

MALIGN MEZOTELYOMA VE PRİMER AKCİĞER ADENOKARSİNOMU AYIRICI TANISINDA İMMÜNHİSTOKİMYASAL ANALİZ (*)

Dr. Fatma AYDINER, Dr. Ömer YERCI

ÖZET: Bu çalışmada, malign mezotelyoma ve primer akciğer adenokarsinomu için pozitif boyanan immünhistokimyasal markerları tespit etmek, spesifite ve sensitiviteyi değerlendirmek amaçlandı. On iki malign mezotelyoma ve 8 akciğer adenokarsinomu olgusuna, pan-sitokeratin, düşük molekül ağırlıklı sitokeratin, yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin, EMA, Ber-EP4, CD15, vimentin, CEA, surfaktan, kalretinin, trombomodulin antikorları ile immünhistokimyasal ve PAS, PAS-diastaz ile histokimyasal inceleme uygulandı. Elde edilen bulgulara göre kalretinin ve trombomodulin malign mezotelyoma / akciğer adenokarsinomu ayırıcı tanısında, malign mezotelyomada pozitive gösteren antikorlar olarak öne çıkmaktadır. Vimentin de bu immünhistokimyasal panelde, malign mezotelyomada pozitif saptanan antikor olarak yer alabilecek özelliktedir. CEA ve CD 15 gibi, akciğer adenokarsinomu için spesifik olarak söz edilen antikorların bu çalışmada adenokarsinom için duyarlılık ve özgüllük oranları düşük olarak tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELE: Mezotelyoma, akciğer adenokarsinomu, immünhistokimya

SUMMARY: DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF MALIGNANT MESOTHELIOMA VERSUS PRIMARY PULMONARY ADENOCARCINOMA : AN IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS . The aim of this study was to determine immunohistochemical markers that give a positive reaction with malignant mesothelioma or primary pulmonary adenocarcinoma and investigate the specificity and sensitivity rates of these antibodies. Twelve malignant mesotheliomas and 8 primary pulmonary adenocarcinoma cases were examined using pan-CK, HMWCK, LMWCK, EMA, Ber-EP4, CD 15, vimentin, CEA, surfactan, calretinin, thrombomodulin antibodies. Histochemical analysis was performed with the PAS, PAS-diastase stains. According to our results calretinin and thrombomodulin showed positive reactivity with a high sensitivity and specificity rate. Vimentin can be included in immunohistochemical panels as an antibody reacting positively for malignant mesothelioma. CEA and CD15 which are believed to be very strongly positive for pulmonary adenocarcinoma, showed low specificity and sensitivity rates in this investigation.

KEY WORDS: Mesothelioma, pulmonary adenocarcinoma, immunohistochemistry

GİRİŞ

Plevral malign mezotelyoma (MM) ve periferik akciğer adenokarsinomu (AC) ayırıcı tanısı patoloji pratiğinde sık olarak karşılaştığımız, rutin Hematoksilen-Eozin (HE) boyası ile değerlendirmelerde zorlandığımız konulardan biridir. Uygun tedavinin yapılabilmesi ve asbestoza bağlı meslek hastalığı ile ilişkili olguların son yıllarda sayıca çoğalması nedeniyle ayırıcı tanının yapılması önemlidir.

Günümüzde bu iki tümör grubunun ayırımında histokimyasal boyalar Periodic Acid Schiff (PAS), PAS- diastaz, Mucicarmine, Hyaluronidaz - Alcian blue, immünhistokimyasal yöntemler (İHK) ve elektron mikroskopisi kullanılmaktadır (1,2,3).

Histokimyasal yöntemler bize bu konuda tam olarak yardımcı olmamaktadır. Çünkü bazı epitelyal MM olguları PAS-diastaz ve Mucicarmine ile pozitif boyanma gösterirken, bazı AC olguları Alcian blue ve Hyaluronidaz ile pozitif reaksiyon gösterebilmektedir (3,4). Elektron mikroskopisi ile değerlendirme pratik olarak çoğu zaman mümkün değildir (4,5).

Son yıllarda MM'da pozitive gösteren ancak duyarlılık ve özgüllüğü düşük olan, örneğin kalretinin, trombomodulin, CD44H, HBME-1, WT-1 gibi bazı antikorlar öne sürülmektedir (6,7,8).

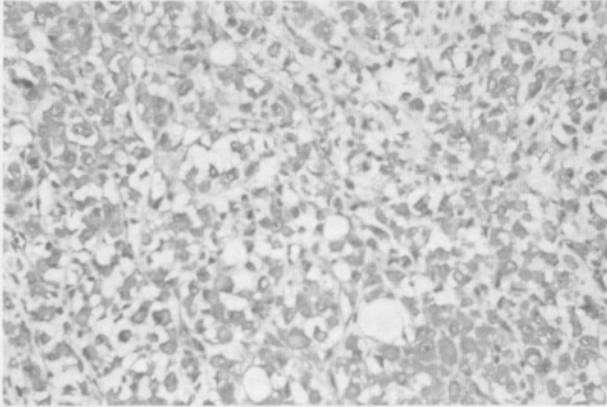
Bu çalışmada amaç MM ve AC için pozitif boyanan antikorların duyarlılık ve özgüllüklerini tespit ederek, bunların ayırıcı tanındaki rolünü değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

