

¹ Muhammet Emin GÜLDÜR

¹ Hasan İlyas ÖZARDALI

² Fahrettin YILDIZ

² Alpaslan TERZİ

² Abdullah ÖZGÖNÜL

¹ Muharrem BİTİREN

¹ Levent YILDIRIM

¹ Mehmet Hüseyin METİNEREN

¹ Harran Üniversitesi Tıp
Fakültesi, Patoloji Anabilim
Dalı, Şanlıurfa

² Harran Üniversitesi Tıp
Fakültesi, Genel Cerrahi
Anabilim Dalı, Şanlıurfa

Submitted/Başvuru tarihi:

19 03 2010

Accepted/Kabul tarihi:

05 04 2010

Registration/Kayıt no:

10 03 110

Corresponding Address /Yazışma Adresi:

Dr. Muhammet Emin GÜLDÜR
Harran Üniversitesi Tıp
Fakültesi, Patoloji Anabilim
Dalı, 63200 Şanlıurfa

e-posta:

eminsevim01@hotmail.com

© 2011 Düzce Medical Journal
e-ISSN 1307- 671X
www.tipdergi.duzce.edu.tr
duzcetipdergisi@duzce.edu.tr

Kolon Adenokarsinomlarında D2-40 İmmünreaktivitesi

D2-40 Immunreactivity In Colon Adenocarcinomas

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda, kolon adenokarsinomlarında D2-40 immünreaktivitesi ile tümör grade'i, klinik evre ve lenf nodu metastazı arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada 2002-2009 yılları arasında kliniğimizde kolon adenokarsinomu tanısı konulan 60 olgu incelemeye alındı. Bu olgulara ait uygun parafin bloklardan yapılan kesitlere D2-40 antikoru immünohistokimyasal yöntemle çalışılmıştır.

Bulgular: İmmünohistokimyasal inceleme sonucunda 60 olgunun 18'inde (%30) D2-40 ile pozitif immünreaktivite saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda histolojik grade (p:0,78), klinik evre (p:0,91) ve lenf nodu metastazı (p:0,56) ile D2-40 immünreaktivitesi arasında anlamlı bir ilişki izlenmemiştir.

Sonuç: D2-40 immünreaktivitesi ile incelediğimiz prognostik parametreler arasında korelasyon bulunmamıştır. Ancak; literatürde kolon adenokarsinomlarında tümör hücrelerindeki immünreaktiviteyi araştırılan az sayıda çalışma olması nedeni ile bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

Anahtar kelimeler: Kolon adenokarsinomu, D2-40, prognoz

ABSTRACT

Aim: In the present study, the relationship between D2-40 immunoreactivity and tumor grade, clinic phase and lymph node metastase in colon adenocarcinomas were examined.

Method: Sixty cases diagnosed with colon adenocarcinoma in our department between 2002 and 2009 were included in the study. Sections from appropriate paraffin blocks belonging to the cases were examined by D2-40 antibody immunohistochemical method.

Findings: On the immunohistochemical examination, positive immunoreactivity with D2-40 was found in 18 of 60 cases (30%). In the statistical analysis, no significant correlation was determined between histologic grade (p:0,78), clinic phase (p:0,91), lymph node metastasis (p:0,56) and D2-40 immunoreactivity.

Conclusion: No correlation was found between immunoreactivity with D2-40 and prognostic parameters. Yet, due to the fact that there are few studies in literature on immunoreactivity with D2-40 in tumor cells in colon adenocarcinomas, we believe that further studies are needed in this subject.

Key words: Colon adenocarcinomas, D2-40, prognose.

GİRİŞ

Kolorektal karsinomlar, başta gelişmiş ülkeler olmak üzere tüm dünyada görülmektedir. Yaşla birlikte görülme sıklığında artış olur (1,2). Kolorektal kanser gelişiminde diyet başta olmak üzere çevresel faktörler, yaş, adenom varlığı, inflamatuvar barsak hastalığı gibi predispozan faktörler ile aile öyküsü etkilidir. Olguların çoğu adenomatöz polip zemininden gelişir (3,4). Prognozda önemli olan histomorfolojik faktörlerden başlıcaları tümör grade'i ve evresi, lenf nodu metastazının olup olmamasıdır (5).

