

KOLON ENDOSKOPIK BİYOPSİLERİNDE DÜZENLİ MUKOZA, DİSPLAZİ VE ADENOKARSİNOMLARIN AYIRICI TANISINDA AgNORs YÖNTEMİNİN DEĞERİ

Dr. Ayşegül AYAZ (*), Dr. Hale ÇELİKLER (**)

ÖZET: Ankara Onkoloji Hastanesi Patoloji bölümünde Ocak 1993-Nisan 1994 tarihleri arasında incelenen 36 düzenli mukozalı, 9 displastik, 52 adenokarsinomlu (müsinöz karsinomlar hariç) 97 kolon endoskopik biyopsi materyali çalışmaya dahil edildi. Tüm olgulara Crocker ve Nar'ın önerdikleri AgNORs boyama yöntemi uygulandı. Ortalama AgNORs değerleri düzenli mukoz grubunda 2.78, displazi grubunda 4.20, adenokarsinoma grubunda 6.21 olarak bulundu. Tüm lezyonlardaki AgNORs değerleri birbirleri ile karşılaştırıldı. AgNORs ortalaması adenokarsinoma grubunda en yüksek, displazi grubunda daha düşük, düzenli mukoz grubunda en düşük olarak saptandı. Düzenli mukoz, displazi ve adenokarsinoma grupları AgNORs değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ($p<0.05$).

ANAHTAR KELİMELE: Kolon, AgNORs, Endoskopik Biyopsi.

SUMMARY: Between January 1993 and April 1994, 36 normal mucosa, 9 dysplastic mucosa and 52 adenocarcinoma (mucinous carcinomas are excluded), total of 97 endoscopic biopsies that examined in Oncology Hospital of Ankara are included in this study. Crocker and Nar's AgNORs method was applied to all lesions. Mean AgNORs numbers were 2.78 in normal mucosa, 4.20 in dysplasia and 6.21 in adenocarcinoma. The numbers of AgNORs were compared with each other in all lesions. Mean AgNORs value was highest in adenocarcinoma group, lower in dysplasia group and lowest in normal mucosa group. Statistically there is significant difference between AgNORs values of normal mucosa, dysplasia and adenocarcinoma ($p<0.05$).

KEY WORDS: Colon, AgNORs, Endoscopic biopsies.

GİRİŞ

AgNORs yöntemi (argyrophilic nucleolar organiser regions) uzun yıllardır sitogenetikçiler tarafından kullanılmaktadır. İlk olarak 1969'da Blom ve Buss (1) tarafından kromozomları farklı boyamak amacı ile tavuk embriyolarında kullanılmıştır. 1975'te Howell ve arkadaşları (1, 2) insan genomundaki NORs'un spesifik olarak boyandığını ileri sürmüşlerdir. AgNORs patolojide ilk kez 1986 yılında Ploton ve arkadaşları (3, 4) tarafından prostat dokusuna uygulanmış ve NORs sayısının hücrel ve nükleer aktiviteyi yansıttığı vurgulanmıştır. AgNORs ile ilk çalışma ise 1987 yılında Crocker ve Nar (5) tarafından yapılmıştır.

AgNORs yöntemi 1987 yılından bu yana lenfoid doku imprintlerinde, lenfomalarda, deri, mesane, böbrek ve tiroid tümörlerinde, mide, meme, karaciğer ve derinin melanositik lezyonlarında, çocukluk çağı yuvarlak hücreli tümörlerinde ve fibröz proliferasyonlarda kullanılmaktadır (3, 5-18).

Nükleolus morfolojisinin önemi interfazik NORs'un dağılımına bağlı nükleolus morfolojisinin gösterilmesi ile son yıllarda malign ve benign lezyonların ayrılmasında yeniden değerlendirilmiştir (6). İnterfazik NORs dağılımının malign hücrelerde görülen nükleol bozukluklarını taramak için bir parametre olabileceği ileri sürülmüştür (6).

Kolonun benign tümörlerinin malignlerden ayrılmasında histomorfolojik zorluklarla karşılaşılması ve biyopsi spesmenlerinin küçük boyutlarının yorumlama problemlerine neden olması yanında basit ve hızlı AgNORs yönteminin potansiyel klinikopatolojik değere sahip olabileceği düşünülmektedir (19).