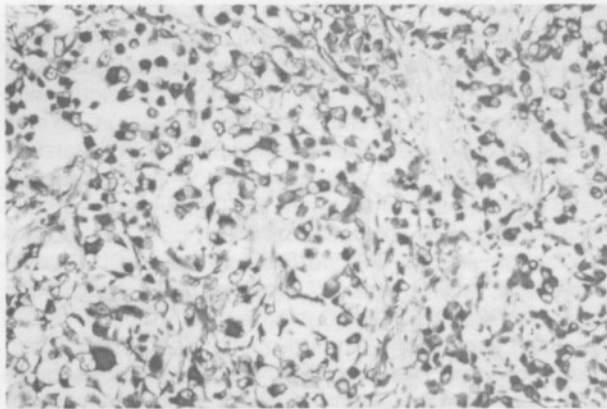
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivi taranarak 1 Ocak 1997-1 Haziran 2002 tarihleri arasındaki MM ve AC olguları yeniden gözden geçirildi. Bunlar günümüzde geçerli histolojik kriterler ve immünhistokimyasal boyama yöntemleri ile tanı almışlardı. Bunların arasından çalışmanın amacına ve yöntemine uygun olan 12 MM ve 8 AC olgusu çalışmaya dahil edildi. Her bir olguya ait en iyi parafin blok seçilip bunlara avidin-biotin-peroksidaz metodu (ABC) ile immünhistokimyasal çalışma uygulandı. 4 mikron kalınlığında alınan kesitler, etüv içinde 37°C'de bir gece boyunca bekletildi. Daha sonra ksilende deparafinize edildikten sonra absolu alkol serisinden geçirildi. Endojen peroksidaz aktivitesinin baskılanması için 20 dk %3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda bekletildikten sonra tamponlu yıkama solüsyonundan geçirildi. Kromojen olarak diaminobenzidin kullanıldı. Her olguda kullanılan primer antikorlar tablo 1'de özellikleri ile birlikte verilmiştir. Ayrıca tüm olgulara PAS ve PAS-D histokimyasal boyamaları yapıldı. Tüm olgularda boyanma, histolojik tanı bilinmeden, iki patolog tarafından, pozitif ve negatif olarak değerlendirildi. Tümörli alanda %5'den az boyanma negatif, %5 ve üzerindeki boyanmalar pozitif olarak kabul edildi. Daha sonra her bir antikorun ve PAS, PAS-D boyalarının MM ve AC için duyarlılık ve özgüllükleri hesaplandı.

BULGULAR

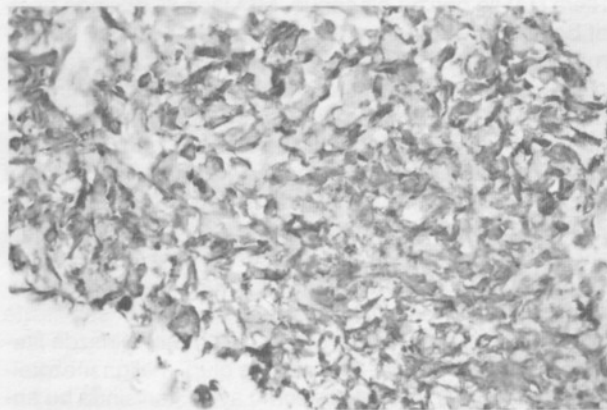
Malign mezotelyoma ve adenokarsinom olguları için immünhistokimyasal boyanma özellikleri Tablo 2'de özetlenmiştir. MM'lardan 11'inde (%92) kalretinin ile diffüz sitoplazmik, yer yer de nükleer boyanma görüldü (Resim 1). Bifazik tümörlerin sarkomatöz komponentinde boyanma



Resim 1: Kalretinin ile sitoplazmik ve fokal nükleer pozitivite (x 400)



Resim 2: Trombomodulin ile sitoplazmik pozitivite (x 200)



Resim 3: Vimentin ile sitoplazmik pozitivite (x 400)

olmadı. AC'ların ise 3'ünde (%38) diffüz sitoplazmik boyanma tespit edildi.

Trombomodulin (CD 141) ile MM olgularının 6'sında boyanma saptandı (%50). AC'ların ise hiçbirinde boyanma gözlenmedi. Altı olgudaki boyanma paterni diffüz sitoplazmik karakterdeydi (Resim 2). Bifazik MM olgularında sarkomatöz komponentte boyanma olmadı.

Pansitokeratin ile MM'ların 11'inde (%92) diffüz sitoplazmik, AC'ların ise tümünde diffüz sitoplazmik boyanma görüldü.

TABLO 1. KULLANILAN ANTİKORLARIN ÖZELLİKLERİ

Antikorlar	Klon	Retrieval	Dilüsyon	Kaynak
Pan CK	MNF116	Sitrat	1/100	DAKO
HMWCK*	34aE12	-	1/100	DAKO
LMWCK**	35aH11	-	1/100	DAKO
EMA	E29	-	1/100	DAKO
Ber EP4	Ber-EP4	Sitrat	1/100	DAKO
CD 15	C3D-1	Sitrat	1/100	DAKO
Vimentin	V9	Sitrat	Predilüe	NeoMarkers
CEA	11-7	Sitrat	1/100	DAKO
Surfaktan	SPB01	Sitrat	Predilüe	NeoMarkers
Kalretinin	CRT01	Sitrat	Predilüe	NeoMarkers
Trombomodulin	141C01	Sitrat	Predilüe	NeoMarkers

*Yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin

**Düşük molekül ağırlıklı sitokeratin

Yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin (HMWCK) ile 1 MM olgusunda (%9) epitelyal komponentte fokal sitoplazmik boyanma görülürken, AC'ların hiçbirinde boyanma görülmedi.