D2-40 fetal testis gonositleri ve germ hücre neoplazilerinin bir kısmında bulunan M2A antijenine karşı geliştirilmiş bir antikordur (6). Bu antikorum lenfatik endoteli belirlemede oldukça spesifik olduğu saptanmıştır. Son yıllarda D2-40'ın mezotelyal hücre diferansiyasyonunu belirlemede de yararlı olduğu gösterilmiştir (7,8). Bu kullanım alanları dışında, yapılan birçok çalışmada D2-40'ın çeşitli tümörlerin tanısındaki yararlılığı araştırılmıştır (9-12). D2-40'ın ayırıcı tanıdaki rolünü araştırılan çok sayıda çalışma olmasına karşın tümör hücrelerindeki ekspresyonunun prognoz ile ilişkisini inceleyen tek bir çalışma mevcuttur (13). Bu çalışmada, kolon adenokarsinomlarında D2-40

immünreaktivitesi ile bazı klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişkiyi göstermeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 2002 ve 2009 yılları arasında kliniğimizde kolorektal karsinom tanısı alan toplam 60 olgu incelemeye alındı. Bu olgulara ait klinikopatolojik veriler incelenerek, grade, stage ve lenf nodu metastazı belirlendi.

H&E boyalı preparatlar incelenerek tümör morfolojisini en iyi yansıtan, her olgu için 1 adet uygun parafin blok seçildi. Parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. D2-40 ile (Dako, Monoklonal Mouse Anti-human, katalog no N1607) avidin-biodin peroksidaz metodu kullanılarak immünohistokimyasal çalışma yapıldı.

D2-40 ile boyanan kesitlerin mikroskopik değerlendirmesinde; tümör hücrelerinin %10'undan daha azında boyanma izlenen olgular negatif olarak kabul edildi. Pozitif olan olgularda, boyanma yaygınlığı ve boyanma şiddeti ayrı ayrı değerlendirilerek skorlandı. Bu değerlendirmede yaygınlık açısından tümör hücrelerinin %10-50'sinde pozitiflik saptanan olgular 1 pozitif, tümör hücrelerinin %50'sinin üzerinde pozitiflik saptanan olgular ise 2 pozitif olarak kabul edildi. Boyanma şiddeti değerlendirilirken ise, tümör hücrelerinde hafif şiddette boyanma 1 pozitif, orta şiddette boyanma 2 pozitif, şiddetli boyanma ise 3 pozitif olarak kabul edildi. Her olgunun, boyanma yoğunluğu ve boyanma şiddetine göre almış olduğu puanlar toplanarak kombine skor elde edildi. Elde edilen kombine skorlar, olguların grade'i, stage'i ve lenf nodu metastazı varlığı ile karşılaştırıldı. Mevcut verilerin

analizi için Ki-kare testi kullanıldı. Veriler, Windows işletim sistemi altında çalışan SPSS programı kullanılarak analiz edildi. Bu değerlendirmede 0,05'den küçük p değeri anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışmada değerlendirmeye aldığımız 60 olgunun 43'ü (%71,7) erkek, 17'si (%28,39) kadın olup, yaş aralığı 32-87, yaş ortalaması ise 58'dir. Olguların 19'u (%31,7) iyi diferansiye, 20'si orta diferansiye (%33,3) ve 21'i (%35) az diferansiye idi. Bunların 28'inde (%46,7) lenf nodu metastazı izlenirken 32'sinde ise (%53,3) lenf nodu metastazı saptanmamıştır.

D2-40 ile boyanan preparatlar incelendiğinde 60 adet adenokarsinom olgusunun 18'inde (%30) pozitif ekspresyon saptanmıştır (Resim-1). Pozitif boyanma izlenen olgulardan birinde hem membranöz (Resim-2) hem de sitoplazmik immünreaktivite izlenmiştir. Diğer olguların tamamında ise sadece sitoplazmik boyanma saptanmıştır. Pozitif boyanan 18 olgunun 11'i skor 2, 1'i skor 3, 4'ü skor 4, 2'si skor 5 olarak değerlendirilmiştir (Tablo-1).

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, olguların almış oldukları kombine skor ile histolojik grade (Tablo-2, p:0,78), klinik evre (Tablo-3, p:0,91) ve lenf nodu metastazı (Tablo-4, p:0,56) arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır.

Ayrıca olgular, D2-40 pozitif ve negatifliğine göre iki gruba ayrılarak grade (p:0,83), klinik evre (p:0,86) ve lenf nodu metastazı (p:0,73). açısından incelendiğinde, bu özellikler açısından da pozitif ve negatif gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

Kombine skor	0	2	3	4	5	TOPLAM
Olgu sayısı	42	11	1	4	2	60

Tablo-1: Kombine skora göre olguların dağılımı.

