

## **MALİGN FİBROZ HISTİOSİTOMLARDA ALFA-1-ANTİTRİPSİN POZİTİFLİĞİNİN DİĞER YUMUŞAK DOKU TÜMÖRLERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

Vehbi ŞEKER\*, Kemal KUTLU\*\*

### **ÖZET**

16'sı malign fibröz histiositom (MFH) olmak üzere toplam 50 yumuşak doku tümöründe avidin-biotin-peroksidaz-kompleks immünohistokimyasal metotla alfa-antitripsin (AAT) çalıştık. Ayrıca buna ilave olarak MFH vakalarında, vimentin, keratin, desmin ve S-100 protein çalıştık. 16 MFH vakasının 11'inde ve diğer 34 sarkomdan sadece 3'ünde AAT varlığı saptadık. MFH vakalarında kullanılan diğer antikorlardan vimentin hariç hiçbirleriyle boyanma saptamadık. Sonuçlar AAT'nin diğer antikorlarla birlikte kullanılmasının MFH ve diğer pleomorfik tipteki sarkomlar arasında ayrıca tanıda yardımcı olabileceğini ve bu tümörlerde AAT varlığının gösterilmesinin MFH tanısını güçlendirdiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Malign fibröz histiositom, Alfa-1-antitripsin, immünohistokimya.

### **SUMMARY**

#### **COMPARISON OF ALPHA-1-ANTITRYPSIN (AAT) POSITIVENESS IN MALIGN FIBROUS HISTIOCYTOMA AND OTHER TYPE SOFT TISSUE TUMOURS**

Sixteen malignant fibrous histiocytoomas (MFH) and 34 other type soft tissue sarcomas were tested for the presence alpha-1-antitrypsin (AAT) by avidin-biotin-peroxidase complex immunohistochemical metot. Besides AAT in MFH, vimentin, keratin, desmin and S-100 protein were tested. The AAT immunoreactivity for other antibodies except vimentin was not found in MFH. The results show that when AAT is used with the other type of antibodies, it has great value in differantial diagnosis between pleomorphic type sarcomas and MFH.

Key Words: Malignant fibrous histiocytooma, Alpha-1-antitrypsin, immunohistochemical

### **GİRİŞ**

Malign fibröz histiositom (MFH) yetişkinlerde en sık görülen yumuşak doku sarkomudur (1, 2, 3, 4). Daha önceden pleomorfik rabdomyosarkon olarak kabul edilen vakaların bir çoğunun da MFH olduğuna

\* Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı (Uzm. Dr.)

\*\* Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı (Prof. Dr.)

inanılmaktadır (2, 5, 6). MFH, fibroblast, histiosit ve dev hücrelerden oluşur (1, 2, 7, 8). MFH'in histogenezi hala tam açıklık kazanmamıştır. Bazı yazarlar iki tip hücrenin de primitif mezenkimal hücrelerden kaynaklandığını ileri sürerken (5, 9, 10, 11) diğerleri tüm hücrelerin neoplastik histiositlerden kaynaklandığını ileri sürmektedirler (6, 12). Histiositik orijin tümör hücrelerinin sitoplazmalarında alfa-1-antitripsin (AAT), alfa-1-antikimotripsin ve lizozimin gösterilmesi ile desteklenmiştir (3, 6, 8, 13). Iwasaki ve ark. yaptıkları hücre kültürü çalışmalarında bu tümörlerin plazma membranlarında kompleman ve Ig G molekülünün Fc komponenti için reseptör varlığını göstererek bu tümör hücrelerinin monosit-makrofaj orijinli olduğunu ileri sürmüşlerdir (4). Mononükleer fagositik sistemde bulunan antijenlerle reaksiyona giren monoklonal antikörlerin MFH'da tümör hücrelerinde bulunmadığı saptanmıştır (9). Elektron mikroskopik çalışmalar ise MFH'in primitif mezenkimal hücrelerden türediğini göstermiştir (3, 6).

