

Malign Mezotelyoma ile Reaktif Mezotelyal Hiperplazi Ayrımında, Effüzyon Materyallerinde GLUT-1, CD147 ve Proexc'nin Tanısal Değeri

Diagnostic Value of GLUT-1, CD147, Proexc in the Differential Diagnosis Between Malign Mesothelioma and Reactive Mesothelial Hyperplasia in Effusion Materials

Tolga BAĞLAN¹, Nural ONARAN ERDOĞAN²

¹Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Sitoloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Sitoloji Bilim Dalı (Emekli Öğretim Üyesi) Ankara, Türkiye

Amaç: Effüzyon materyallerinde malign mezotelyoma (MM) ile reaktif mezotelyal hiperplazi (RMH) ayırıcı tanısı önemli bir sorundur. Bu sorunun çözümü için immünohistokimyasal antikorlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, MM'yi RMH'den ayırt etmede GLUT-1, CD147 ve ProExC'nin tanısal değerini belirlemektir.

Gereç ve Yöntemler: İmmünohistokimyasal çalışma, klinik ve histopatolojik korelasyonu olan 26 MM olgusu ile 26 RMH olgusuna ait hücre bloğu kesitlerinden yapıldı. Antikorlar; boyanma yüzdesi ve boyanma şiddetine göre semi kantitatif olarak değerlendirildi. Her bir antikorun tek başına ve kombine tanısal performansları hesaplandı.

Bulgular: GLUT-1 ile 26 MM olgusunun 25'inde (%96.1), 26 RMH olgusunun ise 6'sında (%23) immünohistokimyasal ekspresyon izlendi. MM ve RMH olguları arasında GLUT-1 ile boyama yüzdesi ve yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0.001$). MM ve RMH olgularının tümünde CD147 ile pozitiflik saptandı. CD147 ile MM ve RMH olguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. ProExC'nin ortalama boyanma yüzdesi, MM olgularında %14, RMH olgularında ise %3.5 bulundu ($p<0.001$). MM'yi RMH'den ayırt etmede ProExC'nin en iyi kesim değeri %7 olarak hesaplandı.

Sonuç: GLUT-1, MM'nin RMH'den ayırıcı tanısını sağlayan duyarlı ve özgül bir immünohistokimyasal belirteçtir. ProExC, MM'yi RMH'den ayırmada faydalı olabilir. CD147 ise MM ile RMH'nin ayırıcı tanısında yararlı değildir.

Anahtar Kelimeler: PGLUT-1, CD147, ProExC, Mezotelyoma, Effüzyon, İmmünohistokimya

Abstract

Objective: The differential diagnosis of malignant mesothelioma (MM) and reactive mesothelial hyperplasia (RMH) is an important problem in effusion materials. Immunohistochemical antibodies are widely used to solve this problem. The purpose of this study is to determine the diagnostic value of GLUT-1, CD147 and ProExC in distinguishing MM from RMH.

Material and Methods: Immunohistochemical studies were performed on cell block sections from 26 cases of clinic and histopathologic confirmed MM and 26 RMH. The antibodies were evaluated semi-quantitatively based on the percentage and intensity of staining. The diagnostic performance of each antibody alone and combined was calculated.

Results: Immunohistochemical GLUT-1 expression was seen in 25 of 26 (96.1%) MM and in 6 of 26 (23%) RMH. There was statistically significant difference between MM and RMH cases in terms of the percentage and intensity of staining with GLUT-1 ($p<0.001$). CD 147 was found positive in %100 of MM cases and RMH cases. There was not statistically significant difference between MM and RMH cases with CD147. The mean staining percentage of ProExC was found 14% in MM cases and 3.5% in RMH cases ($p<0.001$). The best cut-off value of ProExC in distinguishing MM from RMH was calculated as 7%.

Conclusion: GLUT-1 is a sensitive and specific immunohistochemical marker enabling differential diagnosis of MM from RMH. ProExC can be useful in differentiating MM from RMH. CD147 is not useful in the differential diagnosis of MM and RMH.

Keywords: GLUT-1, CD147, ProExC, Mesothelioma, Effusion, Immunohistochemistry

Yazışma Adresi: Tolga BAĞLAN, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Kampüsü, Dekanlık Binası (Taş Bina), Sitoloji Bilim Dalı, Adnan Saygun Caddesi, Altındağ, Ankara, Türkiye

Telefon: 05053119224, Mail:tbaglan06@gmail.com

ORCID No (Sırasıyla): 0000-0003-0520-541, 0000-0003-2704-1307

Geliş tarihi: 23.01.2021

Kabul tarihi: 31.01.2021

DOI: 10.17517/ksutfd.866929

GİRİŞ

Malign Mezotelyoma (MM) seröz zarları döşeyen, mezotelyal hücrelerden köken alan agresif bir tümördür. Olguların yaklaşık %80'i plevrada, diğerleri ise periton, perikard ve tunika vajinalis'de izlemektedir. İlk kez 1960'da Wagner ve arkadaşları tarafından Güney Afrikada asbest maruziyeti ile MM arasında ilişki tanımlanmıştır (1). Asbest ana etyolojik faktör olmakla birlikte, ülkemizde erionit (fibröz zeolit) olarak bilinen fibröz mineral lif, İç Anadolu, Doğu ve Güney Doğu Anadolu bölgelerinde MM epidemisine yol açmaktadır. Özellikle İç Anadolu bölgesinde asbest ilişkili MM insidansı milyonla 50 olarak bildirilirken, bu oran erionit ilişkili MM'de milyonda 2200-8000'e ulaşmaktadır (2).