Düşük molekül ağırlıklı sitokeratin (LMWCK) ile MM olgularının 6'sında (%50) epitelyal komponentte diffüz sitoplazmik boyanma, AC'ların ise 2'sinde (%25) diffüz sitoplazmik boyanma görüldü.

EMA, MM ve AC olgularının tümünde (%100) pozitif boyanma göstermiştir. MM olgularının tümünde membranöz tipte boyanma gözlenirken, AC olgularının % 75'inde (n=6) sitoplazmik boyanma, % 25'inde (n=2) hem sitoplazmik, hem membranöz tipte boyanma görülmüştür.

BerEP4 antikoruna ile her iki tümör grubunda 1'er olguda (MM=%83, AC=%12.5) sitoplazmik ve membranöz boyanma görüldü.

CD15 antikoruna ile 5 MM olgusunda (%42) ve 4 AC olgusunda (%50) sitoplazmik boyanma tespit edildi. MM olgularındaki boyanma fokal ve zayıf sitoplazmik özellikteydi. Bu antikor ile diğer antikorlardan farklı olarak, %10'luk tümör sahası ve üzerindeki boyanmalar pozitif kabul edilip 2. kez duyarlılık, özgüllük hesaplaması yapıldı. İkinci değerlendirmede MM olgularının sadece 1'inde (%8), tümör sahasının %10'undan fazlasında izlenen zayıf sitoplazmik boyanma tespit edildi. İkinci değerlendirmede AC olgularında bulgular değişmedi.

MM olgularının 8'inde (%67), AC olgularının ise 2'sinde (%25) vimentin ile diffüz sitoplazmik boyanma izlendi (Resim 3).

CEA ile MM olgularının 8'inde (%67), AC'ların 4'ünde (%50) sitoplazmik boyanma tespit edildi. MM olgularındaki boyanmalar fokal ve zayıf nitelikteyken, AC olgularında diffüz ve kuvvetli bir boyanma izlendi. Bu antikor grubunda da %10'luk tümör sahasının fazlasındaki boyanmalar pozitif kabul edilip, 2. bir duyarlılık ve özgüllük hesaplaması yapıldı. İkinci değerlendirmede MM olgularının 5'inde (%42), tümör sahasının %10'undan fazlasını kaplayan zayıf sitoplazmik boyanma tespit edildi. AC olgularında 2. değerlendirmede bulgular değişmedi.

Surfaktan ile MM'ların 9'unda (%75), AC'ların 4'ünde (%50) sitoplazmik boyanma gözlenmiştir.

Histokimyasal boyamalardan PAS ile 9 MM (%75) ve 7 AC olgusunda (%88) pozitif sitoplazmik boyanma gözlenirken, PAS-diastaz ile 3 MM (%25) ve 6 AC (%75) ol-

TABLO 2 : ANTIKOR VE HİSTOKİMYASAL BOYALARIN İKİ TUMÖR GRUBUNDAKİ REAKTİVİTE SONUÇLARI

Antikorlar	Malign mezotelyoma (n=12) Pozitif olgular	Adenokarsinom (n=8) Pozitif olgular
Pan CK	11	8
HMWCK*	1	0
LMWCK**	6	2
EMA	12	8
Ber Ep 4	1	1
CD15	5	4
Vimentin	8	2
CEA	8	4
Surfaktan	9	4
Kalretinin	11	3
Trombomodulin	6	0
Histokimyasal Boyalar		
PAS	9	7
PAS-D	3	6

*Yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin

**Düşük molekül ağırlıklı sitokeratin

TABLO 3: İKİ TUMÖR GRUBUNDAKİ İMMÜNHİSTOKİMYASAL VE HİSTOKİMYASAL BOYANMANIN DUYARLILIK VE ÖZGÜLLÜK ORANLARI

Antikorlar	Malign mezotelyoma (%)		Adenokarsinom (%)	
	Duyarlılık	Özgüllük	Duyarlılık	Özgüllük
Pan CK	92	0	100	8.3
HMWCK*	9	100	0	91.6
LMWCK**	50	75	25	50
EMA	100	0	100	0
Ber Ep 4	8.3	87.5	12.5	92
CD 15	42	50	50	59
Vimentin	67	75	25	33.3
CEA	67	50	50	34
Surfaktan	75	50	50	25
Kalretinin	92	62.5	38	8.3
Trombomodulin	50	100	0	50
Histokimyasal Boyalar				
PAS	75	12.5	88	25
PAS-D	25	25	75	75

*Yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin

**Düşük molekül ağırlıklı sitokeratin

gusunda sitoplazmik boyanma tespit edilmiştir.

Değerlendirilen antikor ve histokimyasal boyaların her iki tümör grubuna ait duyarlılık ve özgüllük oranları Tablo-3'de özetlenmiştir.