AAT karaciğer hücreleri tarafından üretilen bir glikoproteindir. Monosit ve lenfositlerde de AAT sentezi gösterilmiştir (11). AAT, MFH gibi tümörlerin histiositik orijinini kanıtlamak ve incelemek için kullanılmıştır (11, 14). MFH'larda AAT pozitifliğinin neoplastik hücrelerin histiositik natürünü gösterdiği düşünülmektedir. Bununla birlikte bu antijenin varlığı diğer tümörlerde de gösterilmiştir (6, 7, 11, 13). MFH'ların %25-100'ünde AAT pozitifdir (3). Bu çalışmanın amacı, histiositik bir antijen olan AAT'yi MFH ve bazı sarkomlarda kullanarak bu tümörlerin natürünü, AAT'nin tanıdaki değerini ve diğer tümörlerdeki dağılımını araştırmaktır.

## MATERYAL VE METOD

Çalışmaya Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı konulan 16 MFH ve 34 diğer tipte sarkomlar olmak üzere toplam 50 vaka alındı. Tümörlerin dağılımı Tablo I'de görülmektedir. Tüm dokular %10'luk formolinde tespit edilip takip edildikten sonra parafine gömüldü. MFH vakaları Enzinger ve Weiss'e göre sınıflandı (2). Her tümöre rutin hematoksilen eosin dışında alcian blue-periodik asit-Schiff (AB-PAS), Mason's trichrome, fosfotungustik asit hematoksilen (PTAH) ve retikülin boyaları yapıldı. İmmünohistokimyasal çalışma için her tümörde AAT ve MFH vakalarında buna ek olarak vimentin, keratin, desmin ve S-100 protein antikörleri kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyama Hsu ve ark. (15)'nin tarif ettiği şekilde yapıldı. Parafin bloklardan 5

mikron kalınlığında kesitler alındı, deparafinize edildi ve alkollerden geçirildi. %2.5 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- metanol solusyonunda endojen peroksidaz aktivitesi giderildi. Dokular %0.1'lik tripsin solusyonu ile muamele edildi. Monoklonal primer antikordardan önce dokular normal tavşan serumu ile inkübe edildi. Daha sonra primer antikor ile oda sıcaklığında 1 saat, biotinli anti-mouse immunglobulin ile 30 dak. ve horseradish peroksidase conjugated streptavidin ile 30 dak. inkübe edildi.

Tablo I: Malign Fibroz Histiositom: Klinik Bulgular

| Vaka No: | Yaş | Cins | Yeri         | Tipi                 |
|----------|-----|------|--------------|----------------------|
| 1.       | 24  | E    | ?            | Storiform/pleomorfik |
| 2.       | ?   | E    | Önkol        | Storiform/pleomorfik |
| 3.       | ?   | E    | Sırt         | Storiform/pleomorfik |
| 4.       | ?   | E    | Sırt         | Storiform/pleomorfik |
| 5.       | 65  | K    | Bacak        | Storiform/pleomorfik |
| 6.       | 34  | E    | Sırt         | Storiform/pleomorfik |
| 7.       | 13  | K    | Retroperiton | Miksoid              |
| 8.       | 58  | K    | Mezenter     | Dev hücreli          |
| 9.       | ?   | E    | Uyluk        | Storiform/pleomorfik |
| 10.      | 64  | E    | Önkol        | Storiform/pleomorfik |
| 11.      | 55  | K    | Uyluk        | Dev hücreli          |
| 12.      | 45  | E    | İnguinal     | Storiform/pleomorfik |
| 13.      | 58  | K    | İnguinal     | Storiform/pleomorfik |
| 14.      | 70  | K    | Dudak        | Dev hücreli          |
| 15.      | ?   | E    | ?            | Storiform/pleomorfik |
| 16.      | 60  | E    | Kol          | Storiform/pleomorfik |

İşlemler arasında dokular fosfat tamponlu salin (PBS) içinde çalkalandı. Kromojen olarak 3-amino-9-etil-karbazol (AEC) kullanıldı. Dokular sulu ortamda kapatıldı. Sonuçlar pozitif hücre oranına göre %0:0, %25>: %25-50: \*\*ve %50>: \*\*\* olarak değerlendirildi. İmmünohistokimyasal boyama için kullanılan antikor ve immunglobulinler Diagnostic Products Corporation Los Angeles California tarafından üretilmiş olup sadece AAT poliklonal tiptedir. Diğerleri ise monoklonaldır.