Malign mezotelyal hücrelerin monoton sitomorfolojik özelliklere sahip olması ve doku invazyonunun effüzyon materyallerinde değerlendirilememesi, effüzyon materyallerinde MM tanısındaki en önemli sorunlardır. Ayrıca reaktif mezotelyal proliferasyonun belirgin sitolojik atipi gösterebilmesi de bu sorunu büyütülmektedir. MM tanısında sitolojinin duyarlılığı diğer maligniteler ile karşılaştırıldığında oldukça düşük kalmakta ve %32-53 arasında değişmektedir (3). Sitolojik yaymalar ve hücre bloğu (HB) materyallerine uygulanabilen histokimyasal, immünohistokimyasal (İHK) ve moleküler yöntemler doğru tanı olasılığını önemli ölçüde arttırmaktadır. Epitelial membran antijen (EMA), glikoz transporter (GLUT)-1, IMP3, p53 ve Desmin gibi İHK belirteçlerin kombine kullanımı ile MM ile Reaktif Mezotelyal Hiperplazi (RMH) ayırımında yüksek tanısal doğruluk oranlarına ulaşılmıştır (4-7).

GLUT-1; glukozun hücre içine sodyum bağımlı olarak taşınmasını sağlayan bir membran proteinidir. GLUT-1 çoğu normal dokuda ve benign tümörlerde tespit edilemeyecek düzeydedir. Tümör hücreleri ise enerji ihtiyaçları karşılamak ve hücre içine glukoz girişini kolaylaştırmak için adaptif cevap olarak GLUT-1 başta olmak üzere GLUT ailesi proteinlerinin ekspresyonunu arttırmırlar. MM'inde içinde olduğu pek çok tümörde GLUT-1 ekspresyonunda artış tespit edilmiştir. Özellikle MM ile RMH ayırımında tek başına veya diğer belirteçler ile kombine olarak en yaygın kullanılan İHK belirteçlerdir.

CD 147 (EMMPRIN/Basigin) immünglobülin süperaillesinin bir üyesi olan adezyon molekülüdür. CD 147 hücrede bulunan monokarboksilat taşıyıcı proteinler, integrinler, siklofilinler ve caveolin-1 gibi proteinler ile kompleks bağlantılar oluşturarak, bazal membran oluşumu, hücre adezyonu, anjiogenezis, matriks mettaloproteinaz (MMP) üretimi ve kemotaksis gibi farklı süreçlerde düzenleyici rol oynayan membrana bağlı bir glikoproteindir. Kanser hücrelerinden ve fibroblastlardan MMP-1, MMP-3, MMP-9 ve membran tip 1-MMP salgılanmasını kolaylaştırarak bazal membranın ve ekstrasellüler matriksin degradasyonuna yol açar ve böylece tümör proliferasyonu, invazyonu ve metastazında önemli rol oynar. Ayrıca tümör hücreleri yanıra tümör stromal hücrelerde vasküler endotelial büyüme faktörü düzeyini arttırarak anjiogenezisin devamını sağlar. CD147'nin birçok solid tümörde ekspresyonunun artmış olduğu gösterilmiştir (8).

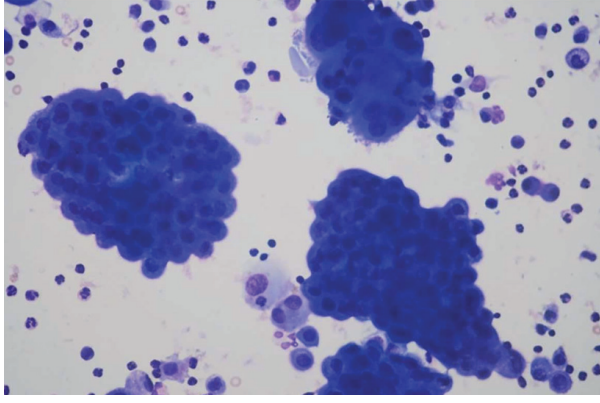
ProExC; topoizomeraz II alfa (TOP2A) ve minichromosome maintenance protein 2 (MCM2)'ye karşı monoklonal antikorlar içeren kokteyl İHK belirteçlerdir. Hücre siklusu S-faz gen ürünleri olan bu proteinler, DNA replikasyonu, transkripsiyonu, kromozomların ayrılması ve hücre siklusunun ilerlemesinde görev alırlar. TOP2A; DNA çift sarmalının her iki zincirini kesebilen ve yeniden birleştirebilen 170 kDa ağırlığında bir enzimdir. Hücre siklusunda geç S, G2 ve M fazında eksprese olur. MCM2 ise G1'den S fazına geçişte, DNA sentezinin başlamasında etkili olan MCM ailesi proteinlerinden biridir. Bu hücre siklusu S-faz gen ürünlerinin neoplastik hücreler ve HPV ile enfekte hücrelerde nükleusta aşırı eksprese oldukları gösterilmiştir (9).

Son yıllarda moleküler yöntemlerdeki gelişmeler, MM'deki genetik değişiklikleri anlamamızı sağlamıştır. Özellikle 9p21 lokalizasyonundaki CDKN2A/p16, CDKN2B/p15, Methyladenozin fosforilaz (MTAP) ve 3p21'de lokalize BRCA-1 ilişkili protein-1 (BAP1) gibi tümör baskılayıcı genlerde saptanan delesyon, mutasyon ve yapısal yeniden düzenlenmelerin MM'deki temel genetik değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Floresan in-situ hibridizasyon (FISH) yöntemi ile CDKN2A/p16 homozigot delesyonunun ve İHK ile BAP-1, MTAP ekspresyon kaybının gösterilmesi, duyarlılık seviyeleri istenilen düzeyde olmasa bile %100 özgüllük oranı ile MM tanısını koydurabilmektedir (10,11,12). Bu belirteçlerin kombine kullanımı MM tanısında duyarlılığı önemli ölçüde arttırmaktadır (13). Ancak FISH yönteminin pahalı olması, CDKN2A/p16 homozigot delesyonu, BAP-1, MTAP'ın İHK olarak ekspresyon kaybını değerlendirmedeki zorluklar ve delesyon/ekspresyon kaybı için kesim değerlerinin belirlenmemiş olması nedeni ile yeni ve güvenilir belirteçlere ihtiyaç devam etmektedir. Biz bu çalışmamızda effüzyon materyallerinden elde ettiğimiz hücre bloklarında, GLUT-1, CD 147 ve ProExC'nin tek tek ve kombine kullanımının MM ile RMH ayırımındaki tanısal değerini araştırdık.

