

Biyopsi Değerlendirilmesinde Gleason (3+3) Tanılı Hastaların Prostatlarında Kribriform Alan Şüphesi. Kısıtlı Morfolojik Görünüm Hastaları Takip Grubuna Almak için Yeterli Olmayabilir

Cribriform Area Suspicion in the Prostates of Patients with Gleason (3+3) Diagnosis in Biopsy Evaluation. Restricted Morphological Appearance may not be Sufficient to Include Patients in the Follow-up Group

Devrim Kahraman

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Öz

Amaç: Histolojik derece, prostat kanseri prognozunun en yararlı öngörücüsüdür. Gleason skorlaması, Dünya Sağlık Örgütü tarafından önerilen prostat kanserine için tek derecelendirme yöntemidir. Gleason (3+3) 6 şu anda tanımlanan en düşük skordur. Radikal materyallerde tüm prostat bölgelerini görebilir ve temel skorlamaya kolayca karar verebiliriz. Ancak biyopsiye tümörün sadece bir kısmını görebiliriz ve tümörün tümünün histolojik derecesinden kesin emin olamayız. Tümörün kribriform yapılanma potansiyeli varsa biz bunu mevcut yöntemler ile tespit edemiyoruz. Bu çalışmada amacımız iyi diferansiye prostat kanserlerinde moleküler heterojenite saptayabilmektir.

Gereç ve Yöntem: Prostat kanserine Gleason (3+3) tanılı hastalara ait 26 adet prostat iğne biyopsisi Betakatenin, Siklin D1, Pax2 ve Pax8 immünohistokimyasal belirteçleri ile boyanıp incelenmiştir.

Bulgular: Tümör yapılarında Betakatenin ile yoğun boyanma izlenmişken, Siklin D1, Pax2 ve Pax8 ile anlamlı bulgu tespit edilememiştir.

Sonuç: Betakatenin, Siklin D1, Pax2 ve Pax8 günlük patoloji pratiğinde sıkça kullandığımız belirteçler olup ayrıca ürogenital sistem kanserogenezinde literatürde çalışmalara konu olmuştur. Ancak iyi diferansiye tümöral asiner yapılarda Betakatenin ile yoğun boyanma izlenmişken, Siklin D1, Pax2 ve Pax8 ile anlamlı bulgu tespit edilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Prostat Karsinomu, İmmünohistokimyasal Heterojenite, Betakatenin

Abstract

Objectives: Histologic grade is the most useful predictor of prognosis of prostate cancer. The Gleason scoring is the only grading method for prostatic carcinoma, which is recommended by World Health Organization. The Gleason grading (3+3) 6 is the lowest score currently assigned. In radical materials, we can see all prostate areas and decide certain grading easily. However, in the biopsy, we can see only a part of the tumor and we cannot be sure of the histologic grade of the total tumor. If the tumor has a potential for cribriform formation, we cannot detect it with current methods. Our aim in this study was to detect molecular heterogeneity in well-differentiated prostate cancers.

Materials and Methods: Twenty-six prostate needle biopsies from patients with prostate carcinoma Gleason (3+3) were stained and analyzed with immunohistochemical markers of Betacatenin, Cyclin D1, Pax2 and Pax8.

Results: While intense staining was observed with Betacatenin in tumor, no significant findings were detected with Cyclin D1, Pax2 and Pax8.

Conclusion: Betacatenin, Cyclin D1, Pax2 and Pax8 are the markers that we use frequently in daily pathology practice and have also been the subject of studies in the literature on urogenital system carcinogenesis. However, while intense staining was observed with Betacatenin in well-differentiated tumoral acinar structures, no significant findings were detected with Cyclin D1, Pax2 and Pax8.