## BULGULAR

MFH'ların klinik özellikleri Tablo I'de özetlenmiştir. Vakaların 10'u erkek, 6'sı kadındı. Yaş dağılımı 13 ila 70 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 49.06 idi. Tümörlerin 5'i alt ekstremitede yerleşikti. Bunu 3'er vaka ile üst ekstremitte ve gövde izlemekteydi.

Morfolojik olarak MFH'ların 12'si storiform-pleomorfik, 3'ü dev hücreli ve 1'i miksoid idi. Tümörlerde Histokimyasal boyama metodları sonucu hiçbir tümörde Mason's trichrome ve PTAH boyama ile cross-striasyon gösterilemedi. AB/PAS, boyama ile miksoid tipteinde yaygın olmak üzere 8 vakada stromada fokal boyanma saptandı.

Çalışmamızı oluşturan tümörlerin dağılımı ve bu tümörlerdeki AAT pozitifliği Tablo II'de gösterilmiştir. İncelenen tümörlerin %28'inde (14/50) AAT pozitif bulundu. 16 MFH vakasının 11'inde AAT varlığı gösterildi (Resim 1). Bu tümörlerde AAT ile boyanma yoğunluğu 4 tümörde (\*\*\*), 4 tümörde (\*\*) ve 3 tümörde (\*) idi. MFH vakaları dışında sadece 3 tümörde pozitiflik saptandı. Bunlardan ikisi leiomyosarkom ve

Tablo II: Yumuşak Doku Tümörlerinde Alfa-1-antitripsin Dağılımı.

| Cinsi                      | Toplam | -  | * | ** | *** |
|----------------------------|--------|----|---|----|-----|
| Malign fibroz histiositom  | 16     | 5  | 3 | 4  | 4   |
| Leiomyosarkom              | 12     | 10 |   | 2  |     |
| Fibrosarkom                | 6      | 6  |   |    |     |
| Liposarkom                 | 6      | 5  | 1 |    |     |
| Nörosarkom                 | 2      | 2  |   |    |     |
| Sinovyal sarkom            | 2      | 2  |   |    |     |
| Endometrial stromal sarkom | 3      | 3  |   |    |     |
| Rabdomyosarkom             | 2      | 2  |   |    |     |
| TOPLAM:                    | 50     | 36 | 4 | 6  | 4   |