TARTIŞMA

Plevral malign mezotelyoma ve primer akciğer adenokarsinomu rutin histolojik incelemeler ile ayırıcı tanısı oldukça zor olan iki tümör grubudur (9,10). Son zamanlara kadar MM'nin immünhistokimyasal fenotipi, karsinom hücrelerine spesifik olan antikorların negatif sonuç vermesi ile karakterizydi. MM için pozitif boyanma göste-

ren, spesifite ve sensitivitesi yüksek olan bir antikor mevcut değildi. Mezotelyomada sıklıkla pozitif olarak boyanan fakat adenokarsinomda boyanma göstermeyen antikorlar ancak son yıllarda tanımlanmıştır (11,12). Kalretinin bunlardan biri olup, spesifite ve sensitivitesi yüksek bir poliklonal antikor olarak tanımlanmaktadır. Kalretinin kalsiyum bağlayıcı sitoplazmik proteinler grubundadır. Santral ve periferik nöral dokularda, özellikle retinada yaygın olarak bulunur (11-13). Kalretinin normal ve reaktif mezotel hücrelerinde de kuvvetli bir reaktivite göstermektedir. Bazı epitelyal ve stromal, neoplastik veya normal insan dokularında da reaktivite gösterir (13,14). Son yıllardaki birçok çalışmada kalretinin, MM için pozitif kabul edilen bir antikor olarak öne çıkmaktadır. 1996'da Gotzos ve ark.'nın (15) çalışmasında 7 epitelyal ve 15 bifazik MM olgusunun tümünde kalretinin ile reaktivite tespit edilirken, 1 sarkomatöz MM'da ve bifazik MM'ların sarkomatöz komponentinde boyanma olmamıştır. Dört AC olgusunun hiçbirinde reaktivite tespit edilmemiştir. Aynı yıl Doglioni ve ark.'nın (12) çalışmasında benzer bulgular elde edilmiştir. Tüm mezotelyoma olgularında (n=44) kuvvetli boyanma, 294 AC olgusunun 28'inde (%9.5) fokal boyanma tespit edilmiştir. 1997'de Barberis ve ark.'nın (16) seröz effüzyonlar için yaptıkları çalışmada, 8 MM olgusunun tümünde (%100) kuvvetli, 13 plevraya metastatik AC olgusunun 3'ünde (%23) zayıf boyanma saptamışlardır. 1997'de Riera ve ark.'nın (11) çalışmalarında farklı olarak 57 epitelyal MM olgusundan 24'ünde (%42.1), 211 AC olgusundan 13'ünde (%6.2) kalretinin ekspresyonu elde edilmiştir. 1998 yılında Ordenez 38 epitelyal MM ve 155 AC'den oluşan bir seride iki farklı ticari kaynak, Chemicon (Riera ve ark.'nın kullandığı kaynak) ve Zymed'ten elde edilen poliklonal antikalkalretinin antikorlarını kullanmıştır. Chemicon'a ait antikor ile Riera (11) ile benzer bir sonuç, MM'ların %72'sinde pozitif boyanma, Zymed'e ait antikor ile %100'lük bir boyanma elde etmiştir. Dolayısıyla farklı ticari kaynaklara bağlı olarak antikor sensitivitelerinin değişebileceğini vurgulamıştır (17). 2000 yılında Cury ve ark.'nın (18) 51 MM olgusunun 47'sinde (%92.1) kalretinin ile kuvvetli pozitif boyanma, 59 metastatik AC olgusundan 23'ünde (%38.9) zayıf pozitif boyanma elde etmişlerdir. Bu çalışmada ise kalretinin ile 12 MM olgusunun 11'inde (%92) diffüz kuvvetli sitoplazmik ve yer yer ise nükleer boyanma elde edilirken, 8 AC olgusunun 3'ünde (%38) fokal zayıf sitoplazmik boyanma tespit edilmiştir. Elde edilen spesifite (%62.5) ve sensitivite oranlarına (%92) baktığımızda literatür ile benzer oranlar elde edilmiş olup, malign mezotelyoma ve akciğer adenokarsinomu ayırıcı tanısında bu antikoron, malign mezotelyoma için pozitif boyanan bir antikor olarak önemli bir yer kazandığını düşünülebilir.

Trombomodulin bir 25-kDa transmembran glikoprotein olup, protein C aktivasyonu ile trombomodulin-trombin kompleksi oluşturarak antikoagülan etki oluşturabilmektedir. Trombomodulin mezotelyal, endotelyal, mezenkimal, sinovyal, tromboplastik hücreler, megakaryositler ve bazı skuamöz epitelyal hücrelerde ekspresyon gösterebilmektedir (9). 1992'de Collins ve ark.'nın (19) çalışmasında trombomodulin ile 31 mezotelyoma olgusunun tümünde ve 48 pulmoner AC vakasının 4'ünde (%8.3) pozitif boyanma elde edilmiştir. Birçok çalışmada benzer sonuçlar saptanmıştır (1,14,12,18,20-22). Bazı

(The Turkish Journal of Pathology)

çalışmalarda ise trombomodulin ekspresyonu mezotelyomalarda %27-75 gibi değişken oranlarda tespit edilmiştir (5,11,23,24). Formalinde fikse, parafin blokla yapılan dokularda trombomodulin ekspresyonu fokal olabilmektedir. Bu nedenle küçük biyopsiler negatif değerlendirmeye yol açabilir. Bizim çalışmamızda 6 MM olgusunda sitoplazmik karakterde fokal boyanma saptanmış olup, AC vakalarının ise hiçbirinde boyanma olmamıştır. Duyarlılığı düşük (%50), özgüllüğü ise yüksek (%100) olarak tespit edilmiştir. Özgüllük oranının yüksek olması nedeniyle MM için pozitif boyanan diğer antikora ilave olarak kullanıldığında yararlı olabilecek bir antikordur.

