

MİDE ENDOSKOPIK BİYOPSİLERİNDE DÜZENLİ MUKOZA, DİSPLAZİ VE ADENOKARSİNOMLARIN AYIRICI TANISINDA AgNORs YÖNTEMİNİN ROLÜ

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

ÖZET: Ankara Onkoloji Hastanesi Patoloji Bölümünde Ocak 1993-Nisan 1994 tarihleri arasında incelenen 33 düzenli mukozalı, 49 displastik, 52 adenokarsinomlu (müsinöz karsinomlar hariç) 134 mide endoskopik biyopsi materyali çalışmaya dahil edildi. Tüm olgulara AgNORs boyama yöntemi Crocker ve Nar'ın önerdikleri gibi uygulandı. Ortalama AgNORs değerleri düzenli mukoza grubunda 3.08, displazi grubunda 3.99, adenokarsinoma grubunda 7.99, olarak bulundu. Tüm lezyonların AgNORs ortalamaları alınarak birbirleri ile karşılaştırıldı. AgNORs ortalaması adenokarsinoma grubunda en yüksek, displazi grubunda daha düşük, düzenli mukoza grubunda en düşük olarak saptandı. Düzenli mukoza, displazi ve adenokarsinoma grupları AgNORs değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ($p<0.05$).

ANAHTAR KELİMELEER: Mide, AgNORs, Endoskopik Biyopsi.

SUMMARY: 33 Normal mucosa, 49 dysplasia and 52 adenocarcinoma (mucinous carcinomas excluded), a total of 134 gastric endoscopic biopsies that examined at the Pathology Department of Ankara Oncology Hospital between January 1993 and April 1994, are included in this study. Crocker and Nar's AgNORs method was applied to all lesions. Mean AgNORs counts were 3.08 in normal mucosa, 3.99 in dysplasia, and 7.99 in adenocarcinoma. Mean AgNORs counts 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. There is statistically significant difference between AgNORs value of normal mucosa, dysplasia and adenocarcinoma ($p<0.05$).

KEY WORDS: Stomach, AgNORs, Endoscopic Biopsies.

GİRİŞ

NOR (Nucleolar Organizer Regions) 5 akrosentrik kromozom [13, 14, 15, 20 ve 21] üzerinde bulunan ribozomal RNA'yı kodlayan DNA segmentleridir (1, 2, 3, 4). Bu segmentlerin boyanma özelliklerinden yararlanılarak AgNORs yöntemi geliştirilmiş ve NOR sayısının malign lezyonlarda benign ve hiperplastik lezyonlara oranla daha fazla olduğu gösterilmiştir (1, 2, 4, 5, 10). NORs ve/veya NORs proteinleri ribozomal DNA veya olası transkripsiyon düzeyinin göstergesi olarak karşımıza çıkmakta, hiperplastik durumlarda nükleolus yapısı ve nükleol aktivitesi hakkında yararlı bilgiler vermektedir (7).

AgNORs yöntemi bugüne kadar lenfomalarda, karşinomlarda, malign melanositik lezyonlardan benignlerin ayırımında ve meme lezyonları gibi birçok doku ve lezyonda kullanılmıştır (1, 5, 8, 9).

Gastrointestinal sistemde AgNORs yöntemi kolonun benign ve malign neoplazileri gibi son zamanlarda özefagus ve midenin preneoplastik ve neoplastik epitelial lezyonlarında da uygulanmaktadır (1, 3, 6, 9-13).

1987 yılında histopatologların dikkatini çeken ve birçok dokuda benign, hiperplastik ve malign lezyonların ayırıcı tanısında yararlanılan AgNORs yöntemi, çalışmamızda mide endoskopik biyopsi materyallerinde düzenli mukoza, displazi ve adenokarsinomların ayırıcı tanısındaki rolünü belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Ocak 1993-Nisan 1994 tarihleri arasında hastanemiz patoloji bölümünde incelenen; 33 düzenli, 49 displastik ve 52 adenokarsinomlu (müsinöz karsinomlar hariç) 134 mide endoskopik 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. AgNORs yöntemi Crocker ve Nar'ın önerdikleri şekilde uygulandı (5).

