

Prostatik adenokarsinomlarda nükleer morfometrinin Gleason skoru ile ilişkisi

Nuclear morphometry associated with Gleason score in prostatic adenocarcinoma

Sibel BEKTAŞ¹, Banu DOĞAN GÜN¹, Burak BAHADIR¹, Aydın MUNGAN², Şükrü Oğuz ÖZDAMAR¹

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji¹ ve Üroloji² Anabilim Dalları, ZONGULDAK

ÖZET

Prostat kanseri derecelendirmesinde objektif bir metot yaratmak için kantitatif morfometrik ölçüm yöntemleri denenmektedir. Çalışmamızda, görüntü analiz sistemi kullanılarak prostatik adenokarsinom hücre nükleuslarında morfometrik ölçümler yapılmış, sonuçlar olguların Gleason skorları ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmaya, 40'ı (%74) organ iğne biyopsisi ve 14'ü (%26) prostatektomi materyalinden oluşan 54 prostatik adenokarsinom olgusu dahil edilmiştir. Her bir olgu için adenokarsinom alanlarında, 150 hücre nükleusu seçilerek mikroskopik görüntüleri bilgisayara aktarılmıştır. Görüntü analiz programı ile aynı alanlarda nükleer alan, yuvarlaklık faktörü ve elipslik indeksi otomatik olarak ölçülmüş, Gleason skorları ile ilişkilerini tespit etmek için korelasyon analizi yapılmıştır. Tüm materyaller birlikte değerlendirildiğinde Gleason skoru ve ortalama nükleer alan arasında orta derecede anlamlı ilişki ($r: 0.456$, $p=0.001$), organ iğne biyopsisi grubunda ise Gleason skoru ile ortalama nükleer alan arasında çok güçlü derecede anlamlı ilişki ($r: 0.752$, $p=0.001$) saptanmıştır. Prostatektomi grubunda Gleason skoru ile bu faktörler arasında ilişki tespit edilmemiştir. Sonuç olarak, prostatik adenokarsinomda ortalama nükleer alan değeri, hastalığın patolojik durumunun değerlendirilmesine katkı sağlayabilir.

Anahtar sözcükler: Nükleer morfometri, Gleason skoru, adenokarsinom, prostat

ABSTRACT

Quantitative morphometric methods have been tried to develop objective grading system in prostatic adenocarcinoma. In this study morphometric analysis results of the prostatic adenocarcinoma were compared with the Gleason scores of 54 cases; 40 of them (74%) were prostate needle biopsy specimens and 14 (26%) were prostatectomy specimens. For each case, about 150 nuclei were included for the morphometric analysis. After transferring microscopic images to the computer, nuclear area, roundness factor, and form ellipse were automatically measured by an image analysis program. The relationship between Gleason score and these varieties were determined by using correlation analysis. Among all the specimens, Gleason score and mean nuclear areas showed significant moderate correlation ($r: 0.456$, $p=0.001$). As the needle biopsy group concerned, strong correlation was determined between Gleason score and the mean nuclear area ($r: 0.752$, $p=0.001$). As a result, in the prostatic adenocarcinoma, mean nuclear area assessment may support to evaluate pathologic status of the disease.

Key words: Nuclear morphometry, Gleason score, adenocarcinoma, prostate

GİRİŞ

Glandüler yapıların diferansiyasyon derecesine dayanan Gleason derecelendirme sistemi,

Bu çalışma, 18. Ulusal Patoloji Sempozyumu'nda (07-11.05.2006, Çeşme) poster bildiri olarak sunulmuştur.

Yazışma adresi: Dr. Sibel Bektaş, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Kozlu, 67600, Zonguldak