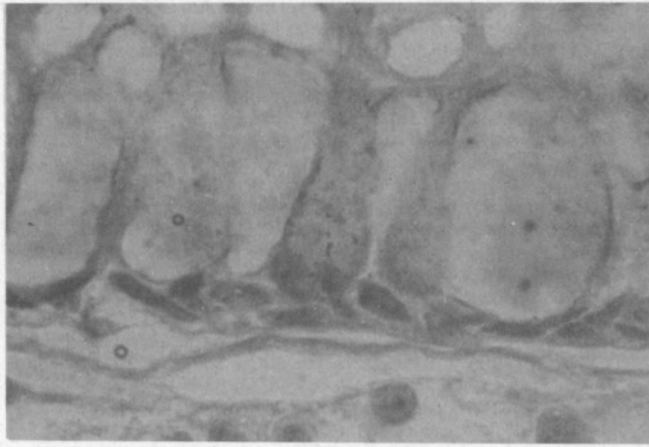
Çalışmamızda kolon endoskopik biyopsilerinde düzenli mukoz, displazi ve adenokarsinomlardaki AgNORs değerleri birbirleri ile karşılaştırılarak AgNORs'un anlamlılığı araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOD

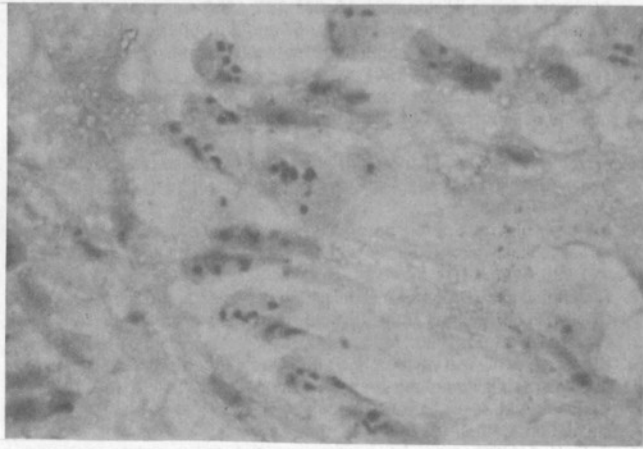
Ocak 1993-Nisan 1994 tarihleri arasında hastanemiz patoloji bölümünde incelenen; 36 düzenli, 9 displastik ve 52 adenokarsinomlu (müsinöz karsinomlar hariç) 97 kolon en-

* S.B. Ankara Onkoloji Hastanesi Patoloji Bölümü Asistanı

** S.B. Ankara Onkoloji Hastanesi Patoloji Bölümü Şef Yardımcısı



Resim-1: Düzenli mukozada AgNORs benekleri (x1000).



Resim-2: Displazide AgNORs benekleri (x1000).

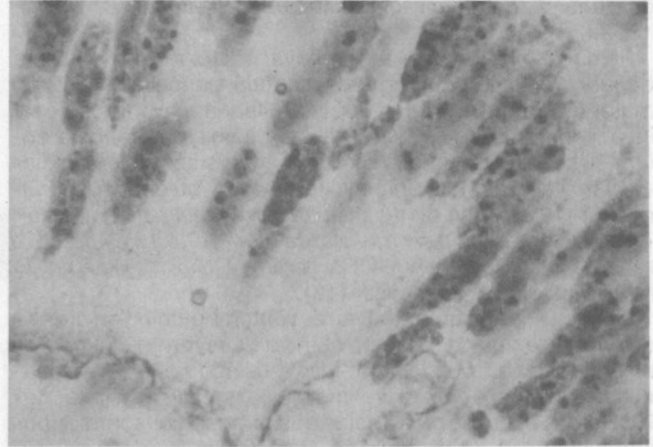
doskopik biyopsi materyali çalışmaya dahil edildi. Materyaller % 10'luk tamponlanmış formalin içinde fikse edilmiş olup, rutin parafin doku hazırlama işleminden geçirilmiş, H&E ile boyanmış ve ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Gümüşleme tekniği olan AgNORs yöntemi Crocker ve NAR'ın önerdikleri yöntemle göre uygulanmıştır (5).

BOYAMA TEKNİĞİ

Rutin hazırlanmış parafin bloklardan 4-5 mikron kalınlığında kesitler hazırlandı, deparafinizasyon ve rehidratasyonu takiben AgNORs boyama yöntemi uygulandı.