	Kombine Skor					Toplam
	0	2	3	4	5	
Grade I	15	2	1	1	1	20

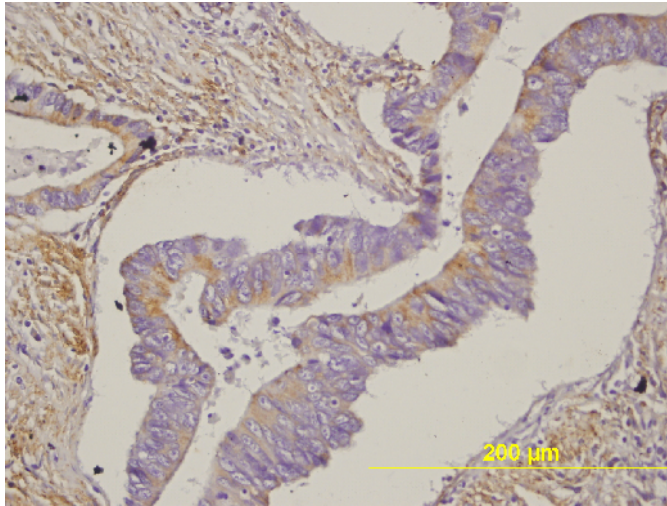
Tablo-2: Olguların D2-40 kombine skoru ve histolojik grade göre dağılımı

	Kombine Skor					Toplam
	0	2	3	4	5	
Evre I	4	1	0	0	0	5

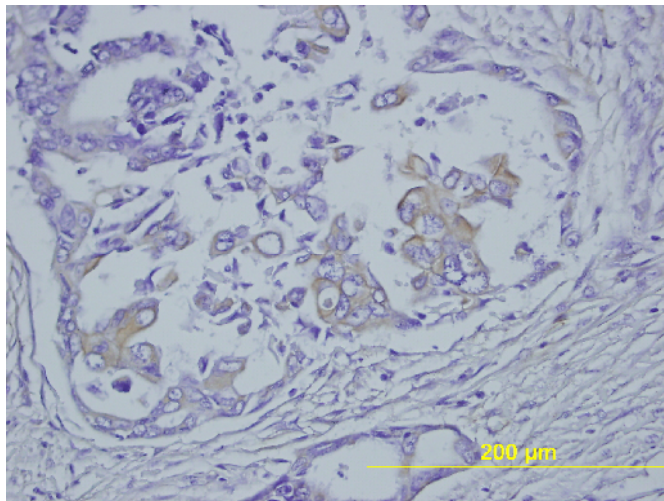
Tablo-3: Olguların D2-40 kombine skoru ve klinik evreye göre dağılımı

	Kombine Skor					Toplam
	0	2	3	4	5	
LN negatif	23	7	0	1	1	32

Tablo-4: Olguların D2-40 kombine skoru ve lenf nodu metastazına göre dağılımı



Şekil-1: Tümör hücrelerinde D2-40 ile pozitif ekspresyon (D2-40, x200)



Şekil-2: Tümör hücrelerinin bir kısmında D2-40 ile sitoplazmik boyanmanın yanı sıra membranöz boyanma izlenmektedir (D2-40, x400)

TARTIŞMA

Kolorektal karsinomlar başta Amerika Birleşik Devletleri, Avustralya, Yeni Zelanda ve Doğu Avrupa ülkeleri olmak üzere tüm dünyada görülmektedir (2). Amerika Birleşik Devletlerinde kanser nedenli ölümler arasında üçüncü sırada yer almaktadır (1). Başta diyet olmak üzere çevresel faktörler, hastanın yaşı, kolonda adenom varlığı, crohn hastalığı ve ülseratif kolit, aile öyküsü, pelvik bölgeye radyasyon uygulanması etyolojik nedenler arasında sayılabilir (4,14). Bu neoplaziler 7. ve 8. dekatta pik yapar. Kadın ve erkeği eşit oranda tutar (1,3). Kolorektal karsinomlarda histolojik grade, evre ve lenf nodu metastazı prognozu belirleyen önemli faktörler arasında yer alır (3).