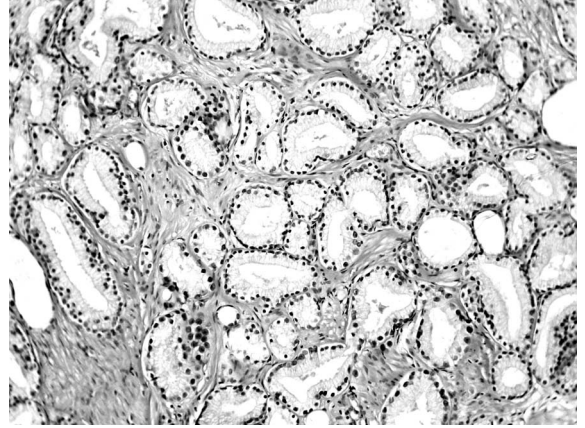
prostatik adenokarsinomda en yaygın kullanılan sistemdir. Bu sistemin subjektif doğası mutlak tekrar edilebilirliğini engeller, sonuç olarak gözlemci içi ve gözlemciler arasında farklılıklara neden olur (1-3). Bilgisayar destekli görüntü analizi, neoplastik lezyon barındıran normal görünümlü prostat duktus ve asinüslerinde insan gözünün saptayamayacağı morfolojik nükleer

anormalliklerin saptanmasını ve oluşturulan morfometrik değerlendirme metotları nükleer boyut, yuvarlaklık, şekil, kromatin yapısı ve diğer nükleus özelliklerinin objektif olarak değerlendirilmesini sağlar. Son yıllarda Gleason derecelendirme sisteminin subjektivitesini yenmek, prognostik değerini geliştirmek ve prostat kanseri derecelendirmesinde objektif bir metot yaratmak için kantitatif morfometrik ölçümlere dayalı çalışmalar gündeme gelmiştir (1,4,5).

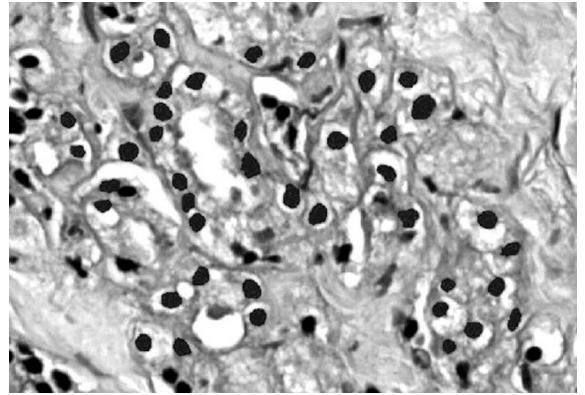
GEREÇ ve YÖNTEM

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2000-2004 yılları arasında prostatik adenokarsinom tanısı almış, 40'ı (%74) prostat iğne biyopsisi ve 14'ü (%26) prostatektomi materyalinden oluşan 54 olgu çalışmamıza dahil edilmiştir. Serimize, morfometrik ölçüm yapılmasını engelleyecek olan; biyopsi alınma yöntemi, fiksasyon, doku takibi ve boyanma aşamalarından kaynaklanan artefaktlar gözlenen ve ölçüm yapılamayacak kadar küçük adenokarsinom alanı içeren prostat doku kesitlerine sahip olgular dahil edilmemiştir. Olguların klinik verileri hasta dosyalarından temin edilmiştir.

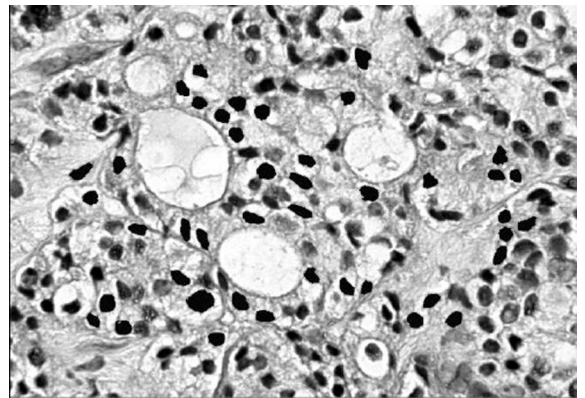
Olgulara ait H-E boyalı kesitler, Gleason skorları (GS) bilinmeksizin retrospektif olarak incelenmiş ve aynı patolog tarafından yeniden Gleason skorlaması yapılmıştır. Olguların H-E boyalı doku kesitlerindeki adenokarsinom alanlarının mikroskopik görüntüleri, mikroskoptan (Leica DMLB 100S) video kamera (Leica DFC 280) ile bilgisayara aktarılmış, bu alanlardan her bir olgu için keskin dış sınırlara sahip 150 hücre nükleusu seçilerek, görüntü analiz programı (Leica QWINPlus v. 3.1.0) ile aynı alanlarda nükleer alan, yuvarlaklık faktörü ve elipslik indeksi otomatik olarak ölçülmüştür (Resim 1-4). Yuvarlaklık faktörü, " $\text{perimetre}^2/4\pi \times \text{alan}$ " formülüne göre, elipslik indeksi ise " uzun çap/kısa çap " oranlanması ile hesaplanmıştır. Her bir olguyu temsil edecek ortalama nükleer alan (ONA), ortalama nükleer yuvarlaklık faktörü



Resim 1. Prostatik adenokarsinomda Gleason derece: 2 alanı (HE x100).