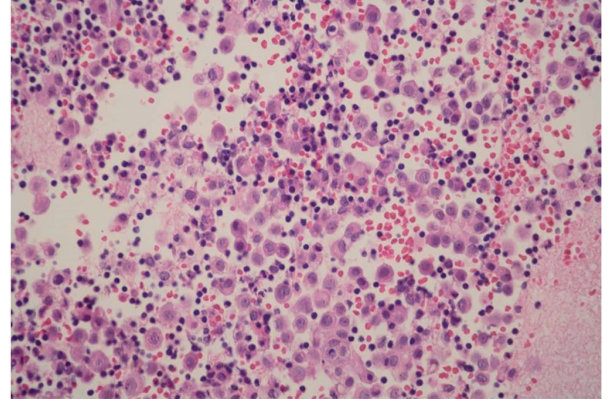
GEREÇ ve YÖNTEMLER

Olguların Seçimi

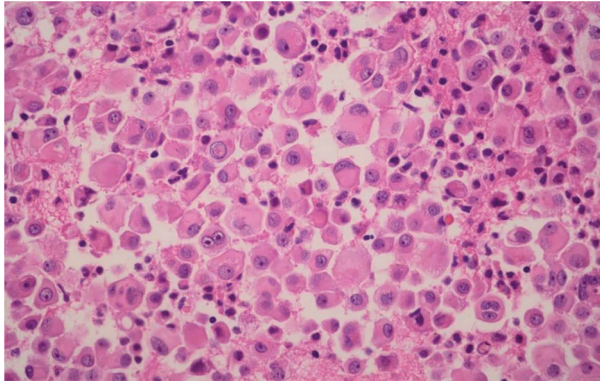
Bu çalışmanın etik kurul onayı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 07.10.2013 tarih ve 15-583-13 sayı numarası ile alınmıştır. Çalışmaya; Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Sitoloji Bilim Dalı'na, Ocak 2006 ile Haziran 2011 yılları arasında gelen effüzyon materyallerinden, klinikopatolojik korelasyonu ve hücre bloklarında yeterli tümör hücresi bulunan 26 MM olgusu ile herhangi bir malignite bulgusu olmayan, hücre blokları yeterli sellüleriteye sahip 26 RMH olgusu dahil edildi. Olguların sitolojik yaymaları, Hematoksilin Eozin (HE) boyalı HB kesitleri, İHK bulguları ve HB'e ait parafin bloklar gözden geçirildi (**Resim 1a-d**). 26 MM olgusunun 8'inin (%30.7) doku tanısı (6 olgu epitelooid MM, 2 olgu bifazik MM) mevcuttu. Doku tanısı olmayan 18 olgu, klinik ve radyolojik bulguları ile MM kabul edilip tedavi altına alınmıştı. On sekiz olgunun 3'ü klinik takipleri sırasında çok kısa süre (5 gün-1.5 ay) içinde kaybedilmişti.



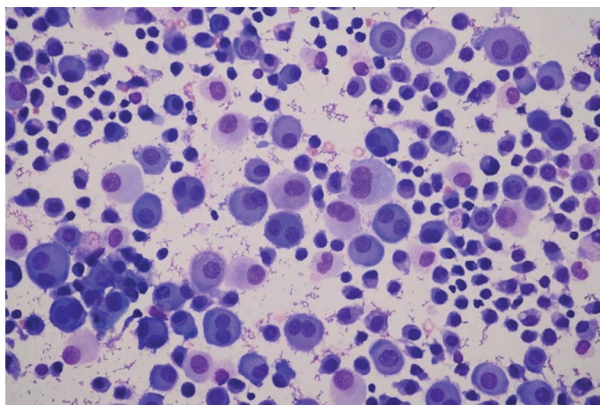
Resim 1a. Malign Mezotelyoma olgusunda, çok sayıda, böğürtlen benzeri geniş tabakalar oluşturan veya izole diskoheziv hücreler halinde, yuvarlak, santral/parasantal yerleşimli nükleuslara sahip, geniş siyanofilik sitoplazmalı atipik mezoteloid hücreler izlenmektedir (May-Grünwald Giemsa X200)



Resim 1d. Reaktif mezotelyal hiperplazisi olgusunda ait hücre bloğu kesitinde, kan-fibrin kitlesi içinde, küçük tabakalar veya izole diskoheziv hücreler halinde, belirgin küçük nükleollere sahip mezoteloid hücreler ve bu hücrelere eşlik eden lenfositler görülmektedir (Hematoksilen-Eozin X200).



Resim 1b. Malign Mezotelyoma olgusuna ait hücre bloğu kesitinde, izole diskoheziv hücreler halinde, yuvarlak-oval nükleuslu, makronükleollere sahip, geniş eozinofilik sitoplazmalı atipik mezoteloid hücreler izlenmektedir. Atipik mezoteloid hücrelerde binükleasyon/multinükleasyon dik-kati çekmektedir. (Hematoksilen-Eozin X200)



Resim 1c. Reaktif mezotelyal hiperplazi olgusunda, izole diskoheziv hücreler halinde, yuvarlak santral/parasantal yerleşimli nükleuslu, belirgin küçük nükleollü, binükleasyonlar gösteren, proliferen mezotelyal hücreler izlenmektedir. Arada lenfositler ve seyrek makrofajlar göze çarpmaktadır (May-Grünwald Giemsa X200).

İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimyasal çalışma, GLUT-1 (Cell Marque; Rabbit Polyclonal; dilüsyon 1:100), CD 147 (Santa Cruz; 8D6; dilüsyon 1/125) ve ProExC (Tripath Imaging; MCM 2: 26H6.19, MCM2: 27C5.6, TOP2A:SWT3D1; kullanıma hazır) antikorları, uygun pozitif kontroller eşliğinde, Ventana Ultraview Dab Detection Kit kullanılarak, İHK otomatik boyama makinasında (Ventana Benchmark XT, Roche Diagnostic) yapıldı. GLUT-1 ve CD147 için %1 ve üzeri membranöz boyanmalar, ProExC için ise %1 ve üzeri nükleer boyanmalar pozitif kabul edildi. GLUT-1 ve CD147 için pozitif kabul edilen olgular, boyanma yüzdesine göre %10'un altı +1, %10-50 +2 ve %50'in üzeri +3 olacak şekilde semikantitatif olarak skorlandı. Boyanma izlenmeyen veya sitoplazmik boyanan olgular skor 0 olarak kabul edildi. Bu antikorlar ile boyanma şiddeti ise semikantitatif olarak 0/+1 (zayıf), +2 (orta) ve +3 (şiddetli) olarak skorlandı.

ProExC için RMH ve MM olgularında en az 500 reaktif ve malign mezotel hücre sayılıp, nükleer boyanma gösteren hücre yüzdesi hesaplandı. MM olgularının 3'ünde, RMH olgularının ise 2'sinde yeterli hücre sayısına ulaşamadığı için bu olgular değerlendirme dışı bırakıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel verilerin analizi için SPSS 11.5 paket programı kullanıldı. Kategorik değişkenler Pearson'un Ki-kare, Fisher'in kesin sonuçlu Ki-kare testi ile değerlendirildi. MM ve RMH ayırımında ProExC'nin değeri ROC analizi ile eğri altında kalan alan hesaplanarak belirlendi. Bu belirteçlerin MM ile RMH'yi ayırt etmede birlikte etkileri Çoklu Değişkenli Lojistik Regresyon analizi ile değerlendirildi. Her bir belirteç için Odds oranı ve %95 güven aralığı hesaplandı. P<0.05 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

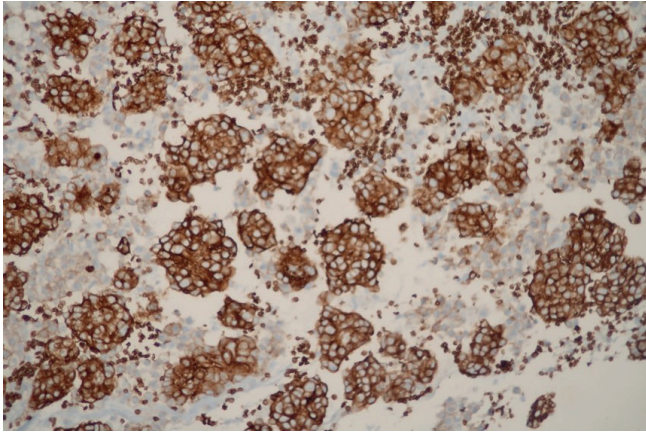
Çalışmaya dahil edilen 26 MM olgusu ile 26 RMH olgusu arasında yaş, cinsiyet ve lokalizasyon açısından istatistiksel

olarak anlamlı fark saptanmadı (**Tablo 1**). 26 MM olgusunun 25'inde (%96.1) GLUT-1 ile pozitiflik izlendi (**Resim 2a-c**). Pozitiflik izlenen 25 olgunun 14'ünde (%53.8) boyanma yüzdesi +3, 8'inde (%30.8) +2 ve 3'ünde (%11.5) ise +1'idi. 26 RMH olgusunun ise 6'sında (%23) GLUT-1 ile pozitiflik saptandı. 6 olgunun 1'inde (%3.8) boyanma yüzdesi +2, 5'inde (%19.2) ise +1'di.

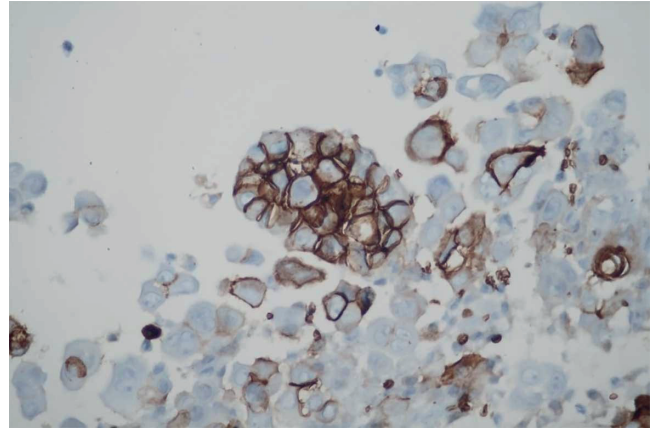
MM ile RMH ayırımında GLUT-1 boyanma yüzdesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.001$). GLUT-1 ile boyanma şiddetleri karşılaştırıldığında, GLUT-1 pozitif 25 MM olgusunun 22'sinde (%88) skor +3, 3'ünde (%12) ise skor +1'di. RMH tanılı 6 olgunun ise 5'inde (%83.3) skor +1, 1'inde (%16.7) ise skor +2'idi. MM ile RMH ayırımında GLUT-1 boyanma şiddetine göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.001$) (**Tablo 1**). GLUT-1'in boyanma yüzdesi ve boyanma şiddetine göre duyarlılığı %84.6, seçiciliği %96.2, pozitif tahmin değeri (PTD) %95.6 ve negatif tahmin değeri (NTD) ise %86.2'idi (**Tablo 2**).