Key Words: Prostate Carcinoma, Immunohistochemical Heterogeneity, Betacatenin

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Devrim Kahraman

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 505 525 02 95 E-posta: dr.devrimsonmez@gmail.com ORCID ID: orcid.org/0000-0001-9858-9252

Geliş Tarihi/Received: 18.03.2022 Kabul Tarihi/Accepted: 11.05.2022

©Telif Hakkı 2022 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



Giriş

Prostat kanseri için bilinen en eski skora metodu Gleason'a ait olup ilk 1966 yılında gündeme gelmiştir (1). Daha sonra 1977 yılında Gleason sistemi olarak morfolojilerine göre gruplandırılmış, prostat tümörleri için aynı metod prognostik derecelendirme için kullanılmaya devam edilmiştir (2). Bu sistem ancak 2016 yılında yenilenmiş ve küçük bir modifikasyona uğramıştır. Derecelendirme sisteminin prognoza etkisi yaygın olarak kabul görmüştür. Bu son modifikasyon sırasında özellikle 3+3 morfolojik patern gösteren olguların prognozlarının diğer paternlere göre daha iyi olduğu belirtilmiştir. Glandüler diferansiyasyona göre belirlenmiş olan 3+3 morfolojik patern gösteren iyi diferansiye Gleason 6 skorlu morfolojik görünüm; Prognostik Grade Grup 1 olarak nitelendirilmiştir (3). Bu tanı grubuna ait hastaların bir kısmı klinik uygulama sırasında yalnızca takip edilebilmektedir. Bu uygulama her biyopsinin yeterli örnekleme yapamayacağı düşünülerek bizi takip kararı verilmesinde zorlayabilir. Örnekleri inceleyen patoloğlar bu ayrımı yapmadaki tecrübe farkı da düşünülmelidir. Pek çok prostat biyopsisinde yetersizlik söz konusu iken örneklenen tümörün yeterli alanı içerdiğinden emin olamayabiliriz. Literatürde yer alan çalışmaların bazıları morfolojik paternin patoloğlar arasında ne kadar doğru değerlendirilebildiği endişesi üzerine yapılmış durumda (4,5). Temeli 1966'lara dayanan ve yalnızca morfoloji üzerinden karar verilen bu yaklaşım tarzına yakında günümüzün gelişen genetik ve immünolojik temelli doku teknolojisi ile desteklenmesi gerekliliği doğacaktır. Kim bilir o zaman gördüğümüz Gleason 3 patern tümör yapısının belki bir iki ay içerisinde kribriiform yapılanma ya da tek tek dizilim gösterme potansiyalinin ne kadar olduğunu daha kolay kavrayabiliriz. Prostat kanseri patogeneğinde androjenler (6), batı diyeti (7) sorumlu tutulmuş; her ne kadar TMPRSS2-ETS füzyon genleri (8), PI3K/AKT sinyal yolağı (9), PTEN (10), BRCA2 (11) gibi edinsel somatik mutasyonlar araştırılmış olsa da kesin bir genetik yolak tespit edilememiştir. Bu çalışma bu amaç doğrultusunda yapılmış olup karsinogeneze karşımıza sıkça çıkan Betakatenin (12,13), Siklin D1 (14,15) yan ısıra ürogenital sistemin karsinogeneğinde şüphe taşıyan Pax2 (16,17) ve Pax 8 (18) immünohistokimyasal belirteçleri iyi diferansiye prostat kanser örneklerine uygulanmıştır. Amaç iyi diferansiye prostat kanserlerinde tümör asiner yapılar arasında immünohistokimyasal olarak heterojenite saptayabilmektir. Bu heterojenite belki kanserleşen asiner yapının kribriiform yapılanma ya da tek tek dizilim gösterme potansiyelini anlayacağımız yolda bizim için bir kaldırım taşı olabilir.

Gereç ve Yöntem

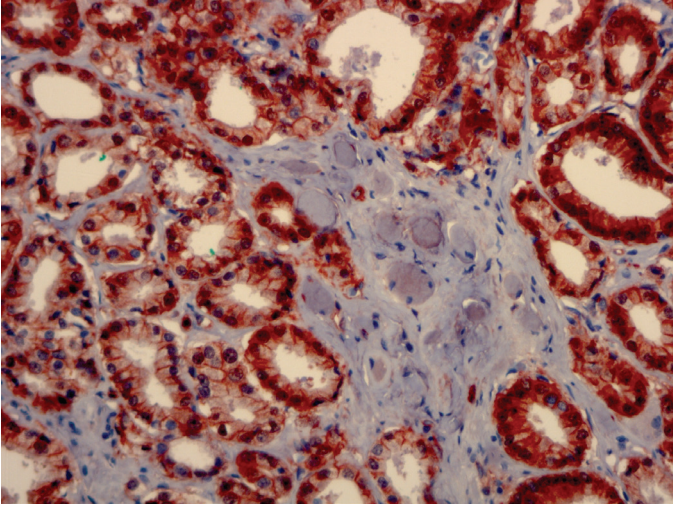
Bu çalışmada TOBB ETÜ Hastanesi Patoloji Kliniği'nde 2016-2021 yılları arasında tanı alan 26 adet prostat iğne