CEA, malign mezotelyoma ve akciğer adenokarsinomu ayırıcı tanısında sık olarak kullanılan bir antikordur. Onkofetal glikoproteinler grubundandır (25). Mezotelyomada CEA ekspresyonunun olmaması karakteristik olarak bildirilmektedir. Bunu ilk olarak ortaya koyan 1979'da Wang ve ark. (26) olmuştur. Bu çalışmada 9 MM'nin hiçbirinde boyanma olmazken, 12 pulmoner AC olgusunun tümünde pozitif boyanma elde etmişlerdir. Benzer bulgular başka çalışmalarda da elde edilmiş, ancak bazı çalışmalarda mezotelyomalarda da bir miktar CEA ekspresyonu gözlenmiştir. Henderson ve ark.'nın (27) çalışmasında 598 MM olgusundan 58'inde (%9.7), 404 AC olgusunun 359'unda (%88.8) CEA ile reaktivite gözlemlendiği bildirilmiştir. AC'larda CEA reaktivitesi ile ilgili olarak %25-100 arasında değişen oranlarda bazı tutarsız sonuçlar da bildirilmektedir (10). Bizim çalışmamızda ise 12 MM olgusunun 8'inde (%67), AC olgularının 4'ünde (%50) CEA ekspresyonu gözlenmiştir. Ancak MM'lardaki boyanma fokal ve zayıf özellikteyken, AC'larda diffüz ve kuvvetli bir boyanma elde edilmiştir. AC için duyarlılık (%50) ve özgüllük (%34) düşük olarak tespit edilmiştir. %10 ve üzerindeki tümör sahası pozitif kabul edilerek değerlendirildiğinde MM grubunda %42 oranında boyanma gözlemlendi. AC olgularında farklılık görülmedi. Bu bulgularla AC için özgüllük oranının %58'e yükseldiği izlenmiştir. Sonuçlar bu çalışmada ve literatür ile çelişkili bulgular bildiren başka bir çalışmada (10) kullanılan monoklonal/poliklonal anti-CEA antikollarının spesifite ve sensitivitesinin farklılığından kaynaklanabilir. MM olgularında gözlenen boyanma fokal ve zayıf özellikte olup bunlara zaman zaman zemin boyanmasının eşlik etmesi bulguların bu yönde oluşmasını etkilemiş olabilir. Değerlendirmelerde boyanma paterninin de göz önüne alınması halinde ayırıcı tanıda yardımcı olacağı düşünülebilir. Geniş serilerde elde edilen bulgular doğrultusunda CEA'nın MM tanısında negatif sonuç veren bir antikor olarak, AC ile ayırıcı tanısında immünhistokimyasal panele mutlaka ilave edilmesi gerekir. Dejmek ve ark. (28) bazı mezotelyomaların CEA molekülüne benzer antijenik determinantlarının olduğunu ve CEA antikollarının bunlarla reaksiyona girebildiğini bildirmiştir.

Ber-EP4 mezotel dışındaki insan epitel hücrelerinde bulunan hücre yüzey glikoproteini ile reaksiyona giren bir monoklonal antikordur (29). Sheibani ve ark.'nın (30) çalışmasında 115 AC olgusunun 72'sinde (%62.6), 115 MM'dan 1'inde (%0.8) pozitif boyanma izlenmiştir. Gaffey ve ark. (31) ise 120 AC'nun 103'ünde (%85.8), 48 MM'un 10'unda (%20.8) boyanma görmüş ve MM'daki boyanmaların genellikle fokal pozitif olmasına rağmen Ber-EP4 pozitifliğinin mezotelyoma tanısını ekarte etme-

diğini öne sürmüştür. Bu konuyla ilgili benzer çalışmalar da benzer değişken sonuçlar elde edilmiştir. Bizim çalışmamızda 12 MM olgusunun 1'inde (%8.3), 8 AC'dan 1'inde (%12.5) hem sitoplazmik hem de membranöz boyanma elde edilmiştir. AC olgularındaki düşük duyarlılık oranı antikorun kaynağı ile ilgili olabileceği gibi bazı teknik faktörlerle de ilişkilendirilebilir. Carella ve ark. Ber-EP4 ile 'lateral membran' boyanmasının pozitif olarak yorumlanması ve tümör sahasının %2'sinden azında boyanma varsa negatif olarak kabul edilmesi gerektiğini böylece spesifite ve sensitivitenin artabileceğini vurgulamıştır (1).