CD147 ile MM ve RMH olgularının tümünde pozitiflik izlendi (**Resim 3a,b**). MM olgularının 20'sinde (%76.9) boyanma yüzdesi +3, 5'inde (%19.2) +2 ve 1'inde (%3.9) ise +1'idi. RMH olgularının ise 13'ünde (%50) boyanma yüzdesi +3, 9'unda (%34.6) +2 ve 4'ünde (%15.4) ise +1'idi. MM ile RMH ayırımında boyanma yüzdesine göre istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0.101$). CD147 ile boyanma şiddetleri karşılaştırıldığında, 26 MM olgusunun 23'ünde (%88.5) skor +3, 2'sinde (%7.7) skor +2 ve 1'inde (%3.8) ise skor +1'di. RMH olgularının 17'sinde (%65.4) skor +3, 3'ünde (%11.5) skor +2 ve 6'sında (%23.1) ise skor +1'idi. MM ile RMH ayırımında boyanma şiddetine göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.079$) (**Tablo 1**). CD147'nin boyanma yüzdesi ve boyanma şiddetine göre duyarlılığı %76.9, %88.5, seçiciliği %50, %34.6, PTD %60.6, %57.5 ve NTD ise %68.4, %75'di (**Tablo 2**).

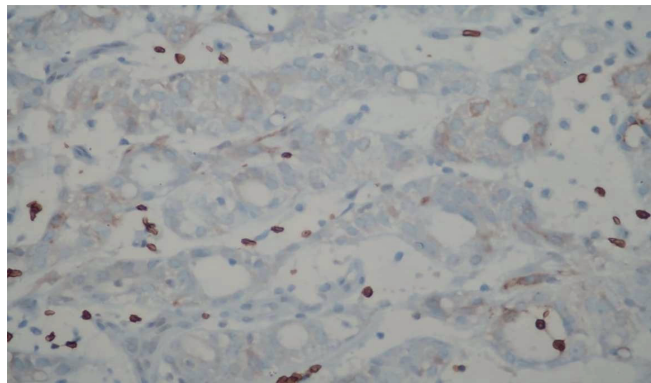
ProExC ile 23 MM olgusunun 23'ünde (%100), 24 RMH olgusunun 23'ünde (%95.8) pozitiflik izlendi (**Resim**



Resim 2a. GLUT-1 antikoruna karşı diffüz kuvvetli membranöz pozitiflik gösteren malign mezotelyoma olgusu (İmmünohistokimya X200)



Resim 2b. GLUT-1 antikoruna karşı fokal kuvvetli membranöz pozitiflik gösteren malign mezotelyoma olgusu (İmmünohistokimya X200)

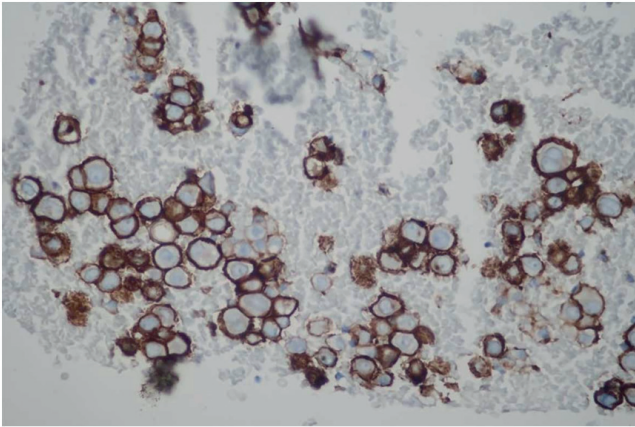


Resim 2c. GLUT-1 antikoruna karşı immünohistokimyasal reaksiyon saptanmayan malign mezotelyoma olgusu. Zemine pozitif kontrol olarak eritrositlerde immünohistokimyasal pozitiflik izlenmektedir (İmmünohistokimya X200).

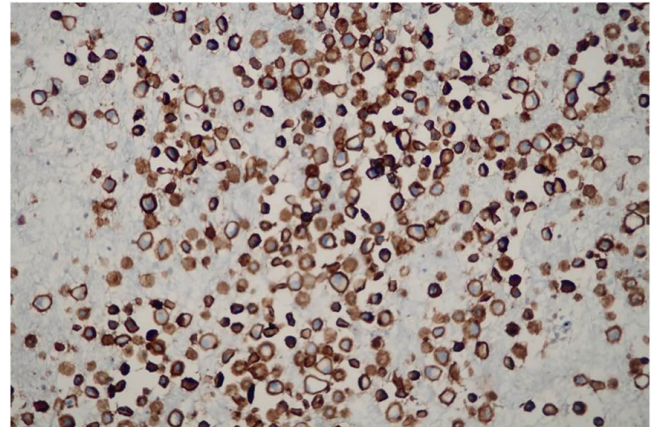
Tablo 1. MM ile RMH ayırımında GLUT-1, CD147 ve ProExC'nin tanısal performans sonuçları.