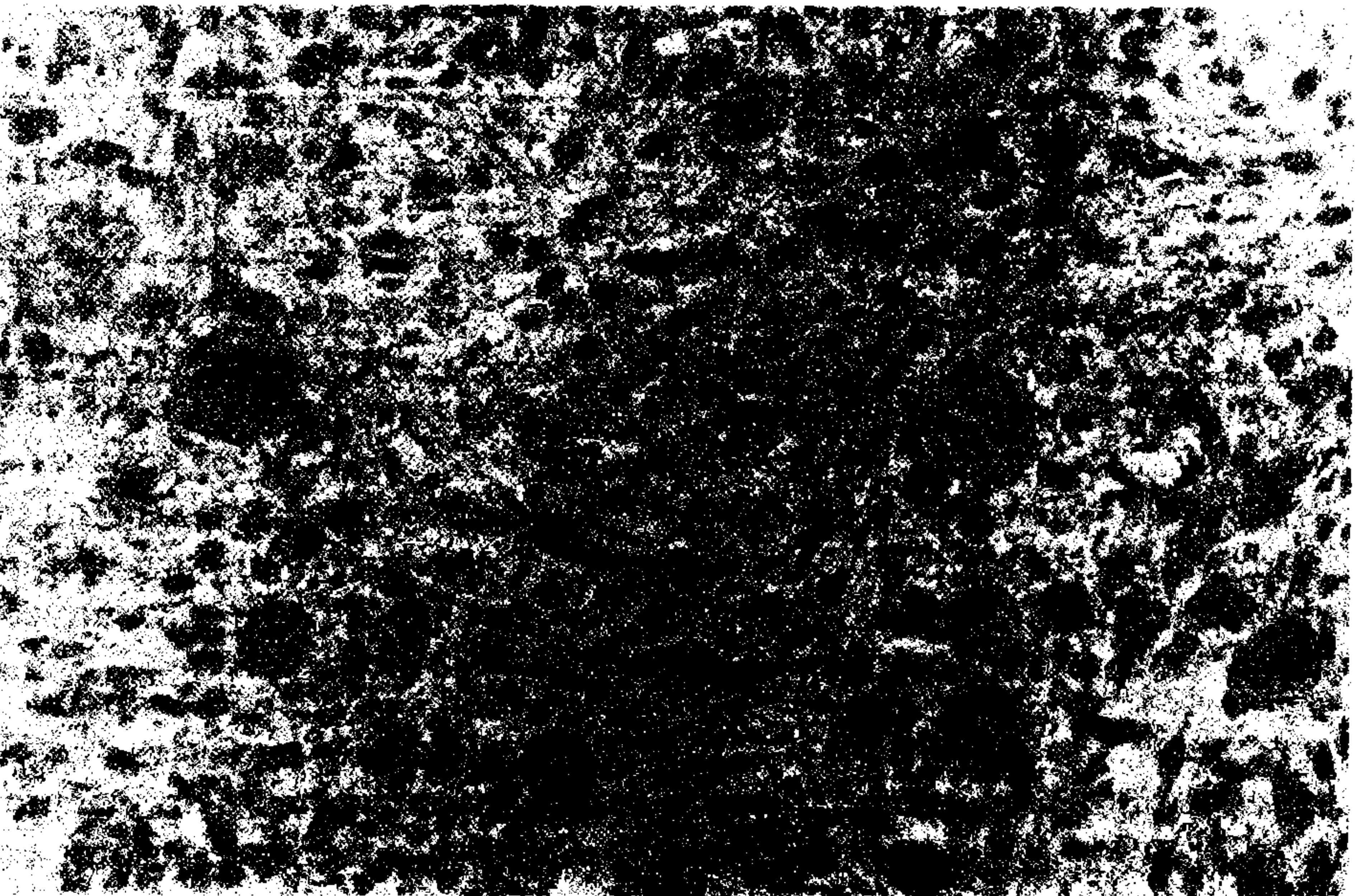
biri liposarkomdu. Bu tümörlerde boyanma (\*\*\*) ve (\*) yoğunlukta idi. Bunların dışında kalan diğer tümörlerde herhangi bir boyanma saptanmadı.

MFH vakalarında diğer tümörlerden ayrı olarak vimentin, keratin, desmin ve S-100 protein çalışıldı. Tümörlerin hepsinde vimentin gösterilerek mezenkimal köken kanıtlandı. Kesitlere uygulanan diğer antikörlerin hiçbiriyle boyanma saptanmadı (Tablo III).

Tablo III: Malign Fibroz Histiositom: İmmünohistokimyasal Bulgular.

| Vaka No: | Vimentin | Keratin | Desmin | S-100 protein | AAT |
|----------|----------|---------|--------|---------------|-----|
| 1        | 3        | 0       | 0      | 0             | 0   |
| 2        | 3        | 0       | 0      | 0             | 1   |
| 3        | 3        | 0       | 0      | 0             | 0   |
| 4        | 3        | 0       | 0      | 0             | 3   |
| 5        | 3        | 0       | 0      | 0             | 2   |
| 6        | 2        | 0       | 0      | 0             | 3   |
| 7        | 1        | 0       | 0      | 0             | 2   |
| 8        | 3        | 0       | 0      | 0             | 3   |
| 9        | 2        | 0       | 0      | 0             | 0   |
| 10       | 3        | 0       | 0      | 0             | 3   |
| 11       | 3        | 0       | 0      | 0             | 2   |
| 12       | 3        | 0       | 0      | 0             | 0   |
| 13       | 1        | 0       | 0      | 0             | 0   |
| 14       | 3        | 0       | 0      | 0             | 1   |
| 15       | 3        | 0       | 0      | 0             | 1   |
| 16       | 1        | 0       | 0      | 0             | 2   |

Not: AAT: alfa-1-antitripsin 0: (-) 1: (\*) 2: (\*\*) 3: (\*\*\*)



Resim 1. Malign fibroz histositom vakasında iğsi ve dev hücrelerde alfa-1-antitripsin varlığı (AEC X 400).