biyopsisine ait parafin blok kurul izni ile kullanılmıştır. Biyopsiler Prostat karsinomu Gleason (3+3) tanılı hastalara aittir. Tümör morfolojisinin derecelendirilmesi Dünya Sağlık Örgütü tarafından son dönemde önerilen modifikasyona göre değerlendirilmiştir. Hastaların 20 adedi Gleason (3+3) paternine sahip olup 6 adedi ise Gleason (3+4) paternine sahiptir.

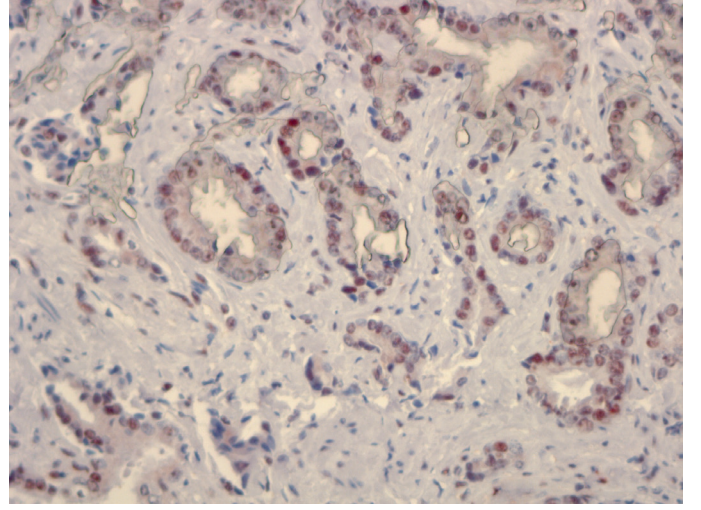
Parafin bloklar öncelikle Hematoksilen Eozin (H&E) histokimyasal boyası ile boyanmış ve histolojik derecelendirme yapılmış; ardından immünohistokimyasal belirteçler uygulanmıştır. Bloklara 3 µ kalınlığında kesitler uygulanıp Pax2 tavşan anti-human polyclonal [pSer393] antikor [isotype: IgG, catalog ID/Lot ID: LS-B2450/27017, Lifespan Biosciences, Seattle, USA] 1:100 dilüsyon ile otomatik boyama cihazı ile (BenchMark XT Staining Module, Ventana Medical Systems Inc: Tucson, AZ, USA) uygulandı. Fetal böbrek dokusu pozitif kontrol için kullanılmıştır. İncelemelerde yalnızca spesifik nükleer boyanma pozitif olarak kabul edilmiştir. Yüz prostat gland hücresi sayılarak oran alınıp değerlendirme yapılmıştır. Betakatenin için monoklonal antikor kullanıldı (RB-9035, dilution 1/500, Thermo Fisher Scientific, Kalamazoo, MI, USA). Desmoid tip yumuşak doku fibromatozislerindeki nükleer pozitiflik kontrol olarak kullanılmıştır. Siklin D1 betakatenin yolağında yer almakta olup çalışmada nükleer boyanma değerlendirilmiş ve antikor kullanılmıştır [Cyclin D1/Bcl-1(SP4) Thermo Scientific, CA, USA]. Kontrol olarak insan serebellum granüler tabakası değerlendirilmiştir. Pax8 için nükleer pozitif boyanma göz önüne alınarak antikor (Biocare Medical, Concord, CA, 1:1400 dilüsyon) kullanıldı. Antikor uygulamaları ardından streptavidin Biotin kompleks sistem yapılmıştır. Antijen sisteminin CC2 (sitrat, pH:6) solüsyonu (Ventana) ile yıkanmasının ardından protein blokajı uygulanmıştır. Kromojen olarak Daiminobenzidine kullanılıp Hematoksilen histokimyasal boyası ile işlem sonlandırılmıştır.