	GLUT-1		CD147		ProExC
	BY	BŞ	BY	BŞ	BY >%7
Duyarlılık	%84.6	%84.6	%76.9	%88.5	%87
Seçicilik	%96.2	%96.2	%50	%34.6	%75
PTD	%95.7	%95.7	%60.6	%57.5	%76.9
NTD	%86.2	%86.2	%68.4	%75	%85.7
Odds oranı (%95 güven aralığı)	14. 298 (3.67-55.7)	10.101 (3.1-32.93)	2.603 (1.01-6.66)	2.648 (1.01-6.91)	20.00 (4.35-91.92)
p değeri	<0.001	<0.001	<0.046	<0.047	<0.001

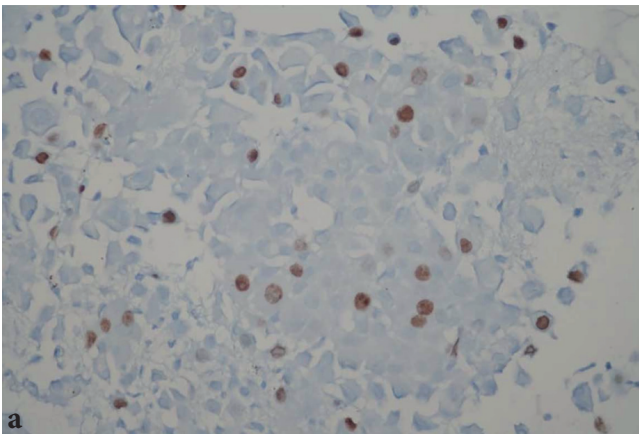
BY: Boyanma Yüzdesi, BŞ: Boyanma Şiddeti, PTD: Pozitif Tahmin Değeri, NTD: Negatif Tahmin Değeri.



Resim 3a. CD147 antikoruna karşı difüzyonlu ve güçlü membranöz pozitiflik gösteren malign mezotelyoma olgusu (İmmünohistokimya X200).



Resim 3b. CD147 antikoruna karşı difüzyonlu ve güçlü membranöz pozitiflik gösteren reaktif mezotelyal hiperplazi olgusu (İmmünohistokimya X200).



Resim 4a-b. ProExC antikoruna karşı değişken oranlarda nükleer pozitiflik gösteren malign mezotelyoma olguları (İmmünohistokimya X200).

4a,b). MM olgularında ProExC ile en düşük boyanma yüzdesi %2'iken, en yüksek %32'idi (ortalama %14). RMH olgularında ise en düşük boyanma yüzdesi %0, en yüksek %20'idi (ortalama %3.5). MM olgularında ortalama ProExC boyanma yüzdesi RMH olgularına göre daha yüksek olup iki grup

arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). ProExC'ye ilişkin ROC eğrisi altında kalan alan 0.865'di (%95 Güven aralığı: 0.761-0.969). MM ile RMH'i ayırt etmede ProExC'ye ait en iyi kesim noktası %7 olarak saptandı. En iyi kesim noktasına göre ProExC'nin duyarlılığı %87, seçiciliği %75, PTD %76.9, NTD %85.7'idi (**Tablo 2**).

TARTIŞMA

Effüzyon materyallerinde MM ile RMH ayrımı için EMA, Desmin, GLUT-1, p 53, IMP-3, P-glikoprotein ve Bcl-2 gibi immünohistokimyasal belirteçler kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda kullandığımız GLUT-1'in cerrahi ve effüzyon materyallerinden yapılan çalışmalarda, MM ile RMH ayrımında duyarlılığı %40-100, seçiciliği ise %80-100 arasında değişmektedir (14,15, 16). Çalışmalardaki bu farklı sonuçların antiklon klonları, dilüsyonlar, antijen retrieval metodları ve pozitif/negatif ayrımındaki kesim değeri farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca hemorajik nitelikteki effüzyon materyallerinde yaygın eritrosit pozitifliğinin GLUT-1 ekspresyonunu değerlendirmeyi zorlaştırdığı belirtilmektedir (17). Bizim çalışmamızda GLUT-1 ile 26 MM olgusunun 25'inde, 26 RMH olgusunun ise sadece 6'sında pozitiflik saptadık. MM olgularında GLUT-1 ile daha yaygın ve kuvvetli membranöz pozitiflik izlerken, RMH olgularında fokal ve zayıf GLUT-1 pozitifliği gözledik. MM ve RMH ayrımında GLUT-1'in duyarlılığını %84.6, seçiciliği ise %96.2 olarak hesapladık. Ayrıca hemorajik hücre bloğu materyallerinde yaygın eritrosit pozitifliğinin GLUT-1 ekspresyonunu değerlendirmeyi güçleştirdiğini gördük. GLUT-1 için elde ettiğimiz sonuçlar literatür ile uyumlu olup GLUT-1'in MM ile RMH ayrımında duyarlı ve seçici bir belirteç olduğu görülmektedir.

CD147'nin kolorektal karsinom, endometriyal karsinom, serviks karsinomu ve meme karsinomu gibi çok sayıda tümörde ekspresyonunun artmış olduğu ve artmış CD147 ekspresyonu ile kötü prognoz arasında ilişki olduğu bildirilmektedir (8). Aratake ve ark. tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisi yaymaları ve cerrahi rezeksiyon materyallerinden yaptıkları çalışmada CD147'nin differansiyasyon kaybı gösteren tiroid kanserlerinde, differansiye tiroid karsinomlarına göre daha yüksek ekspresyon gösterdiğini belirtmişlerdir (18). Bir başka çalışmada folliküler karsinomlarda, adenomlara göre CD147'nin ekspresyonunun önemli ölçüde artmış olduğu gösterilmiştir (19). Chen ve ark. primer kutanöz malign melanoma olgularında yüksek CD147 ekspresyonu ile artmış tümör kalınlığı ve yüksek Clark seviyesi ile anlamlı ilişki bulmuşlardır (20). MM ile RMH ayrımında Pinherio ve ark. yaptıkları çalışmada 9 MM olgusunun 8'inde (%90), 11 RMH olgusunun ise 1'inde (%9) CD147 ve GLUT-1 ekspresyonu bildirmektedir (21). Bu ayırımı CD147 ve GLUT-1'in duyarlılığını %88.8, seçiciliği ise %90.9 bulmuşlardır. Ayrıca CD147'nin GLUT-1'den farklı olarak eritrositlerde ekspresyon göstermediği için immünohistokimyasal değerlendirmenin daha kolay olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise MM olgularında CD147'nin boyanma yüzdesi ve boyanma şiddeti RMH olgularına göre artış göstermekle birlikte bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulmadık. Çalışmamızda CD147'nin boyanma yüzdesi ve şiddetine göre duyarlılığı ve seçiciliği sırası ile %76.9, %50 ve %88.5, %34.6'dı. İki çalışma