## TARTIŞMA

Bu çalışmamızda başta MFH olmak üzere birçok yumuşak doku türünde AAT varlığını araştırdık.

MFH başta pleomorfik rabdomyosarkom olmak üzere birçok iğsi ve pleomorfik tipteki sarkomla karşıabilir (7). AAT normal ve malign histi-ositleri yüksek oranda boyadığı için MFH tanısında güvenilir bir marker olduğu düşünülmektedir (16). AAT pozitifliği, MFH'larda değişik oran-larda bulunmuştur (6,13,17). Roholl ve ark. MFH'larn yaklaşık %60'unda (6), Lawson ve ark. çalışmaları vakaların tümünde (10), Soini ve ark. ise 12 MFH vakasının 10'unda AAT varlığını göstermişlerdir (11). Molenaar ve ark. ise daha önce pleomorfik rabdomyosarkom tanısı konulan 5 MFH vakasının tümünde AAT varlığını göstermiştir (5). Biz ise 16 MFH vakasının 11'inde AAT varlığını gösterdik.

AAT Histositik neoplaziler dışında bazı tümörlerde de gösterilmiş- tir. Bazı karsinom, lenfoma ve MFH dışındaki bazı sarkomlarda AAT pozitifliği bildirilmiştir (6,11). Buna benzer bizde MFH dışında 3 tümör-

de AAT varlığını gösterdik. Bunlardan ikisi leiomyosarkom ve biri liposarkomdu. Bu tümörlerden liposarkomdaki boyanma fokal olmakla birlikte leiomyosarkom vakalarındaki boyanma hücrelerinin %50'sine yakınına içermekteydi.

MFH'larda ultrastrüktürel ve immünohistokimyasal çalışmalarda myofibroblastik diferansiyon tanımlanmıştır. Lawson ve ark. bu tümörlerde desmin pozitifliği bildirmektedir (10). Biz ise vakalarımızın hiçbirinde desmin varlığını gösteremedik. Bizi destekler şekilde daha önce rabdomyosarkom tanısı konmuş olup MFH olduğuna inanılan bazı tümörlerde de desmin varlığı gösterilememiştir (5).

Soini ve ark. MFH'larda AAT varlığının MFH'in histiositik natüründen kaynaklanmadığını, AAT varlığının diğer birçok karsinom ve melanomda da tümörlerdeki histiositik diferansiyonla bağlantılı olmadığını ileri sürmektedirler (11). Roholl ve ark. ise MFH'daki fibroblastların AAT içermediğini göstermişlerdir (6). Bizim çalışmamızda yer alan 6 fibrosarkom vakasının hiçbirinde AAT varlığının gösterilememesi AAT pozitifliğinin histiositik orijini desteklediğini göstermektedir.

Hashimoto ve ark. 25 leiomyosarkom vakasının 4'ünde AAT varlığını göstermişlerdir (18). Biz de buna benzer şekilde 2 leiomyosarkom vakasında AAT ile pozitif boyanma saptadık. Bu tümörler pleomorfik tipte hücreler içermelerine rağmen diğer alanları leiomyosarkomun tipik görünümüne sahipti ve immünohistokimyasal olarak desmin varlığı gösterilerek myojenik orijini kanıtlanmıştı. Bu nedenle bu tümörler AAT içermelerine rağmen leiomyosarkom olarak değerlendirildi. Hashimoto ve ark. da az diferansiye bir tümörü MFH olarak değerlendirmek için histiositik hücreler içermesinin yeterli bir koşul olmadığını ileri sürmektedirler (18).