Bulgular

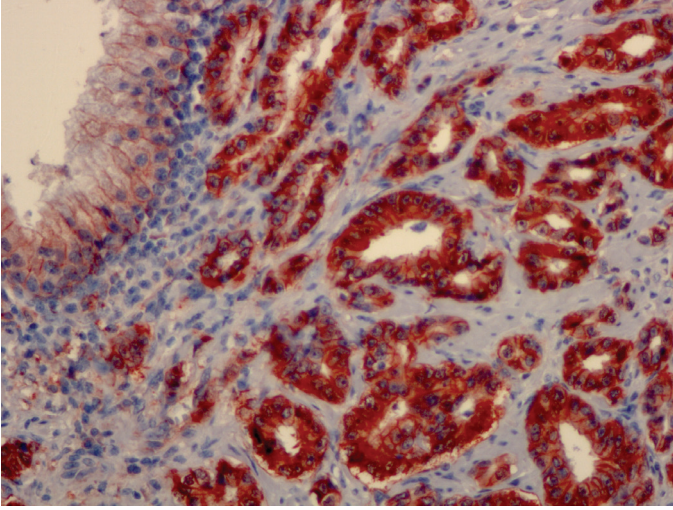
Uygulanan betakatenin immünohistokimyasal belirteci ile olguların tümünde asiner tümör hücrelerine stoplazmik boyanma görülmüş, bu boyanmanın yoğun olduğu tespit edilmiştir (Resim 1). Betakatenine ait stoplazmik boyanma tümör hücrelerinde belirgin miktarda daha fazla olmak üzere çevre dokuda da hafif düzeyde tespit edilmiştir (Resim 2). Siklin D1 ile olguların tümünde zayıf non-spesifik boyanma saptanmıştır (Resim 3). Boyanma nükleer niteliktedir. Çevre benign görünümlü prostat glandlarında da az sayıda boyanma olmuştur. Pax2 immünohistokimyasal belirteci ile olguların bir kısmında tek tük kuvvetli nükleer boyanma izlenirken bazı vakalarda hiç boyanma saptanmamıştır (Resim 4). Benzer şekilde Pax8 ile de tümör hücrelerinin %2-%5'ini içeren non-spesifik orta kuvvette nükleer boyanma gözlemlenmiştir (Resim 5). Çevre benign prostat dokuda bir iki adet asiner hücrede nükleer hafif boyanma görülmüştür.



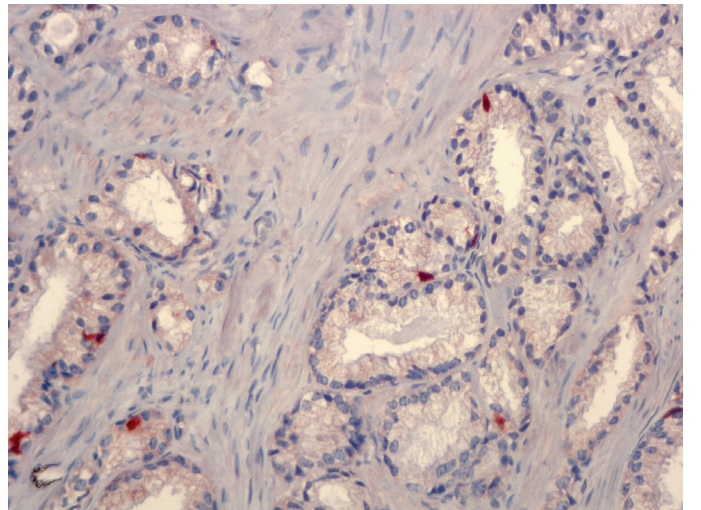
Resim 1: Prostat kanserü alanı Betakatenin immünohistokimyasal belirteci X200



