak hesaplandı. Polip dokusundaki Ki-67 ile boyanan hücreler Şekil 1'de görülmektedir.

İstatistiksel analizler için SPSS Windows 11.5 versiyon (SPSS Inc., Chicago, Illionis, USA) istatistik programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel yöntemler (ortalama ± standart sapma) kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin karşılaştırılmasında için



Şekil 1. Polip epitelinde Ki-67 immünreaktivitesi gösteren hücreler (ok ile işaretli; Ki-67x10).

ise Spearman korelasyon testi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

## BULGULAR

Bilgisayarlı tomografi değerlendirilmesi sonucunda, BT skorlarının en küçüğü 7 ve en büyüğü 24 arasında olup ortalaması  $14.3 \pm 4.7$  olarak; hastaların immünohistokimyasal boyama sonucu yapılan Ki-67 skorları ise %3.3 ile %73.5 arasında olup ortalaması  $24.3 \pm 18.5$  olarak hesaplandı. Ki-67 skorları ile BT skorları arasındaki ilişkiyi incelemek için yapılan istatistiksel verilere baktığımızda pozitif yönde ileri düzeyde anlamlı ilişki saptandı (Spearman korelasyon katsayısı: 0.677;  $p < 0.001$ ), (Şekil 2).

## TARTIŞMA

İmmünohistokimyasal olarak hücre proliferasyonunu göstermek için çeşitli monoklonal antikolar kullanılmaktadır. Proliferatif hücre siklusunun G1-, S-, G2- ve M- gibi bütün fazlarında bir intranükleer antijen olan Ki-67 proteininin bulunduğu gösterilebilir. Ancak dinlenme fazı olan G0- fazında bu protein saptanmaz. İnterfaz sırasında çekirdek içinde bu protein saptanırken mitoz safhasında proteinin büyük bir kısmı kromozomların yüzeyinde bulunur.<sup>[5]</sup> Gerek kulak burun boğaz gerekse diğer branşlarda proliferasyon belirteci olarak Ki-67 proteini, hücre proliferasyonunun morfolojik özelliklerini iyi şekilde gösterdiğinden, mitotik indeks ve tümör evrelemesinde sıklıkla kullanılmaktadır.<sup>[9-16]</sup> Özellikle nazal epitel hücrelerindeki proliferasyonun tüm safhalarını göstermek için anti Ki-67 antikorunun diğer antikorlara kıyasla daha uygun olduğu belirtilmektedir.<sup>[4]</sup>

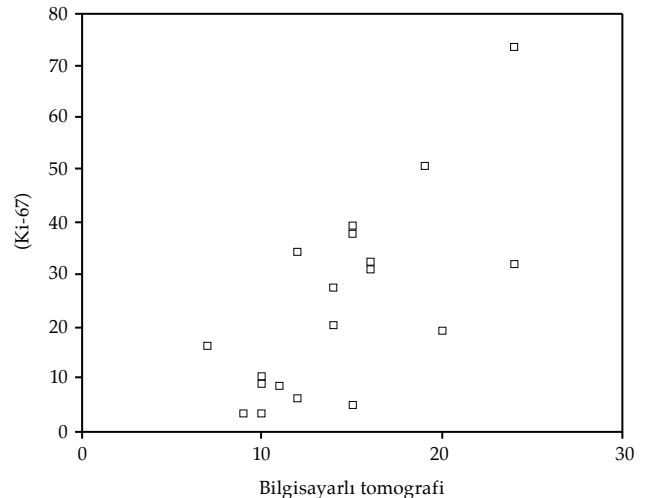
Nazal polip oluşumunda "epitel rüptür teorisi" hala önemli bir yer tutmaktadır. Burada çeşitli nedenlerle meydana gelen epitel hasarı ve kısa süre içinde buraya toplanan enflamatuvar hücreler ve ödem sonucu lamina propria'nın prolabe olması ve sonuçta prolabe olan dokunun re-epitelizasyonu ve matür polip formasyonunun gelişimi söz konusudur.<sup>[17]</sup> Bu gelişim aşamasında lamina propria'da toplanan enflamatuvar hücrelerden epidermal büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü gibi faktörlerin de salgılandığı, böylece hücre proliferasyonunu artırıcı bir etki olduğu gösterilmiştir.<sup>[18,19]</sup> Böylece nazal polip gelişiminde lokal enflamasyon sonucu gelişen epitel hiperproliferasyonu rol oynamaktadır.<sup>[10,20,21]</sup>

Yapılan çalışmalarda poliplerdeki epitelyal proliferasyon kapasitesinin alt konka mukozasına

göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bununla ilgili olarak; Coste ve ark.<sup>[21]</sup> kronik sinüzitli hastaların nazal poliplerinde inferior konkalarından alınan doku örneklerine kıyasla daha fazla epitel proliferasyonu olduğunu göstermişlerdir. Tryka ve ark.nın<sup>[22]</sup> yaptığı diğer çalışmada nazal mukozaya kıyasla poliplerdeki Ki-67 indeksinin istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Benzer bulgular diğer yayınlarda da gösterilmiştir.<sup>[12,23]</sup> Diğer taraftan Kawabori ve ark.<sup>[24]</sup> alerjik rinitli hastalarla alerjik rinitli olmayan hastaların inferior konkalarından alınan doku örneklerinde epitel proliferasyonu açısından fark olmadığını belirtmişlerdir. Tüm bu bulgular polip dokusundaki epitel proliferasyonunun diğer nazal bölgelere kıyasla daha fazla olduğunu göstermektedir.