CD15 (Leu-M1) ilk önce miyelomonositik hücre membranındaki glikoproteinlerle reaktivasyon gösteren bir monoklonal antikor olarak tanımlandı (9). Daha sonra Sheibani ve ark.'nın (32,33) çalışmasında, 50 pulmoner AC olgusunun 47'sinde (%94), diğer AC'ların %59'unda CD15 ekspresyonu tespit edilirken, 28 MM'nin ise hiçbirinde boyanma olmamıştır. Birçok araştırmacı mezotelyomaların CD15 ekspresyonu göstermediğini belirtirken, pulmoner AC'da ise farklı boyanma oranları elde edilmiştir (9,10). Battifora (34) akciğer AC'larda diğer organlarda görülen adenokarsinoma göre daha yüksek oranda CD15 reaktivitesinin olduğunu ancak bu boyanmanın fokal bulunduğunu bildirmiştir. Bu nedenle akciğere ait küçük biyopsilerin değerlendirilmesinde CD 15 boyanmasının yalancı negatifliklere neden olabileceğini vurgulamıştır. Bizim çalışmamızda 12 MM olgusunun 5'inde (%42), 8 AC olgusunun 4'ünde (%50) CD15, pozitif sitoplazmik immünreaktivite göstermiştir. MM olgularındaki boyanma fokal ve zayıf niteliktedir, bazı olgularda ise buna zemin boyanması da eşlik etmektedir. Zaman zaman görülen zemin boyanmasının pozitif olarak yorumlanması, yalancı pozitiflik oranını artırmış olabileceği gibi antikorun ticari kaynağına bağlı olarak da bulgular literatür verileri ile uyumsuzluk göstermiş olabilir. %10'dan fazla tümör sahasındaki boyanmalar pozitif kabul edildiğinde ise MM grubundan 1 olguda (%8) pozitif, zayıf sitoplazmik boyanma izlenmiş, AC grubunda ise farklılık izlenmemiştir. Bu şekilde AC için özgüllük oranının %92'ye ulaştığı tespit edilmiştir.

EMA epitelyal mezotelyomalarda ve AC'larda pozitif boyanma oluşturabilen bir antikordur. Ancak her iki tümör grubundaki boyanma paterni farklılık göstermektedir. MM'da membranöz, AC'da ise sitoplazmik boyanma ön planda olmaktadır. Bazı çalışmalarda EMA pozitifliğinin boyanma paterninin MM ve AC ayırıcı tanısında önemli olabileceği, MM'da membranöz, AC'da ise diffüz sitoplazmik boyanma olduğu üzerinde durulmaktadır (4).

Hammar ve ark.'nın (35) çalışmasında 64 MM'nin 50'sinde (%78.1), 60 AC'un 37'sinde (%61.6) EMA ile pozitif boyanma elde edilmiştir. Gaffey ve ark.'nın (31) çalışmasında ise 12 epitelyal MM'nin 5'inde (%41.6), 10 bifa-zik MM olgusunun 6'sında (%60) epitelyal komponentte boyanma olmuştur. Bu çalışmada ise MM ve AC olgularının tümünde (%100) pozitif boyanma elde edilmiştir. MM olgularının tümünde membranöz tipte boyanma gözlenirken AC olgularının % 75'inde sitoplazmik boyanma, % 25'inde hem sitoplazmik hem membranöz tipte boyanma görülmüştür.

Vimentin bu çalışmada MM olgularının %67'sinde, AC'ların %25'inde diffüz sitoplazmik boyanma göster-

miştir. Duyarlılık oranı %67 ve özgüllük oranı %75 olarak tespit edilmiştir. Jasani ve ark.'nın (36) bir çalışmasında ise MM'ların %70'nde pozitif boyanma elde edilmiştir. Vimentin tek başına olmasa bile antikor paneli içinde ayırıcı tanıda yardımcı olabilir. Esas olarak vimentin sarkomatoid mezotelyoma ve reaktif plevral fibrozis ayırıcı tanısında önemli rol oynamaktadır (37). Roberts ve ark.'nın (5) çalışmasında vimentin ile MM'larda %30 (30/108), AC'larda ise %17 (3/18) oranlarında pozitif boyanma elde edilmiştir.

Surfaktan protein, fosfolipid yapısında olan glikoproteindir. AC tanısında önemli rol oynayan bir antikordur (38). Dessy ve ark.'ın (39) çalışmasında primer AC adenokarsinomlarının tümünde pozitif boyanma olurken MM'ların hiçbirinde boyanma gözlenmemiştir. Bizim çalışmamızda ise literatür verileri ile uyumsuz olarak MM'ların %75'inde, AC'ların %50'sinde pozitif boyanma elde edilmiştir. Ancak boyanma paternine bakıldığında, MM'da gözlenen boyanma fokal ve zayıf sitoplazmik özelliktedir. AC'da ise diffüz ve kuvvetli boyanma izlenmiştir. Bu nedenle MM ve AC ayırıcında boyanma paterninin de göz önünde bulundurulmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Sitokeratinler ile yapılan çalışmalarda CAM 5.2 (düşük molekül ağırlıklı sitokeratin) ve AE1/AE3 (pansitokeratin), MM, reaktif mezotel proliferasyonları ve AC'larda benzer oranlarda, yüksek bir duyarlılıkla diffüz sitoplazmik boyanma göstermiştir (4). Bizim çalışmamızda pansitokeratin ile 12 MM'nin 11'inde (%92), AC'ların ise tümünde diffüz sitoplazmik boyanma olmuştur. Düşük molekül ağırlıklı sitokeratin ile MM'ların %50'sinde, AC'ların %25'inde diffüz sitoplazmik boyanma tespit edilmiştir. Yüksek molekül ağırlıklı sitokeratin ile 1 MM (%9) olgusunda fokal sitoplazmik boyanma izlenirken, AC olgularının hiçbirinde ekspresyon izlenmemiştir. Son yıllarda CK 5/6 mezotelyomalarda pozitif, AC'larda negatif boyanan bir antikor olarak önem kazanmıştır. Bununla ilgili olarak yapılan çalışmalardan 1997'de Clover ve ark. (40) MM'larda %100 boyanma elde ederken, AC'da 27 olgunun 5'inde pozitif boyanma elde etmişlerdir. 2000 yılında Cury ve ark. (18) CK5/6 ile MM'ların %92'sinde, metastatik AC'ların %14'nde pozitif sitoplazmik boyanma gözlemişlerdir. Ordonez'in çalışmasında ise bu antikor ile MM'ların %100'ünde (40/40), AC'ların ise hiçbirinde reaktivite saptanmamıştır (10). Bu bulgularla CK 5/6'nın epitelyal mezotelyoma ayırıcı tanısında önemli bir yere sahip olacağı düşünülmektedir.