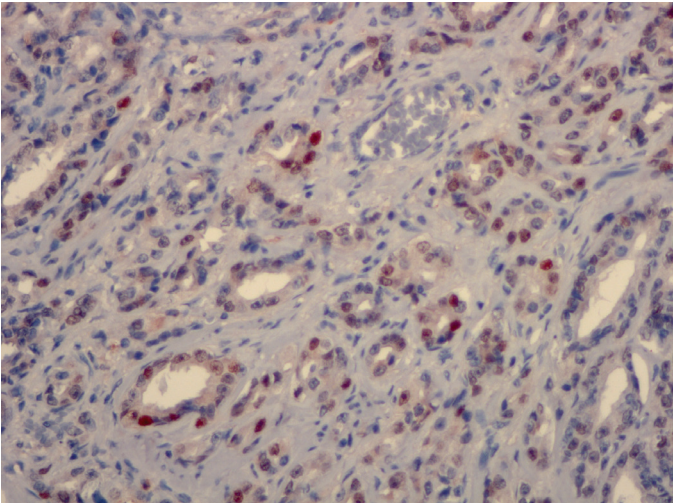
Resim 4: Prostat kanserü alanı Pax2 immünohistokimyasal belirteci ile X200



Resim 2: Prostat kanserü ve çevre doku örneğinde Betakatenin immünohistokimyasal belirteci X200



Resim 5: Prostat kanserü alanı Pax8 immünohistokimyasal belirteci ile X200



Resim 3: Prostat kanserü alanı Siklin D1 immünohistokimyasal belirteci ile X200

Tartışma

Prostat kanseri etyolojisi tam olarak tespit edilememiş kanser tiplerinden olup karsinogenez yolağı şu ana kadar yapılan çalışmalarla ortaya konulamamıştır. Tümörün prognostik değeriendirimi 1977 yılından bu yana morfolojisine dayandırılmaktadır (1). Son dönemde yapılan modifikasyon ile hastaların klinik seyirleri ile prostat biyopsilerinin derecelendirilmesinin uyumu ortaya konmuştur (3). Araştırmacıların dikkatini özellikle biyopsileri değeriendiren patoloğların arasındaki uyum endişelendirmiş, yapılan çalışmalarda görülmüştür ki patoloğlar arasında değeriendirme ve yorum açısından anlamlı fark yoktur (4,5). Değeriendirme sistemi güvenli görülmektedir. Bu çalışmalarda alınan biyopsilerin yeterlilikleri ve Gleason skoru ile uyumu da araştırılmıştır. Bir sorun aranır ise şu dönemde belki de tek sorun

biyopsilerin tümörün biyopside görünen morfolojisinin hastada yer alan morfolojisini tam olarak yansıtip yansıtmadığıdır. Her merkez gereken yeterlilikte tümör örnekleme için doğru bir şekilde yapabilmekte midir? Grade'i yüksek olan tümörlerde ameliyat kararı alınabilmekte ya da tam tersi hastanın ameliyat şansını yitirdiği tespit edilebilmektedir. Ancak iyi diferansiye tümörlerde bunu rahatça söyleyebilir miyiz? Biyopside gördüğümüz Grade (3+3) morfoloji acaba örneklenemeyen bir alanda kribriiform yapılanma yapmış mıdır? Bu alan takibe bırakılan hastanın prostatında halen yer alıyor olabilir. Obsesif bir düşünce gibi dursa da opere edilebilir bir hastanın takip sonrasında operasyon şansını yitirdiğini görmek bu obsesyonun yerinde olduğunu göstermektedir. Bu sebeple özellikle iyi diferansiye prostat kanseri tanısı alan hastalarda tümörün malignite potansiyelini anlamak için moleküler bir yardımcı gerekliliği doğmaktadır. Daha önce prostat kanserlerinde prognostik açıdan ve kanser yolağında suşlu olabilecek pek çok molekül için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Kumar ve ark. (19) benign prostatik hiperplazi, prostat karsinomu içeren biyopsi ve radikal prostatektomi materyallerinde immünohistokimyasal belirteçler yardımı ile *nm23H1* geninin farklılıklarına bakmışlar; *nm23H1*/nükleozid difosfat kinaz enziminin ekspresyonunu metastaz ile ilişkili bulmuşlardır. Shridhar (20), prostolenforgrafi ile artmış prostatik lenfatik yapılanmanın tespit edilebileceğini; bunun da metastaz açısından önemli olduğunu vurgulamıştır. Başka bir çalışmada tip 5 fosfodiesterazın prognostik bir veri olup olamayacağı araştırılmış; ancak benign hiperplazi olgularında belirgin görülen immünohistokimyasal belirteç kanser olgularında belirsiz sonuç vermiştir (21). Yine benzer şekilde Xu ve ark. (22) immünohistokimyasal açıdan prostat kanser prognozunu araştırmış; bu amaçla dokulara PDE5 belirteci uygulamış ancak anlamlı sonuç elde edilememiştir. Bu çalışma da bu amaçla yapılmış olup; ürogenital sistem kanserlerinde suçlanan karsinogenez basamakları kullanılarak iyi diferansiye prostat karsinomu içerisinde heterojenite incelenmiştir.