Bilgisayarlı tomografi ile hem infundibulumda bulunan küçük polipleri hem de yaygın nazal polipozis olgularında sinüslerin içindeki değişiklikleri fark edebiliriz. Kronik enflamasyon ve polip basıncı etkisiyle ince etmoid hücreler arası kemik septalardaki destrüksiyon yine BT'de kolaylıkla görülebilir. Lund ve Mackay'ın<sup>[7]</sup> önerdiği BT evreleme sistemi nazal polipozisli hastaların ameliyat öncesi olarak patolojinin yaygınlığının değerlendirilmesinde önemli yer tutmaktadır. Ayrıca nazal polipozisli hastaların ameliyat sırası bulguları ile BT bulguları arasında da yüksek ilişki saptanmıştır.<sup>[25]</sup>

Bu çalışmayı planlarken poliplerdeki bu hücre proliferasyonunu Ki-67 antijeni ile göstermek, dolayısıyla nazal polip yaygınlığı ile BT'deki skorlama arasındaki ilişkiyi sorgulamaktı. Daha önce



Şekil 2. Ki-67 değerleri ile bilgisayarlı tomografi skorları arasındaki korelasyon grafiği. (Spearman korelasyon katsayısı: 0.677;  $p < 0.001$ ).

Hsu ve ark.<sup>[10]</sup> yaptıkları çalışmada sinonazal mukozaya da Ki-67 proteininin bulunmasını araştırmışlar ve çalışmalarında diğer gruplara kıyasla polip dokusunda %82 gibi yüksek bir oranda Ki-67 proteininin pozitif boyanma gösterdiğini tespit etmişlerdir ( $p<0.05$ ). Boyanan bu hücreler metaplazik mukozanın her tabakasında bulunurken, metaplazik olmayan mukozanın yalnızca bazal tabakasında sınırlı kalmıştır. Özdek ve ark.<sup>[12]</sup> yaptıkları çalışmada nazal polip ile antrokoanal polipteki epitel proliferasyonu kıyaslanmış burada da polipteki proliferasyonun istatistiksel olarak daha fazla oranda olduğu tespit edilmiştir ( $p=0,003$ ). Ayrıca bu konuda Tezer ve ark.<sup>[11]</sup> yaptıkları çalışmada nazal polipozisli hastalardaki fizik muayene bulguları ile Ki-67 skorları arasında ilişki araştırılmış burada istatistiksel olmamakla birlikte evre arttıkça Ki-67 değerlerinin de artış gösterdiği saptanmıştır ( $p>0.05$ ). Biz de çalışmamızda poliplerdeki epitel proliferasyonunu göstermek için Ki-67 proteinini kullandığımızda, epiteldeki boyanmanın yüksek oranda olduğunu ve BT bulguları ile nazal epitel hiperproliferasyonunun indirekt belirteci olarak kullanılan Ki-67 proteini ile arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki olduğunu saptadık.

Sonuç olarak, nazal poliplerdeki mitotik aktivite oranı arttıkça, poliplerde hem sayısal hem de hacimsel olarak proliferasyon gelişecektir. Gelişen bu patolojik durum sinüs ostiumlarının da tıkanmasıyla, var olan patolojinin daha da belirginleşmesine yol açacaktır. Ameliyat öncesinde hastalığın yaygınlığını belirlemede kullandığımız BT bulguları ile karşılaştırdığımızda; Ki-67 değerleri yüksek düzeyde olanlarda, BT skorlarının da doğru orantılı bir şekilde yüksek olması, bu durumu açıklar nitelikteydi. Yineleme ve komplikasyon yapmış nazal polipozis olgularında Ki-67 değerleri hakkında daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

### Teşekkür

Sayın Müzeyyen Özhavzalı'ya yayının istatistiksel çalışmalarındaki yardımlarından dolayı teşekkür ederiz.