Bu çalışmada değerlendirilen histokimyasal boyalardan PAS ile MM'ların 9'unda (n=12), AC'ların 7'sinde (n=8), PAS-diyastaz ile 3 MM olgusunda ve 6 AC olgusunda boyanma izlenmiştir. Bu sonuçlar ile PAS, PAS-diyastaz boyalarının ayırıcı tanıda yararlı olamayacağı görülmektedir. Nötral müsin varlığının tespiti (PAS, PAS-diyastaz ile) AC tanısında sıklıkla başvuru, uygulaması kolay, güvenilir bir yöntemdir. Ancak PAS, PAS-diyastaz pozitif boyanan epitelyal mezotelyomalar olduğu gibi, PAS, PAS-diyastaz negatif boyanan akciğer adenokarsinomları da mevcuttur (1,2,3). Bu nedenle tek başına güvenilir bir yöntem olarak görülmemektedir. Ancak immünohistokimyasal panele destekleyici bir histokimyasal yöntem olarak kullanılabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada kalretinin ve trombomodulin malign mezotelyoma ve akciğer adenokarsinomu

ayırıcı tanısında, MM için pozitif boyanan antikorlar olarak öne çıkmaktadır. Vimentin de bu immünohistokimyasal panelde, MM'da pozitif boyanan antikor olarak yer alabilecek özelliktedir. Bu çalışmada CEA ve CD 15 antikorlarının duyarlılık ve özgüllük oranlarının düşük olduğu saptanmıştır. Ancak bu markerların, MM ve AC'larda farklı boyanma paternleri gösterdiği dikkat çekmiştir. Bu nedenle MM ile AC ayırıcında bu markerların boyanma paternlerinin de göz önünde bulundurulmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Carella R, Deleonardi G, Errico AD. Immunohistochemical panels for differentiating epithelial malign mesothelioma from lung adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2001; 25(1): 43-50.
2. Oates J, Edwards C. HBME -1, MOC-31, WT 1 and calretinin an assesment of recently described markers for mesothelioma and adenocarcinoma. *Histopat* 2000; 36: 341-47.
3. Foster MR, Johnson JE, Olson SJ, Allred DC. Immunohistochemical analysis of nuclear versus cytoplasmic staining of WT 1 in malign mesotheliomas and primary pulmonary adenocarcinomas. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125(10):1316-20.
4. Comin CE, Novelli L, Boddi V, Paglierani M, Dini S. Calretinin, Thrombomodulin, CEA, CD 15. A useful combination of immunohistochemical markers for differentiating pleural epithelial mesothelioma from peripheral pulmonary adenocarcinoma. *Hum Pathol* 2001; 32 (5): 529-36.
5. Roberts F, Harper CM, Downie I, Burnett RA. Immunohistochemical analysis still has a limited role in the diagnosis of malign mesothelioma. *Am J Clin Pathol* 2001; 116: 253-62.
6. Leers MP, Aarts MM, Theunissen PH. E-cadherin and calretinin: a useful combination of immunohistochemical markers for differentiating between mesothelioma and metastatic adenocarcinoma. *Histopathol* 1998; 32(3): 209-16.
7. Betta PG, Andron A, Donna A, Mollo F, Scelsi M, et al. Malignant mesothelioma of the pleura. The reproducibility of the immunohistological diagnosis. *Pathol Res Pract* 1997; 193(11-12): 759-65.
8. Brockstedt U, Gulyas M, Dobra K, Dejmek A, Hjerpe A. Optimized battery of eight antibodies that can distinguish most cases of epithelial mesothelioma from adenocarcinoma. *Am J Clin Path* 2000; 114(2): 203-9.
9. Henderson DW, Comin CE, Hammar SP. Malignant mesothelioma of the pleura. In: Corrin B, ed. *Current Surgical Pathology: Pathology of Lung Tumors*. New York: Churchill Livingstone, 1997: 241-80.
10. Ordonez NG. The immunohistochemical diagnosis of epithelial malignant mesothelioma. *Hum Pathol* 1999; 30: 313-23.
11. Riera JR, Astengo-Osuna C, Longmate JA, Battifora H. The immunohistochemical diagnostic panel for epithelial mesothelioma. A re-evaluation after heat induced epitope retrieval. *Am J Surg Pathol* 1997; 21: 1409-19.
12. Doglioni C, Tos AP, Laurino L, Iuzzolino P, Chiarelli C, et al. Calretinin: a novel immunocytochemical marker for mesothelioma. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 1037-46.
13. Tos AP, Doglioni C. Calretinin: A novel tool for diagnostic immunohistochemistry. *Adv Anat Pathol* 1998; 5: 61-6.
14. Rogers J, Khan M, Ellis J. Calretinin and other Ca binding proteins in the nervous system. *Adv Exp Med Biol* 1990; 269: 195-203.
15. Gotzos V, Vogt P, Celio MR. The calcium binding protein calretinin is a selective marker for malign pleural mesotheliomas of the epithelial type. *Pathol Res Pract* 1996; 192: 137-47.
16. Barberis MC, Faleri M, Veronese S, Casadio C, Viale G. Calretinin: A selective marker of normal and neoplastic mesothelial cells in serous effusions. *Acta Cytol* 1997; 41: 1757-61.
17. Ordonez NG. Value of calretinin immunostaining in differentiating epithelial mesothelioma from lung adenocarcinoma. *Mod Pathol* 1998; 11: 929-33.
18. Cury PM, Butcher DN, Fisher C, Corrin B, Nicholson AG. Value of the mesothelium-associated antibodies thrombomodulin, cytokeratin 5/6, calretinin and CD 44H in distinguishing epitheloid pleural mesothelioma from adenocarcinoma metastatic to the pleura. *Mod Pathol* 2000; 13: 107-12.
19. Collins CL, Ordonez NG, Schaefer R. Thrombomodulin expression in malignant pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma. *Am J Pathol* 1992; 141: 827-33.
20. Ascoli V, Scalzo CC, Taccogna S, Nardi F. The diagnostic value of thrombomodulin immuno-localization in serous effusions. *Arch Pathol Lab Med* 1995; 119: 1136-40.