arasındaki farkın CD147'nin farklı klonlarına bağlı olabileceğini ve CD147'nin MM ile RMH ayrımındaki değerinin anlaşılabilmesi için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

ProExC'in özellikle yüksek dereceli servikal intraepitelyal lezyonlarında yüksek oranda eksprese olduğu gösterilmiştir (22). Wang ve ark. ise özefagus biyopsi ve rezeksiyon materyallerinden yaptıkları çalışmada ProExC'nin %93.3 duyarlılık, %96.2 seçicilik ile skuamöz intraepitelyal neoplaziyi, hiperplastik/normal özefagus mukozasından ayırt edebileceğini belirtmişlerdir (23). Moatamed ve ark. benign ve malign tanısı alan idrar materyellerinden yaptıkları çalışmada benign, malign ayrımında ProExC'nin duyarlılığını %92.3, seçiciliğini ise %100 bulmuşlardır. Aynı çalışmada atipik tanısı alan 35 olguda ise ProExC'nin duyarlılığı %70.8, seçiciliği ise %90.9'dur (24). Kimura ve ark. ise effüzyon materyallerinde MCM7, TOP2A ve Ki-67 antiklonlarını kullanarak yaptıkları çalışmada, MM ile RMH ayrımında en iyi kesim değerini MCM7 ve Ki-67 için %30, TOP2A için %15 bulmuşlardır. Bu kesim değeri dikkate alındığında TOP2A'nın duyarlılığını %89.3, seçiciliği ni %92.9, MCM7'nin duyarlılığı ve seçiciliğini %100, Ki-67'in ise duyarlılığını %64.3, seçiciliğini ise %92.9 bulmuşlardır. Özellikle MCM7 ve TOP2A'nın MM ile RMH ayrımında güvenilir belirteçler olduğunu belirtmişlerdir (25). Hücre proliferasyon belirteçleri Ki-67, TOP2A, MCM7 ve Geminin ile yapılan bir başka çalışmada ise TOP2A'nın kesim değeri %11 olarak alındığında duyarlılığı %88, seçiciliği ise %92, MCM7'nin kesim değeri %20 olarak alındığında ise duyarlılığı ve seçiciliğini %100 bulunmuştur (26).

Bizim çalışmamızda ise ProExC'nin kesim değeri %7 olarak alındığında duyarlılığı %87, seçiciliği ise %75'idi. Çalışmamızda ProExC için elde ettiğimiz duyarlılık düzeyi literatürde TOP2A için elde edilen duyarlılık düzeyi ile uyumludur. Seçiciliğinin ise daha düşük düzeyde kaldığı görülmüştür.

Çalışmamız MM ile RMH ayrımında GLUT-1, CD147 ve ProExC'nin birlikte kullanıldığı literatürdeki ilk çalışmadır. Sonuçlarımız GLUT-1'in MM ile RMH ayrımında hem tek başına hem de ProExC ile birlikte yararlı bir belirteç olduğunu göstermektedir. ProExC'nin ise tek başına MM ile RMH ayrımında tanısal performans düzeyinin orta derecede başarılı olduğunu ve İHK paneline eklenme potansiyeli olduğunu düşünmekteyiz. CD147 ise bu ayırımı yarar sağlamamıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 13L3330007 proje numarası ile desteklenmiştir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit katkı sağlamış olduklarını beyan ederler