BOYAMA TEKNİĞİ

Rutin hazırlanmış parafin bloklardan 4-5 mikron kalınlığında kesitler hazırlandı. Preparatlar deparafinize edildikten sonra boyama solüsyonu önce iki ayrı solüsyon halinde hazırlandı;

1- 100 ml deiyonize suya 1 gr/dl olacak şekilde formik asit eklendi ve bu eriyiğe 2 gr jelatin katılarak, manyetik karıştırıcıda 15 dk karıştırıldı.

2- Deiyonize su ile 50 gr/dl olacak şekilde AgNORs hazırlandı. Jelatinli solüsyondan 1 volüm, AgNORs' lu solüsyondan 2 volüm alınarak karıştırıldı ve çalışma solüsyonu elde edildi. Çalışma solüsyonu taze olarak lam üzerindeki kesitlere damlatıldı. Preparatlar oda ısısında ve karanlık yerde 35 dk bırakıldı. Daha sonra peraparatlar deiyonize suda çalkalanarak yıkandı. Alkol ve ksilolden geçirilerek, balzamlı kapatıldı.

Koyu kahverengi boyanan AgNORs beneklerinin sayımında, lezyonların tümünde x1000 immersiyon objektifi kullanılarak 100 hücre sayıldı. Beneklerin büyüklüğüne bakılmaksızın, birbirlerinden ayrı olmalarına ve küme halindeki bir benek olarak sayılmasına dikkat edildi.

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

SONUÇLAR

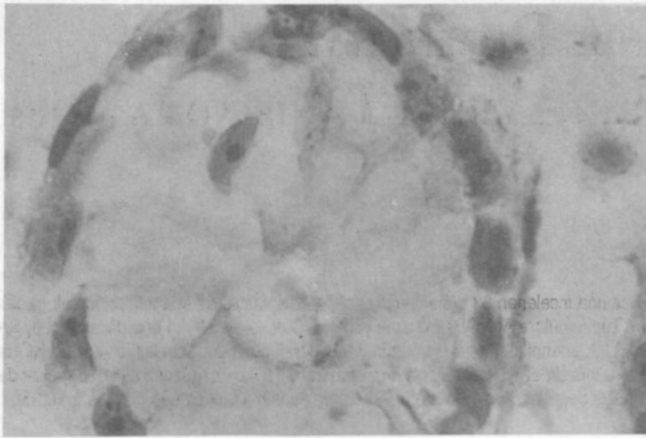
AgNORs düzenli mukozada az sayıda düzenli küçük

TABLO-1: AgNORs ORTALAMASI VE STANDART SAPMALARI

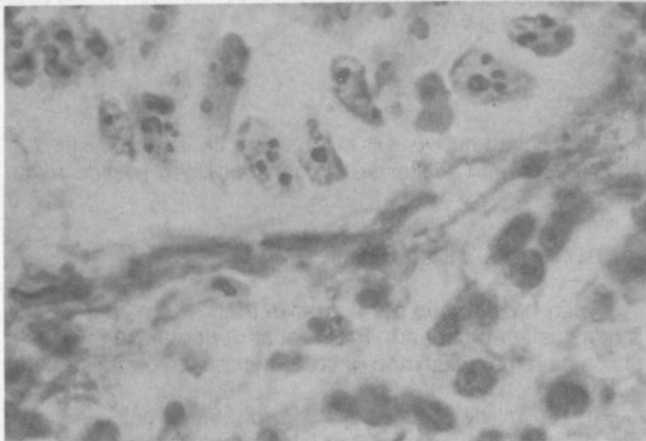
	DÜZENLİ	DİSPLAZİ	ADENOKARSİNOMA
MİDE	3.08	3.99	7.99
SD	0.44	0.92	1.15

* 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).