Betakatenin gibi pek çok kanser yolağında görülen Siklin D1'in de hedef olduğu WNT yolağının prostat kanseri ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Tümör dışı çevre dokuda çok hafif miktarda saptanan stoplazmik betakatenin varlığının tümörlü hücre stoplazmasında birikimi anlamlıdır. Tümörlü dokuda saptanan betakatenin varlığı tüm tümörlü alanlarda pozitif boyanma sergilediği için heterojenite görülmemiş ve iyi diferansiye tümörlerde tespiti tümörün prognozunu belirlemede anlamlı olmamıştır. Daha önce Betakatenin yolağının ortak olduğu bir çalışmada da Li ve ark. (12) tarafından yapılmış; aynı yolak üzerinde bulunan lncRNA LEF1-AS1 araştırılmış ve prostat kanseri tedavisinde kullanılabilecek bir hedef olabileceği söylenmiştir.

Siklin D1 boyası negatif ya da pozitif yönde değerlendirilebilecek bir sonuç vermemiştir. Oysa pek çok

kanserde (15) etkinliği kanıtlanmış bu molekül yapılan bu çalışmada anlamsız sonuçlar vermiştir. Siklin D1 gibi uygulanan Pax2 ve Pax8 immünohistokimyasal belirteçleri de çalışmada anlamlı sonuç vermemiştir. Bu çalışmada sorgulanması gereken sonuçlardan biri de budur. Daha önce ürogenital sistem kanserlerinde Pax8'in etkinliği saptanmıştır (17). Bu çalışmada belirlenen anlamsız sonuç belki başka bir monoklonal belirteç ile daha farklı kapıları açabilir.

Sonuç

Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler iyi diferansiye prostat kanserlerinde morfolojik yapı içerisinde moleküler olarak heterojenite saptanmasına yardımcı olmamıştır. Belki farklı genetik bir protein beraberinde PSA takibi ile daha faydalı veriler elde edilmesini sağlayabilir. Bu sebeple prognoz takibi de yapılabilecek merkezlerde çalışan araştırmacılara yol gösterici olabilir. Böylece prostat kanserlerinde iyi diferansiye kanserin hangi moleküler değişiklik sonucu takip yerine prostatektomi seçeneğine gitmesi gerekliliği saptanabilir.

Prognoz laboratuvar ve klinik olarak takip edilebileceği merkezlerde farklı moleküler yapılar ile benzer çalışmalar fayda sağlayacaktır.

Etik

Etik Kurul Onayı: Çalışma için TOBB Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır.

Hasta Onayı: Retrospektif çalışma.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulunun dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

Finansal Destek: Bu çalışma herhangi bir kurum, kuruluş ya da kişi tarafından finanse edilmemiştir.