Sonuç olarak, AAT'nin diğer antikorlarla birlikte kullanıldığında MFH ve diğer pleomorfik tipteki sarkomlar arasında ayırıcı tanıya yardımcı olabileceği ve bu tümörlerde AAT varlığının gösterilmesinin MFH tanısını güçlendirdiği söylenebilir.

## KAYNAKLAR

1. Enjoji M., Hashimoto H.: *Diagnosis of soft tissue sarcomas*. Path Res Pract 178: 215-226, 1984.
2. Enzinger F.M., Weiss S.W.: *Soft Tissue Tumors*. 2nd. edition. St. Louis. The C.V. Mosby Company, 269-300, 1988.

3. Fletcher C.D.M., *Malignant fibrous histiocytoma*: Histopathology 11: 433-437, 1987.
4. Iwasaki H., Yoshitake K., Ohjimi Y., et al.: *Malignant fibrous histiocytoma*. Proliferative compartment and heterogeneity of "histiocytic" cells. Am J Surg Pathol 16: 735-745, 1992.
5. Molenaar W.M., Oosterhuis A.M., Ramaekers F.C.S.: *The rarity of Rhabdomyosarcomas in the adult*. A morphologic and immunohistochemical study. Path Res Pract 180: 400-404, 1985.
6. Rohol P.J.M., Kleyne J., Elbers H., et al.: *Characterization of tumour cells in malignant fibrous histiocytomas and other soft tissue tumours in comparison with malignant histiocytes*. I. immunohistochemical study of paraffin sections. J Pathol 147: 87-95, 1985.
7. Du Boulay C.E.H.: *Immunohistochemistry of soft tissue tumors*: A review. J Pathol 146: 77-94, 1985.
8. Miettinen M.: *Immunohistochemistry of soft-tissue tumors*. Possibilities and limitations in surgical pathology. Pathol Annu 25: 1-36, 1990.
9. Brecher M.E., Franklin W.A.: *Absence of mononuclear phagocyte antigens in malignant fibrous histiocytoma*. Am J Clin Pathol 86: 344-348, 1986.
10. Lawson C.W., Fisher C., Gatter K.C.: *An immunohistochemical study of differentiation in malignant fibrous histiocytoma*. Histopathology 11: 375-383, 1987.
11. Soini Y.B., Miettinen M.: *Alpha-1-antitrypsin and lysozyme*. Their limited significance in fibrohistiocytic tumors. Am J Clin Pathol. 91: 515-521, 1989.
12. Strauchen J.A., Dimitriu-Bona A.: *Malignant fibrous histiocytoma*. Expression of monocyte/macrophage differentiation antigens detected with monoclonal antibodies. Am J Pathol 124: 303-309, 1986.
13. Roholl P.J.M., De Jong A.S.H., Ramaekers F.C.S.: *Application of markers in the diagnosis of soft tissue tumors*. Histopathology 9: 1019-1035, 1985.
14. Russo J.: *Immunohistochemistry in tumor diagnosis*. In: Morales AR, Gould EW, Nadji M. Immunohistochemistry of soft tissue tumors. Boston. Martinus Nijhoff Publishing, p.372, 1985.
15. Hsu S.M., Raine L., Fanger H.: *The use of antiavidin antibody and avidin-biotin peroxidase complex in immunoperoxidase techniques*. Am J Clin Pathol 75: 816-821, 1981.
16. Isaacson P., Wright D.H., Jones D.B.: *Malignant lymphoma of true histiocytic (monocyte/macrophage) origin*. Cancer 51: 80-91, 1983.
17. Du Boulay C.E.H.: *Demonstration of alpha-1-antitrypsin and alpha-1-antichymotrypsin in fibrous histiocytomas using the immunoperoxidase technique*. Am J Surg Pathol. 6: 559-564, 1982.
18. Hashimoto H., Daiamaru Y., Tsuneyoshi M., Enjoji M.: *Leiomyosarcoma of the external soft tissues*. A clinicopathologic, immunohistochemical and electron microscopic study. Cancer 57: 2077-2088, 1986.