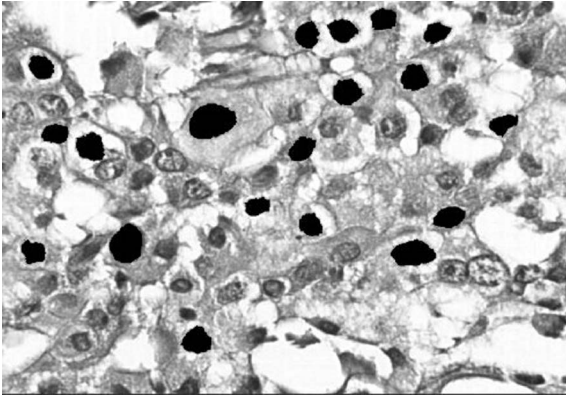


Resim 2. Gleason derece: 3 alanında nükleer morfometrik alan ölçümü (HE x200).



Resim 3. Gleason derece: 4 alanında nükleer morfometrik yuvarlaklık ölçümü (HE x200).

(ONYF) ve ortalama elipslik indeksi (ONEİ); ölçüm değerlerinin aritmetik ortalamaları alınarak hesaplanmıştır. Olguların ONA, ONYF ve ONEİ değişkenleri ile GS'ları arasındaki ilişki-



Resim 4. Gleason derece: 5 alanında nükleer morfometrik elipslik ölçümü (HE x400).

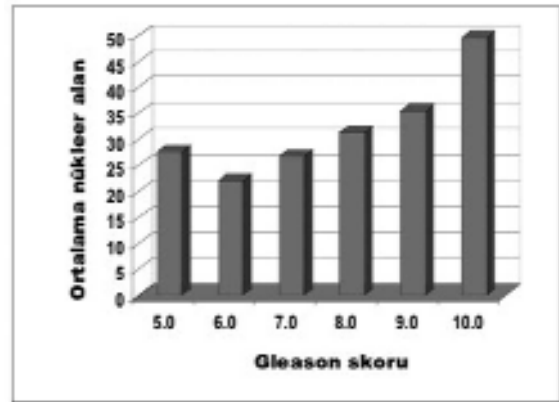
yi belirlemek için korelasyon analizi yapılmıştır (SPSS for Windows, v.11).

BULGULAR

Elli dört olgunun yaşları 46 ile 80 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 64.69 (SD±7.54) olarak saptanmıştır. Organ iğne biyopsisi grubunda GS: 5 olan 3 (%7.5), GS: 6 olan 13 (%32.5), GS: 7 olan 21 (%52.5), GS: 8 olan bir (%2.5), GS: 9 olan 1 (%2.5) ve GS: 10 olan bir (%2.5) bulunmaktadır. Prostatektomi grubunda ise GS: 5 olan 4 (%28.6), GS: 6 olan 3 (%21.4), GS: 7 olan 5 (%35.7), GS: 9 olan bir (%14.3) olgu bulunmaktadır. GS: 8 ve 10 olan olgu ise mevcut değildir. Ölçüm yapılan tüm kanser alanlarının ortalama sayısı 4.2 olup, iğne biyopsisi materyalleri için 4.1, prostatektomi materyalleri için ise 4.6 olarak belirlenmiştir. Tüm olgular arasında ONA: 16.79-49.51 μm^2 , ONYF: 1.09-1.38, ve ONEİ: 1.29-1.81 değerleri arasında dağılım göstermektedir. Prostatekto-

mi ve organ iğne biyopsisi gruplarına göre GS dağılımı ile ONA, ONYF ve ONEİ değerleri tablo 1'de verilmiştir.