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

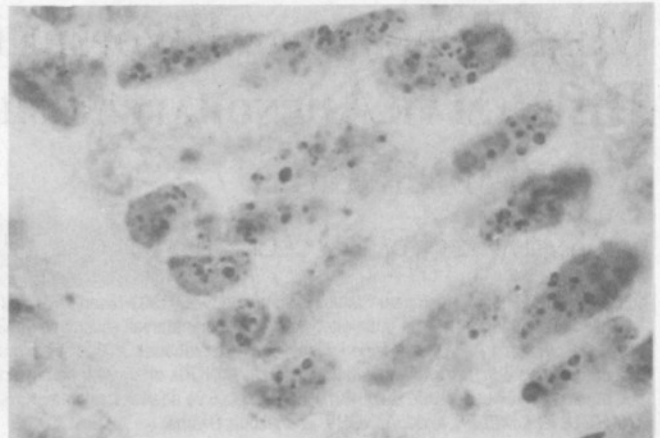
AgNORs ortalaması düzenli mukoza grubunda 3.08 (2.43-4.36), displazi grubunda 3.99 (2.60-6.90), adenokarsinoma grubunda 7.99 (4.76-11.75) olarak bulundu (Tablo-1).

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

Kronik atrofik gastrit, intestinal metaplazi, displazi ve sonuça karsinoma içeren süreç gastrik karsinogenezis olarak adlandırılmaktadır (3, 4). Gastrik karsinomanın prekürsörlerinin bilinmesi erken teşhisi kolaylaştırır ve hastalığın ilerlemiş formlarının azalmasına neden olur (3). Bu nedenle bu amaca yönelik birçok çalışma yapılmıştır.

Rosa ve arkadaşları (3) kronik atrofik gastrit, intestinal metaplazi, displazi ve karsinoma gruplarında sırası ile AgNORs değerlerinde anlamlı artışların görülmesinin gastrik karsinogenezisi destekler nitelikte olduğunu belirtmişlerdir.



Resim-3: Adenokarsinomlarda AgNORs benekleri (x1000).

Suarez ve arkadaşlarının (14) yaptığı benzer bir çalışmada da karsinogenezisi destekleyen sonuçlar elde edilmiştir. Opere ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise normal gastrik mukoza ile diğer lezyonların (intestinal metaplazi, displazi ve adenokarsinomlar) AgNORs değerlerinin farklılık göstermesi karsinogenezis ile uyumlu olarak bulunmuştur (4). İntestinal metaplazilerdeki AgNORs değerlerinin dağılımı bu lezyonların sürekli ve dinamik bir süreci gösteren antiteler oldukları görüşünü kuvvetlendirmektedir (3). Sonuçlar AgNORs ortalamalarının borderline lezyonların gelişim aşamalarını belirlemede yardımcı olduğunu göstermektedir (3). Ayrıca her nükleustaki AgNORs sayısının sellüler atipi derecesinin artması ile arttığı ve yüksek AgNORs değerlerinin malign transformasyon geçirmeye eğilimin artması ile ilişkili olduğu vurgulanmaktadır (3).

Bizim çalışmamızda ise düzenli mukoza, displazi ve adenokarsinoma USDR içeren 134 mide endoskopik biyopsi materyali incelendi ve sırası ile AgNORs ortalamaları 3.08, 3.99 ve 7.99 olarak bulundu. AgNORs ortalamalarının üç grup arasındaki farklarının istatistiksel olarak ta anlamlı olduğu saptandı.

Histopatolojide tümörlerin histolojik olarak tiplendirilmesinde gradelenmesi ve proliferatif potansiyellerin değerlendirilmesinde mitoz sayısı, DNA analizleri, timidin uptake çalışmaları veya Ki-67 monoklonal antikoruna ile immün boyama kullanılmaktadır (15).

Gastrik kanserlerde, Ki-67 gelişim fraksiyonunun belirlenmesinde güvenilir prognostik marker olarak kabul edilmektedir (16). Kakeji ve arkadaşları (17) gastrik kanserlerde Ki-67 (+) hücre oranı ile AgNORs değeri arasında korelasyon olduğunu rapor etmişlerdir (16, 18). Ayrıca tümör hacmi, invazyon derinliği, histolojik tipi dikkate alınmaksızın, tümör küçük veya erken stage'de bile olsa nodal metastaz formasyonunun Ki-67 ve AgNORs değerlerindeki artma ile arttığı görülmüştür (17).