D2-40, siyaloglikoprotein yapısında, 40 kDa ağırlığında monoklonal bir antikordur (15). D2-40'ın mezotelyal diferansiyasyonu ve lenfatik endoteli belirlemedeki önemini araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. (6,7,16). Deniz ve arkadaşlarının (6) yapmış olduğu çalışmada, membranöz immünreaktivitenin, malign mezotelyomanın pulmoner adenokarsinomlardan ayırımında önemli bir bulgu olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada epiteloid mezotelyoma olgularında immünreaktivitenin diğer alt tiplerden daha yüksek oranda olduğu belirtilmektedir. Ayrıca değişik organlarda yapılan çalışmalarda D2-40'ın lenfatik endoteli göstermede oldukça faydalı olduğu ve bu özelliği sebebi ile lenfatik tümör trombüslerinin ve lenfanjiogenezin belirlenmesinde kullanılabileceği gösterilmiştir (17-19).

Son yıllarda D2-40 ile lenfanjiogenezi göstermek ve malign mezotelyoma tanısını desteklemek amacıyla yapılan çalışmaların dışında, değişik tümörlerde de ayırıcı tanıdaki rolü araştırılmıştır. Bu neoplaziler arasında adrenokortikal tümörler, kondroid tümörler, folliküler dentritik hücreli sarkom, gastrointestinal stromal tümör, derinin çeşitli tümörleri ve santral sinir sistemi neoplazileri yer almaktadır. (11,12,20-23). Literatürde kolorektal adenokarsinomlarda, D2-40 kullanılarak yapılan sınırlı sayıda olgu içeren iki adet çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan biri Levy (9) ve arkadaşları tarafından derideki primer ve metastatik 20 adet müsinöz özellikteki adenokarsinomu içermektedir. Bu çalışmada incelenen kolon adenokarsinomları 5 adet olup, bunların hiçbirisinde D2-40 ile pozitif immünreaktivite izlenmemiştir. Diğer çalışmada ise Lin ve arkadaşları (10) overe metastaz yapmış toplam 15 adet müsinöz özellikteki kolorektal adenokarsinomda, olguların hiçbirisinde D2-40 ile pozitif reaksiyon saptamamışlardır. Bu iki çalışmanın ortak özelliği diğer organlara metastaz yapmış müsinöz kolon adenokarsinomlarını

içermesidir. Bizim çalışmamızda yer alan 60 olgunun tamamı WHO 2000 sınıflandırmasına göre adenokarsinom grubunda yer almakta olup, bu sınıflandırmada yer alan spesifik alt gruplara ait örnekler çalışma serimizde mevcut değildi. Olgularımızın 18'inde (%30) D2-40 ile değişen oranda immünreaktivite saptandı.

Literatürde çeşitli tümörlerde tanı ve ayırıcı tanıda D2-40 immünreaktivitesini araştıran yukarıda bir kısmı bahsedilen çok sayıda yayın olmasına karşın, D2-40'ın tümör hücrelerindeki pozitifliğinin prognostik önemini araştıran Kadota (13) ve arkadaşlarının yapmış olduğu tek bir yayın mevcuttur. Bu araştırmada akciğer karsinomlarında D2-40'ın kuvvetli pozitifliği, tümör diferansiyasyonu, tümör proliferasyonu ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur.

Sonuç olarak çalışmamızda kolon adenokarsinomlarında prognostik parametreler ile D2-40 immünreaktivitesi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak literatürde kolon karsinomlarında D2-40 immünreaktivitesi ile ilgili sınırlı sayıda olgu içeren az sayıda yayın mevcuttur. Ayrıca literatürde kolon adenokarsinomlarında D2-40'ın prognostik önemini içeren çalışma bulunmamaktadır. Bunun yanında çalışma serimiz kolon karsinomlarının diğer alt tiplerine ait olgular içermemektedir. Bu nedenlerle D2-40'ın kolon adenokarsinomlarındaki prognostik önemini araştıran geniş seri çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz .

KAYNAKLAR

- 1- Liu C, Crawford JM: The Gastrointestinal Tract. In Kumar V, Abbas AK, Fausto N (eds): Robbins Pathologic Basis of Diseases. Philadelphia W. B. Saunders Company. pp: 828–870, 2005.
- 2- Aykan NF: Kolon Kanseri. Türkiye Klinikleri J Med Oncol-Special Topics. 1(3): 1–9, 2008
- 3- Rosai J ; Gastrointestinal Tract In Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Vol I. New York . Elsevier Inc. pp: 776–855, 2004
- 4- Erarslan E, Türkay C: Kolorektal Kanseri Etiyolojisi ve Predispozan Faktörler. Güncel Gastroenteroloji. 11(1): 19–26, 2007
- 5- Banner BF, Whitehouse R, Baker SP, Swanson RS: Tumor angiogenesis in stage II colorectal carcinoma association with survival. Am J Clin Pathol. 109: 733-737, 1998
- 6- Deniz H, Kibar Y, Guldur ME, Bakir K: Is D2-40 a useful marker for distinguishing malignant mesothelioma from pulmonary adenocarcinoma and benign mesothelial proliferations? Pathol Res Pract. 205(11): 749-752, 2009
- 7- Bhalla R, Siddiqui MT, Mandich D, Cartun RW, Fiel-Gan MD, et al: Diagnostic utility of D2-40 and podoplanin in effusion cell blocks. Diagn Cytopathol. 35(6): 342-347, 2007
- 8- Saad RS, Lindner JL, Lin X, Liu YL, Silverman JF: The diagnostic utility of D2-40 for malignant mesothelioma versus pulmonary carcinoma with pleural involvement. Diagn Cytopathol. 34 (12): 801-806, 2006

- 9- Levy G, Finkelstein A, McNiff JM: Immunohistochemical techniques to compare primary vs. metastatic mucinous carcinoma of the skin. *J Cutan Pathol.* 37 (4): 411– 415, 2009
- 10- Lin X, Lindner JL, Silverman JF, Liu Y: Intestinal type and endocervical-like ovarian mucinous neoplasms are immunophenotypically distinct entities. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 16(5): 453-458, 2008
- 11- Nakamura Y, Kanemura Y, Yamada T, Sugita Y, et al: D2-40 antibody immunoreactivity in developing human brain, brain tumors and cultured neural cells. *Mod Pathol.* 19(7): 974-985, 2006
- 12- Browning L, Bailey D, Parker A: D2-40 is a sensitive and specific marker in differentiating primary adrenal cortical tumours from both metastatic clear cell renal cell carcinoma and pheochromocytoma. *J Clin Pathol.* 61(3): 293-296, 2008
- 13- Kadota K, Huang CL, Liu D, Nakashima N, Yokomise H, et al: The clinical significance of lymphangiogenesis and angiogenesis in non-small cell lung cancer patients. *Eur J Cancer.* 44(7): 1057-1067, 2008
- 14- Wei EK, Giovannucci E, Wu K, Rosner B, Fuchs CS, et al: Comparison of risk factors for colon and rectal cancer. *Int J Cancer.* 111(5): 809-810, 2004
- 15- Goma AH, Yaar M, Bhawan J: Cutaneous immunoreactivity of D2-40 antibody beyond the lymphatics. *Am J Dermatopathol.* 29: 18–21, 2007
- 16- Hinterberger M, Reineke T, Storz M, Weder W, Vogt P, Moch H: D2-40 and calretinin - a tissue microarray analysis of 341 malignant mesotheliomas with emphasis on sarcomatoid differentiation. *Mod Pathol.* 20(2): 248-255, 2007
- 17- Saad RS, Kordunsky L, Liu YL, Denning KL, Kandil HA, et al: Lymphatic microvessel density as prognostic marker in colorectal cancer. *Mod Pathol.* 19: 1317–1323, 2006
- 18- Xuan M, Fang YR, Wato M, Hata S, Tanaka A: Immunohistochemical co-localization of lymphatics and blood vessels in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med.* 34: 334–339, 2005
- 19- Gao J, Knutsen A, Arbmán G, Carstensen J, Franlund B, Sun XF: Clinical and biological significance of angiogenesis and lymphangiogenesis in colorectal cancer. *Digestive and Liver Disease.* 41: 116–122, 2009
- 20- Daugaard S, Christensen LH, Hogdall E: Markers aiding the diagnosis of chondroid tumors: an immunohistochemical study including osteonectin, bcl-2, cox-2, actin, calponin, D2-40 (podoplanin), mdm-2, CD117 (c-kit), and YKL-40. *APMIS.* 117(7): 518-525, 2009
- 21- Xie Q, Chen L, Zheng ZD, Song FL, Liu DW: Podoplanin (d2-40): a new immunohistochemical marker for reactive follicular dendritic cells and follicular dendritic cell sarcomas. *Int J Clin Exp Pathol.* 1 (3): 276-284, 2008
- 22- Kuroda N, Tanida N, Oonishi K, Inoue K, Ohara M. et al: Significance of D2-40 expression in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumor. *Med Mol Morphol.* 41(2): 109-112, 2008
- 23- Ishida M, Kushima R, Okabe H: Immunohistochemical demonstration of D2-40 in basal cell carcinomas of the skin. *J Cutan Pathol.* 35(10): 926-930, 2008