İstatistiksel olarak, olguların iğne biyopsisi ve prostatektomi materyallerinin tümü birlikte değerlendirildiğinde; Gleason skoru ve ortalama nükleer alan arasında orta derecede anlamlı ilişki ($r:0.456$, $p=0.001$) saptanmış (Şekil 1), ortalama nükleer yuvarlaklık faktörü ($r:-0.51$, $p=0.717$) ve ortalama elipslik indeksi ile ($r:-0.220$, $p=0.110$) bir ilişki saptanmamıştır. Prostat iğne biyopsisi grubunda Gleason skoru ile ortalama nükleer alan arasında güçlü derecede anlamlı ilişki ($r:0.752$, $p=0.001$) saptanmış (Şekil 2), ortalama nükleer yuvarlaklık faktörü ($r:0.120$, $p=0.462$) ve ortalama elipslik indeksi ile ($r:-0.392$, $p=0.012$) ilişki saptanmamıştır. Prostatektomi grubunda ise, Gleason skoru ile ortalama nükleer alan ($r:-0.075$, $p=0.798$), ortalama nükleer yuvarlaklık faktörü ($r:-0.611$,

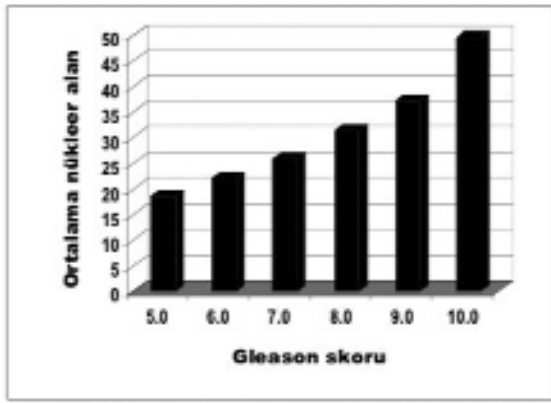


Şekil 1. Tüm olgularda Gleason skor ve ortalama nükleer alan ilişkisi.

Tablo 1. Olguların Gleason skoru ve nükleer morfometrik ölçüm sonuçları.

Materyal tipi	ONA (μm^2)	ONYF	ONEİ	GS:5	GS:6	GS:7	GS:8	GS:9	GS:10	Toplam
Prostat iğne biyopsisi %74	Min: 16.79 Maks: 49.51	Min: 1.12 Maks: 1.38	Min: 1.42 Maks: 1.81	%7.5 n:3	%32.5 n:13	%52.5 n:21	%2.5 n:1	%2.5 n:1	%2.5 n:1	%100 n:40
Prostatektomi %26	Min: 18.68 Maks: 44.49	Min: 1.09 Maks: 1.31	Min: 1.29 Maks: 1.50	%28.6 n:4	%21.4 n:3	%35.7 n:5	0	%14.3 n:2	0	%100 n:14

ONA:Ortalama nükleer alan, ONYF: Ortalama nükleer yuvarlaklık faktörü, ONEİ:Ortalama nükleer elipslik indeksi, GS: Gleason skoru, Min:Minumum, Maks:Maksimum



Şekil 2. Prostat iğne biyopsisi materyallerinde Gleason skoru ile ortalama nükleer alan ilişkisi.

$p=0.020$) ve ortalama elipslik indeksi ($\sigma:-0.448$, $p=0.108$) arasında ilişki belirlenmemiştir.

TARTIŞMA

Günümüzde, prostatik adenokarsinomda en yaygın kullanılan derecelendirme yöntemi Gleason sistemidir. Bu sistem, H-E boyalı prostat doku kesitlerinde, karsinom hücrelerinin histopatolojik düzenlenme paternine dayanır (6). Ancak bu skorlama sistemi, gözlemci içi ve gözlemciler arası değişkenliği içeren potansiyel problemlere sahiptir (1,2). Bu nedenle prostatik adenokarsinomlarda derece belirlenmesinde farklı gruplar arasında karşılaştırma yapmaya imkan tanıyan, kolay uygulanabilen ve güvenilir objektif yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır (7).