21. Ordenez NG. Value of thrombomodulin immunostaining in the diagnosis of mesothelioma. *Histopathol* 1997; 31: 25-30.
22. Kennedy AD, King G, Kerr KM. HBME-1 and antithrombomodulin in the differential diagnosis of malignant mesothelioma of pleura. *J Clin Pathol* 1997; 50: 859-62.
23. Attanoos RL, Goddard H, Gibbs AR. Mesothelioma binding antibodies: Thrombomodulin, HBME-1 and their use in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Histopathol* 1996; 29: 209-15.
24. Brown RW, Clark GM, Tandon AK, Allred DC. Multiple - marker immunohistochemical phenotypes distinguishing malignant pleural mesothelioma from pulmonary adenocarcinoma. *Hum Pathol* 1993; 24: 347-54.
25. Benjamin CJ, Ritchie AC. Histological staining for the diagnosis mesothelioma. *Am J Med Technol* 1982; 48: 905-8.
26. Wang N, Huang S, Gold P. Absence of CEA - like material in mesothelioma. An immunohistochemical differentiation from other lung cancers. *Cancer* 1979; 44: 937-43.
27. Henderson DW, Shilkin KB, Whitaker D. The pathology of malignant-mesothelioma, including immunohistology and ultrastructure. In: Henderson DW, Shilkin KB, Langlois SL, eds. *Malignant Mesothelioma*. New York: Hemisphere; 1992: 69-166.
28. Demjek A, Hjerpe A. Carcinoembryonic antigen-like reactivity in malignant mesothelioma. *Cancer* 1994; 73: 464-9.
29. Latza U, Neidobitek G, Schwarting R, Nekarda H, Stein H. Ber-EP4: New monoclonal antibody which distinguishes epithelia from mesothelia. *J Clin Pathol* 1990; 43: 213-9.
30. Sheibani K, Shin SS, Kezirian JJ, Weiss LM. Ber-EP4 antibody as a discriminant in the differential diagnosis of malignant versus adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 779-84.
31. Gaffey MJ, Mills SE, Swanson PE, Zarbo RJ, Shah AR, et al. Immunoreactivity for Ber-EP4 in adenocarcinomas, adenomatoid tumors and malignant mesotheliomas. *Am J Surg Pathol* 1992; 16: 593-9.
32. Sheibani K, Battifora H, Burke JS, Rappaport H. Leu M1 antigen in human neoplasms. An immunohistological study of 400 cases. *Am J Surg Pathol* 1986; 10: 227-36.
33. Sheibani K, Battifora H, Burke JS. Antigenic phenotype of malignant mesotheliomas and pulmonary adenocarcinomas: an immunohistological analysis demonstrating the value of Leu M1 antigen. *Am J Pathol* 1986; 123: 212-9.
34. Battifora H. The Pleura. In: Sternberg SS, ed. *Diagnostic Surgical Pathology*. In: Vol 1. New York: Raven Press, 1989: 829-55.
35. Hammar SP, Bolen JW, Bockus D, Remington F, Friedman S. Ultrastructural and immunohistological features of common lung tumors. *Ultrastruct Pathol* 1985; 9: 283-318.
36. Jasani B, Edwards RE, Thomas ND, Gibbs AR. The use of vimentin antibodies in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1985; 406: 441-8.
37. Lin BT, Colby T, Gown AM. Malignant vascular tumors of the serous membranes mimicking mesothelioma: A report of 14 cases. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 1431-9.
38. Shijubo N, Honda Y, Fujishima T, Takahashi H, Kodama T, et al. Lung surfactant protein-A and carcinoembryonic antigen in pleural effusions due to lung adenocarcinoma and malignant mesothelioma. *Eur Respir J* 1995; 8(3): 403-6.
39. Dessy E, Falleni M, Del Curto B, Braidotti P, Pietra GG. Surfactant protein and thyroid transcription factor 1 in pleuropulmonary neoplasia. *Pathologica* 2000; 92(6): 496-502.
40. Clover J, Dates J, Edwards C. Anti- cytokeratin 5/6: a positive marker for epitheloid mesothelioma. *Histopathology* 1997; 31: 140-3.