### KAYNAKLAR

1. Meço C. Nazal Poliplerin epidemiyolojisi. In: İleri F, editör. Nazal polipler. İstanbul: Deomed Medikal Yayıncılık; 2007. s. 1-10.
2. Uzun KH. Nazal poliplerin anatomik orijini. In: İleri F, editör. Nazal polipler. İstanbul: Deomed Medikal Yayıncılık; 2007. s. 11-6.
3. Uzun KH, Köybaşıoğlu F. Nazal poliplerin histopatolojisi. In: İleri F, editör. Nazal polipler. İstanbul: Deomed Medikal Yayıncılık; 2007. s. 17-24.
4. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983;31:13-20.
5. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000;182:311-22.
6. Yalçın S, Keleş E. Nazal polipoziste tanı ve ayırıcı tanı. In: İleri F, editör. Nazal polipler. İstanbul: Deomed Medikal Yayıncılık; 2007. s. 41-56.
7. Lund VJ, Mackay IS. Staging in rhinosinusitis. *Rhinology* 1993;31:183-4.
8. Bujia J, Holly A, Sudhoff H, Antoli-Candela F, Tapia MG, Kastenbauer E. Identification of proliferating keratinocytes in middle ear cholesteatoma using the monoclonal antibody Ki-67. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1996;58:23-6.
9. Huisman MA, De Heer E, Grote JJ. Cholesteatoma epithelium is characterized by increased expression of Ki-67, p53 and p21, with minimal apoptosis. *Acta Otolaryngol* 2003;123:377-82.
10. Hsu MC, Shun CT, Liu CM. Increased epithelial cell proliferation in nasal polyps. *J Formos Med Assoc* 2002;101:227-9.
11. Tezer İ, Şanlı A, Sarısoy B, Şen D, Barışık NÖ. Nazal poliplerdeki epitelyal hücre proliferasyonu ile fizik muayene bulgularının karşılaştırılması. *KBB-Forum* 2006;5:118-20.
12. Özdek A, Meral İ, Bayız Ü, Çaydere M, Kılıç R, Samim E. Nazal polip ve antrokoanal polip dokularında epitel hücre proliferasyonu ve apoptozis inhibisyonu: İmmünohistokimyasal çalışma. *PTT Hastanesi Tıp Dergisi* 2002;24:143-7.
13. Demirbağ RN, Batur Ş, Tarlacı A, Bilgili AM, Ersözlü T. Larinks skuamöz hücreli karsinomlarında Ki-67 ekspresyonu ve klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi. *Haseki Tıp Bülteni* 2005;43:58-63.
14. Liu M, Lawson G, Delos M, Jamart J, Ide C, Coche E, et al. Predictive value of the fraction of cancer cells immunolabeled for proliferating cell nuclear antigen or Ki67 in biopsies of head and neck carcinomas to identify lymph node metastasis: comparison with clinical and radiologic examinations. *Head Neck* 2003;25:280-8.
15. Bui MH, Visapaa H, Seligson D, Kim H, Han KR, Huang Y, et al. Prognostic value of carbonic anhydrase IX and KI67 as predictors of survival for renal clear cell carcinoma. *J Urol* 2004;171:2461-6.
16. Sanli A, Tezer I, Paksoy M, Aydin S, Hardal U, Ozdemir NB. Evaluation of Ki-67 expression in recurrent cases of cholesteatoma. [Article in Turkish] *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 2007;17:65-9.
17. Larsen PL, Tos M, Kuijpers W, van der Beek JM. The early stages of polyp formation. *Laryngoscope* 1992;102:670-7.
18. Petruson B, Hansson HA, Petruson K. Insulin-like growth factor I is a possible pathogenic mechanism in nasal polyps. *Acta Otolaryngol* 1988;106:156-60.
19. Elovic A, Wong DT, Weller PF, Matossian K, Galli SJ. Expression of transforming growth factors-alpha and beta 1 messenger RNA and product by eosinophils in

- nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:864-9.
20. Hassid S, Degaute MP, Dawance S, Rombaut K, Nagy N, Choufani G, et al. Determination of proliferative activity in nasal polyps. *J Clin Pathol* 1997;50:923-8.
  21. Coste A, Rateau JG, Bernaudin JF, Peynègre R, Escudier E. Nasal polyposis pathogenesis: a flow cytometric and immunohistochemical study of epithelial cell proliferation. *Acta Otolaryngol* 1996;116:755-61.
  22. Tryka E, Skomra D, Klatka J, Gieroba R, Olszanski W. Epithelial cell proliferation in nasal polyps. *Otolaryngol Pol.* 2005;59:523-6. [Abstract]
  23. Pawliczak R, Lewandowska-Polak A, Kowalski ML. Pathogenesis of nasal polyps: an update. *Curr Allergy Asthma Rep* 2005;5:463-71.
  24. Kawabori S, Kanai N, Tosho T. Proliferative activity of mast cells in allergic nasal mucosa. *Clin Exp Allergy* 1995;25:173-8.
  25. Reiss M, Neumann U, Reiss G. Importance of computer tomography in preoperative diagnostics of polyposis nasi. *Wien Klin Wochenschr* 2000;112:851-4. [Abstract]