AgNORs solüsyonu; 100 cc % 1'lik formik asite 2 gr jelatin katılarak hazırlanan solüsyondan 1 volüm ile 2 volüm 50 gr/dl olacak şekilde hazırlanan gümüş nitratlı çözeltiden oluşmaktaydı. AgNORs solüsyonu taze olarak lam üzerindeki kesitlere damlatıldı. Preparatlar oda ısısında ve karanlık yerde 35 dk bırakıldı. Daha sonra preparatlar deiyonize suda çalkalandı, alkol ve ksilolden geçirilerek, balzamlı kapatıldı.

NORs kahverengi siyah benekler olarak görüldü. Lezyonların tümünde x1000 immersiyon objektifi kullanılarak 100 hücre sayıldı. AgNORs benekleri kümeler oluşturmıştı veya tek tek bulunmaktaydı. Bu beneklerin büyüklüğüne bakılmaksızın her nükleus içerisinde birbirinden ayrı AgNORs benekleri sayıldı ve not edildi. Her olgu için ortalama değerler saptandı.



Resim-3: Adenokarsinomlarda AgNORs benekleri (x1000).

TABLO 1 : AgNORs ORTALAMASI VE STANDART SAPMALAR

	DÜZENLİ	DİSPLAZİ	ADENOKARSİNOMA
KOLON	2.78	4.20	6.21
SD	0.56	0.93	1.37

Tüm lezyonların ortalama değerleri alınarak karşılaştırması Tukey HSD Testi ile yapıldı ve p değerleri bulundu.

SONUÇLAR

AgNORs düzenli mukozada az sayıda ve düzenli küçük kahverengi benekler olarak (Resim-1), displazilerde yer yer düzensiz ve iri koyu kahverengi benekler şeklinde (Resim-2), adenokarsinomlarda çok sayıda nükleus içerisinde dağılmış ve yer yerde düzensiz büyük kümeler halinde izlendi (Resim-3).

AgNORs ortalaması düzenli mukoza grubunda 2.78 (1.26-3.98), displazi grubunda 6.21 (2.46-9.51) olarak bulundu (Tablo-1).

Elde edilen sonuçlar Tukey HSD Testi ile karşılaştırıldı. Üç grup AgNORs ortalaması adenokarsinoma grubunda en yüksek, displazi grubunda daha düşük, düzenli mukoza grubunda en düşük olarak saptandı. Gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

TARTIŞMA

AgNORs değeri istirahatteki hücrelerde (örneğin lenfositler ve stromal hücreler) genellikle düşük değerlerde iken proliferatif hücrelerde ve malign hücrelerde yüksek AgNORs değerlerine rastlanmaktadır (10).

Lipponen'in çalışmasında (11) kolon mukozasında displazi ve normal mukozanın AgNORs değerlerinin birbirinden farklı olduğu vurgulanmış, bir başka çalışmada da kolonda normal mukoza ile adenokarsinoma içeren 97 kolon endoskopik biyopsi materyalinde AgNORs değerleri incelendi ve AgNORs ortalaması adenokarsinoma grubunda en yüksek, displazi grubunda daha düşük ve düzenli mukoza grubunda en düşük olarak saptandı. Gruplar arasındaki AgNORs ortalamalarının farkları istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

AgNORs değerinin hücre proliferasyon aktivitesi ile ilişkili olduğu, malign lezyonların benignlerden ayrılmasında kullanılabileceği ve bu parametrenin prognostik önemi oldu-

ğu günümüzde yaygın olarak kabul görmektedir (8, 10, 17, 18, 20).

Endoskopik biyopsi ve ameliyat materyallerinin birlikte değerlendirildiği bir çalışmada tümörlü endoskopik biyopsi materyellerinde AgNORs değerleri ile histolojik tip, serozal invazyon, lenf nodu veya peritoneal invazyon arasında anlamlı ilişki bulunmazken, karaciğer metastazı ve lenfatik invazyon ile arasında anlamlı korelasyon bulunduğu görülmüştür (18). Ayrıca aynı çalışmada beş yıllık survinin düşük AgNORs değerleri olan hastalarda daha iyi olduğu ve rekürrens riskinin yüksek AgNORs değerleri olan hastalarda iki kat artmış olduğu izlenmiştir (18).

Son yıllarda gümüş boyama yöntemi patoloğlar arasında yaygınlaşmakla birlikte, standardizasyon protokolünün olmaması, farklı patoloğların incelenmesinde değişik yorumlamaların olması, benign ve malign lezyonlar arasında AgNORs değerlerinin çıkışmalar göstermesi gibi sorunlar bulunmaktadır (4, 7, 8, 12, 18). Bazı çalışmalarda AgNORs değerlerinin yaşa bağımlı olarak ve hormonal stimülasyonlarla değiştiği de ileri sürülmektedir (21).