Kaynaklar

1. Kryvenko ON, Epstein JI. Prostate Cancer Grading: A Decade After the 2005 Modified Gleason Grading System. Arch Pathol Lab Med. 2016;140:1140-1152.
2. Braunhut BL, Punnen S, Kryvenko ON. Updates on Grading and Staging of Prostate Cancer. Surg Pathol Clin. 2018;11:759-774.
3. Epstein JI, Egevad L, Amin MB, et al. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. Am J Surg Pathol. 2016;40:244-252.
4. Goodman M, Ward KC, Osunkoya AO, et al. Frequency and determinants of disagreement and error in Gleason scores: a population-based study of prostate cancer. Prostate. 2012;72:1389-1398.
5. Al-Maghrabi JA, Bakshi NA, Farsi HM. Gleason grading of prostate cancer in needle core biopsies: a comparison of general and urologic pathologists. Ann Saudi Med. 2013;33:40-44.
6. Hofer DR, Sherwood ER, Bromberg WD, et al. Autonomous growth of androgen-independent human prostatic carcinoma cells: role of transforming growth factor alpha. Cancer Res. 1991;51:2780-2785.
7. Demark-Wahnefried W, Moyad MA. Dietary intervention in the management of prostate cancer. Curr Opin Urol. 2007;17:168-174.

8. Gülhan Ö, Mahi B. The Role of AMACR, CD10, TMPRSS2-ERG, and p27 Protein Expression Among Different Gleason Grades of Prostatic Adenocarcinoma on Needle Biopsy. *Clin Med Insights Oncol.* 2020;14:1179554920947322.
9. Gu M, Roy S, Raina K, et al. Inositol hexaphosphate suppresses growth and induces apoptosis in prostate carcinoma cells in culture and nude mouse xenograft: PI3K-Akt pathway as potential target. *Cancer Res.* 2009;69:9465-9472.
10. Wise HM, Hermida MA, Leslie NR. Prostate cancer, PI3K, PTEN and prognosis. *Clin Sci (Lond).* 2017;131:197-210.
11. Francis JC, McCarthy A, Thomsen MK, et al. Brca2 and Trp53 deficiency cooperate in the progression of mouse prostate tumorigenesis. *PLoS Genet.* 2010;6:e1000995.
12. Li W, Yang G, Yang D, et al. LncRNA LEF1-AS1 promotes metastasis of prostatic carcinoma via the Wnt/beta-catenin pathway. *Cancer Cell Int.* 2020;20:543.
13. Bauman TM, Vezina CM, Ricke EA, et al. Expression and colocalization of beta-catenin and lymphoid enhancing factor-1 in prostate cancer progression. *Hum Pathol.* 2016;51:124-133.
14. Gupta V, Garg M, Chaudhry M, et al. Role of cyclin D1 immunoreactivity and AgNOR staining in the evaluation of benign and malignant lesions of the prostate. *Prostate Int.* 2014;2:90-96.
15. Fusté NP, Castelblanco E, Felip I, et al. Characterization of cytoplasmic cyclin D1 as a marker of invasiveness in cancer. *Oncotarget.* 2016;7:26979-26991.
16. Bose SK, Gibson W, Bullard RS, et al. PAX2 oncogene negatively regulates the expression of the host defense peptide human beta defensin-1 in prostate cancer. *Mol Immunol.* 2009;46:1140-1148.
17. Khoubehi B, Kessler AM, Adshead JM, et al. Expression of the developmental and oncogenic PAX2 gene in human prostate cancer. *J Urol.* 2001;165:2115-2120.
18. Qi M, Li Y, Liu J, et al. Morphologic features of carcinomas with recurrent gene fusions. *Adv Anat Pathol.* 2012;19:417-424.
19. Kumar A, Hatwal D, Batra N, et al. Role of nm23H1 in predicting metastases in prostatic carcinoma. *Indian J Pathol Microbiol.* 2018;61:70-75.
20. Shridhar P. The lymphatics of the prostate gland and their role in the spread of prostatic carcinoma. *Ann R Coll Surg Engl.* 1979;61:114-122.
21. Bisegna C, Gravina GL, Pierconti F, et al. Regulation of PDE5 expression in normal prostate, benign prostatic hyperplasia and adenocarcinoma. *Andrology.* 2020;8:427-433.
22. Xu B, Chevarie-Davis M, Chevalier S, et al. The prognostic role of ERG immunopositivity in prostatic acinar adenocarcinoma: a study including 454 cases and review of the literature. *Hum Pathol.* 2014;45:488-497.