Sindirim sistemi benign ve malign stromal tümörleri arasında kesin histopatolojik ayırım zor olup mitotik figür önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir (19). Beer ve arkadaşları (19) ile Siin ve arkadaşları (20) AgNORs değerleri ile mitotik figür arasında korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca DNA analizleri ile de AgNORs değerleri ilişkili bulunmuştur (1, 3).

Çalışmamızda elde ettiğimiz değerler normal mukoza, displazi ve adenokarsinomaların ayırıcı tanısında AgNORs'un yararlı olabileceğini göstermekle birlikte AgNORs yönteminin tek başına yeterli olmadığı düşüncesindeyiz. Li-

teratürde bu düşüncede olan yazarlarda bulunmakta, ancak malign lezyonların sitolojik olarak atipi gösteren biyolojik olarak benign lezyonlardan ayrılmasında yardımcı olabileceği görüşü yaygınlık kazanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. 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.
2. Crocker J. et al. Hemangioblastoma and renal clear cell carcinoma distinguished by means of the AgNORs Metod. *Am. J. Clin. Pathol.* 93, 555-557, 1990.
3. Rosa J. et al. Nucleolar organiser regions in gastric carcinoma and its precursor stages. *Histopathol.* 16, 265-269, 1990.
4. 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.
5. Crocker J. et al. NORs in lymphomas. *J. pathology.* 151, 111-118, 1987.
6. 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.
7. Walker R.A. Commentary; The histopathological evaluation of nucleolar organiser regions proteins. *Histopathology.* 12, 221-223, 1988.
8. Lipponen P. Image analysis of AgNOR-proteins in transitional cell bladder cancer. *J. Pathol.* 171, 279-283, 1993.
9. Derenzini M. et al. Interphasic nucleolar organiser region distribution as a diagnostic parameter to differentiate benign from malignant epithelial tumours of human intestine. *Virchows Arch (Cell Pathol).* 54, 334-340, 1988.
10. Griffiths A.P. et al. Silver-stained structure (AgNORs), their dependence on tissue fixation and absence of prognostic relevance in rectal adenocarcinoma. *J. Pathol.* 159, 121-127, 1989.
11. Ofner D. et al. Silver-stained nucleolar organiser regions proteins (AgNORs) as a predictor of prognosis in colonic cancer. *J. Pathol.* 162, 43-44, 1990.
12. Ruschoff J. et al. Prognostic significance of nucleolar organising regions (NORs) in carcinomas of the sigmoid colon and rectum. *pathol. res. Pract.* 186, 85-91, 1990.
13. Connock A.M. AgNOR technique in relation to colorectal neoplasia. *J. Clin. Pathol.* 45, 742-744, 1992.
14. Suarez V. et al. The value of NOR numbers in neoplastic and non-neoplastic epithelium of the stomach. *Histopathol.* 14, 61-66, 1989.
15. Leong A.S.Y. et al. Silver staining of NOR in malignant melanoma and melanocytic nevi. *Human Pathol.* 20, 3, 257-262, 1989.
16. Yamaguchi A. et al. Prognostic value of nucleolar organiser regions in endoscopically biopsied tissues of colorectal cancers. *Oncology.* 50, 121-126, 1993.
17. Kakeji Y. et al. Predictive value of Ki-67 and Argyrophilic Nucleolar Organiser Region Staining for lymph node metastasis in gastric cancer. *Cancer Research.* 51, 3503-3506, 1991.
18. Risio M. et al. Cell proliferation in colorectal adenomas containing invasive carcinoma. *Anticancer Res.* 13, 43-48, 1993.
19. Beer T.W. et al. AgNOR counts and determination of malignancy in stromal tumours of the stomach and small intestine. *J. Clin. Pathol.* 45, 172-174, 1992.
20. Sinn N.P. et al. Nucleolar organiser regions in myogenic stromal tumours of the stomach. *Virchows Arch. (pathol. Anat.).* 415, 317-321, 1989.