Bir çalışmada AgNORs yönteminin intestinal dokularda yeterli olmayacağı, kolon patolojilerinde H&E'li preparatların daha geçerli olduğu savunulmaktadır (20). Bizim çalışmamızda ve daha birçok çalışmada kolonun preneoplastik ve neoplastik lezyonlarının ayrılmasında AgNORs yönteminin yararlı olabileceği görülmüştür (6-9, 12, 14-18). Bununla birlikte bazı yazarlarca benign ve malign lezyonların ayrılmasında AgNORs tek kriter olarak kabul edilmemektedir (6, 8, 15).

AgNORs yöntemi tek başına güvenilir bir yöntem olmakla birlikte boyama zamanı ile kullanılan fiksatife bağlı olarak ve belirli bir standardizasyona ulaşıldıktan sonra benign ve malign lezyonların ayırıcı tanısında yardımcı olabileceği görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

- Goodpasture C. et al. Visualization of NORs in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma*. 53, 37-50, 1975.
- Howell W.M. et al. differential staining of the satellite regions of human acro-centric chromosomes. *Experientia*. 31, 260-262, 1975.
- Egan M.J. et al. Nucleolar organiser regions in cutaneous tumours. *J. Pathol.* 54, 247-253, 1988.
- Egan M.J. et al. NORs in fibrous proliferations of childhood and infantile fibrosarcoma. *J. Clin. Pathol.* 41, 31-33, 1988.
- Crocker J. et al. NORs in lymphomas. *J. Pathol.* 151, 111-118, 1987.
- Bakır K. The value of AgNOR method in differential diagnosis of benign and malignant melanocytic lesions. *Acta Oncol.* 23, 129-138, 1990.
- Yang P. et al. Role of nucleolar organiser regions in differentiating malignant from benign tumours of the colon. *J. Clin. Pathol.* 43, 235-238, 1990.
- Muscara M. et al. Nucleolar organiser regions in dysplastic and neoplastic lesions of the large bowel. *Eur. J. bas. Appl. Histochem.* 35, 401-408, 1991.
- Rayter Z. et al. The prognostic value of argyrophil nucleolar organiser regions (AgNORs) in colorectal cancer. *Eur. J. Surg. Oncol.* 18, 37-40, 1992.
- Trere D. AgNORs quantification in tumour pathology; What is actually evaluated? *J. Clin. Pathol.* 46 (2), 189-190, 1993.
- Lipponen P. Image analysis of AgNOR-proteins in transitional cell bladder cancer. *J. Pathol.* 171, 279-283, 1993.
- Rosa J. et al. Nucleolar organiser regions in gastric carcinoma and its precursor stages. *Histopathol.* 16, 265-269, 1990.
- Kakeji Y. et al. Predictive value of Ki-67 and argyrophilic nucleolar organiser region staining for lymph node metastasis in gastric cancer. *Cancer Res.* 51, 3503-3506, 1991.
- beer T.W. et al. AgNOR method in epidermoid carcinoma, keratoacanthoma and pseudoepitheliomatous hyperplasia. *Acta Oncol.* 23, 108-114, 1990.
- Seven R. et al. Nucleolar organising regions in the operated rat stomach; relationship to metaplasia, dysplasia and carcinoma. *Br. J. surg.* 80, 57-59, 1993.
- Yamaguchi A. et al. Prognostic value of nucleolar organiser regions in endoscopically biopsied tissues of colorectal cancers. *oncology*. 50, 121-126, 1993.
- Ruschof J. et al. Prognostic significance of nucleolar organising regions (NORs) in carcinomas of the sigmoid colon and rectum. *pathl. Res. Pract.* 186, 85-91, 1990.
- Suarez V. et al. The value of NOR numbers in neoplastic and non-neoplastic epithelium of the stomach. *Histopathology*. 14, 61-66, 1989.
- Connock A.M. et al. AgNORs technique in relation to colorectal neoplasia. *J. Clin. Pathol.* 45, 742-744, 1992.
- Bakır K. AgNOR yönteminin benign ve malign melanositik lezyonlarının ayırıcı tanısındaki yeri ve değeri. uzmanlık Tezi. Ankara. 1991.