KAYNAKLAR

1. Wagner JC, Sleggs CA, Marchand P. Diffuse pleural mesothelioma and asbestos exposure in the North Western Cape Province. *Br J Ind Med.* 1960 Oct;17(4):260-271.
2. Dikensoy O. Mesothelioma due to environmental exposure to erionite in Turkey. *Curr Opin Pulm Med.* 2008 Jul;14(4):322-325.
3. Lepus CM, Vivero M. Updates in Effusion Cytology. *Surg Pathol Clin.* 2018 Sep;11(3):523-544.
4. Lee AF, Gown AM, Churg A. IMP3 and GLUT-1 immunohistochemistry for distinguishing benign from malignant mesothelial proliferations. *Am J Surg Pathol.* 2013 Mar;37(3):421-426.
5. Chang S, Oh MH, Ji SY, Han J, Kim TJ, Eom M et al. Practical utility of insulin-like growth factor II mRNA-binding protein 3, glucose transporter 1, and epithelial membrane antigen for distinguishing malignant mesotheliomas from benign mesothelial proliferations. *Pathol Int.* 2014 Dec;64(12):607-612.
6. Attanoos RL, Griffin A, Gibbs AR. The use of immunohistochemistry in distinguishing reactive from neoplastic mesothelium. A novel use for desmin and comparative evaluation with epithelial membrane antigen, p53, platelet-derived growth factor-receptor, P-glycoprotein and Bcl-2. *Histopathology.* 2003 Sep;43(3):231-238.
7. Hasteh F, Lin GY, Weidner N, Michael CW. The use of immunohistochemistry to distinguish reactive mesothelial cells from malignant mesothelioma in cytologic effusions. *Cancer Cytopathol.* 2010 Apr 25;118(2):90-96.
8. Xin X, Zeng X, Gu H, Li M, Tan H, Jin Z et al. CD147/EMMPRIN overexpression and prognosis in cancer: A systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2016 Sep 9;6:32804.
9. Guo M, Baruch AC, Silva EG, Jan YJ, Lin E, Sneige N et al. Efficacy of p16 and ProExC immunostaining in the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2011 Feb;135(2):212-220.
10. Kinoshita Y, Hida T, Hamasaki M, Matsumoto S, Sato A, Tsujimura T et al. A combination of MTAP and BAP1 immunohistochemistry in pleural effusion cytology for the diagnosis of mesothelioma. *Cancer Cytopathol.* 2018 Jan;126(1):54-63.
11. Cozzi I, Oprescu FA, Rullo E, Ascoli V. Loss of BRCA1-associated protein 1 (BAP1) expression is useful in diagnostic cytopathology of malignant mesothelioma in effusions. *Diagn Cytopathol.* 2018 Jan;46(1):9-14.
12. Walts AE, Hiroshima K, McGregor SM, Wu D, Husain AN, Marchevsky AM. BAP1 Immunostain and CDKN2A (p16) FISH Analysis: Clinical Applicability for the Diagnosis of Malignant Mesothelioma in Effusions. *Diagn Cytopathol.* 2016 Jul;44(7):599-606.
13. Chevrier M, Monaco SE, Jerome JA, Galateau-Salle F, Churg A, Dacic S. Testing for BAP1 loss and CDKN2A/p16 homozygous deletion improves the accurate diagnosis of mesothelial proliferations in effusion cytology. *Cancer Cytopathol.* 2020 Dec;128(12):939-947.
14. Kato Y, Tsuta K, Seki K, Maeshima AM, Watanabe S, Suzuki K et al. Immunohistochemical detection of GLUT-1 can discriminate between reactive mesothelium and malignant mesothelioma. *Mod Pathol.* 2007 Feb;20(2):215-220.
15. Shen J, Pinkus GS, Deshpande V, Cibas ES. Usefulness of EMA, GLUT-1, and XIAP for the cytologic diagnosis of malignant mesothelioma in body cavity fluids. *Am J Clin Pathol.* 2009 Apr;131(4):516-523.
16. Monaco SE, Shuai Y, Bansal M, Krasinskas AM, Dacic S. The diagnostic utility of p16 FISH and GLUT-1 immunohistochemical analysis in mesothelial proliferations. *Am J Clin Pathol.* 2011 Apr;135(4):619-627.
17. Ikeda K, Tate G, Suzuki T, Kitamura T, Mitsuya T. Diagnostic usefulness of EMA, IMP3, and GLUT-1 for the immunocytochemical distinction of malignant cells from reactive mesothelial cells in effusion cytology using cytospin preparations. *Diagn Cytopathol.* 2011 Jun;39(6):395-401.
18. Aratake Y, Marutsuka K, Kiyoyama K, Kuribayashi T, Miyamoto T, Yakushiji K et al. EMMPRIN (CD147) expression and differentiation of papillary thyroid carcinoma: implications for immunocytochemistry in FNA cytology. *Cytopathology.* 2010 Apr;21(2):103-110.
19. Bryson PC, Shores CG, Hart C, Thorne L, Patel MR, Richey L et al. Immunohistochemical distinction of follicular thyroid adenomas and follicular carcinomas. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008 Jun;134(6):581-586.
20. Chen T, Zhu J. Evaluation of EMMPRIN and MMP-2 in the prognosis of primary cutaneous malignant melanoma. *Med Oncol.* 2010 Dec;27(4):1185-1191.
21. Pinheiro C, Longatto-Filho A, Soares TR, Pereira H, Bedrossian C, Michael C et al. CD147 immunohistochemistry discriminates between reactive mesothelial cells and malignant mesothelioma. *Diagn Cytopathol.* 2012 Jun;40(6):478-483.
22. Shroyer KR, Homer P, Heinz D, Singh M. Validation of a novel immunocytochemical assay for topoisomerase II-alpha and minichromosome maintenance protein 2 expression in cervical cytology. *Cancer.* 2006 Oct 25;108(5):324-330.
23. Wang WC, Wu TT, Chandan VS, Lohse CM, Zhang L. Ki-67 and ProExC are useful immunohistochemical markers in esophageal squamous intraepithelial neoplasia. *Hum Pathol.* 2011 Oct;42(10):1430-1437.
24. Moatamed NA, Rao JY, Alexanian S, Cobarrubias M, Levin M, Lu D et al. ProEx C as an adjunct marker to improve cytological detection of urothelial carcinoma in urinary specimens. *Cancer Cytopathol.* 2013 Jun;121(6):320-328.
25. Kimura F, Kawamura J, Watanabe J, Kamoshida S, Kawai K, Okayasu I et al. Significance of cell proliferation markers (Minichromosome maintenance protein 7, topoisomerase IIalpha and Ki-67) in cavital fluid cytology: can we differentiate reactive mesothelial cells from malignant cells? *Diagn Cytopathol.* 2010 Mar;38(3):161-167.
26. Kimura F, Okayasu I, Kakinuma H, Satoh Y, Kuwao S, Saegusa M et al. Differential diagnosis of reactive mesothelial cells and malignant mesothelioma cells using the cell proliferation markers minichromosome maintenance protein 7, geminin, topoisomerase II alpha and Ki-67. *Acta Cytol.* 2013;57(4):384-390.