Tümör hücrelerinin patolojik özelliklerinin kantitatif ölçümler yapılarak tanınması ile, konvansiyonel histopatolojik derecelendirme sistemlerindeki subjektiviteyi azaltmak amaçlanmaktadır. Nükleer morfolometri yöntemleri ile kantitatif ölçümler için H-E boyalı kesitlerde, matematiksel farklı nükleer parametreler tek başına veya birlikte hesaplanabilmektedir (8,9). Normal insan hücre nükleusları yuvarlak olma eğilimlidir, oysa kanser hücrelerinde nükleuslar, şekil ve büyüklük farklılığı göstermektedir. Bu morfolojik görünümünden yola çıkarak, 1982 ve 1983 yıllarında nükleer morfolometrik ölçümlere dayanan ilk sonuçlar bildirilmiş ve bu

çalışmalarda ilk olarak Diamond ve ark.'ları tarafından tanımlanan nükleer yuvarlaklık faktörünün prognoz ile yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir (10). Partin ve ark.'ları, ONYF ve ONEİ verileri ile hastaların prognozları arasında anlamlı ilişki saptamış (11), buna karşın Bloom ve ark.'ları ise çalışmalarında, ONYF ve ONEİ değerlerinin hasta sağ kalımı ve prognoz ile ilişkisi bulunmadığını belirtmiştir (7). ONYF ve ONEİ ölçüm sonuçları ile hasta prognozları arasında saptanan farklı değerlendirmeler, bu faktörlerin iyi standardize edilerek çalışılması gerektiğini ortaya koymuştur (12,13). Biz de çalışmamızda, prostatektomi ve organ iğne biyopsisi materyallerinde GS ile ONYF ve ONEİ arasında bir ilişki saptayamadık. Bu parametreleri daha geniş olgu serilerinde tekrar sınamayı düşünüyoruz.

Benign prostat hiperplazisinde hücre nükleuslarının, prostat adenokarsinomu nükleuslarına göre daha küçük ortalama nükleer alan ve daha büyük ortalama nükleer elipsliğe sahip olduğunu, ayrıca prostatik adenokarsinom hücre nükleuslarının GS artışı ile büyüdüğü, ortalama nükleer alanın anlamlı prognostik faktör olduğu belirtilmiştir (14,15). $28 \mu m^2$ 'den büyük veya $26.3 \mu m^2$ ile $93.3 \mu m^2$ arasındaki ONA değerlerinin malignite için anlamlı bir gösterge olduğu ileri sürülmüştür (16,17). Olgularımızın ONA değerleri 16.79 ile $49.51 \mu m^2$ arasında değişmekteydi; diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında daha düşük ONA değerleri saptadık. Yetersiz fiksasyon ve biyopsi alma yöntemlerine bağlı olarak hücre nükleus değişimlerinin bu sonuç farklılığına katkısının olabileceğini düşünmekteyiz.

Çok sayıda çalışmada farklı nükleer morfolometrik parametrelerin, prognoz ile ilişkileri olduğu ileri sürülmüştür. Dünya Sağlık Örgütü de prostat kanserinde bilinen diğer prognostik faktörlere ek olarak, nükleer derecelendirme kullanılmasını önermiştir (10-18). Bu çalışmada çoğu olgunun gözlem periyodunun kısa olmasından dolayı, hasta prognozları ile morfolometrik parametrelerin ilişkileri değerlendirilememiştir.

Çalışmamızda, 54 olguluk tüm prostat materyali ve 40 olguluk prostat iğne biyopsisi gruplarında, ortalama nükleer alan değerinin Gleason skoru ile anlamlı ilişkisi olduğu saptandı. Bu nedenle, prostat kanserinde diğer prognostik faktörler yanında biz de “nükleer morfolojik derecelendirme” kullanılmasını desteklemekteyiz. Prostatektomi grubumuzda ortalama nükleer alan, ortalama nükleer yuvarlaklık faktörü ve ortalama elipslik indeksi ile Gleason skorları arasında ilişki saptanmamıştır. Bu ilişkilerin, hasta izlem bilgileri ile birlikte daha çok sayıda olgu içeren serilerde tekrar araştırılmasının yararlı sonuçlar vereceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Bostwick DG. Grading prostate cancer. *Am J Clin Pathol* 1994;102:38-56.
2. Bostwick DG. Evaluating prostate needle biopsy: Therapeutic and prognostic importance. *CA Cancer J Clin* 1997;47:297-319.
3. Ozdamar SO, Sarıkaya S, Yıldız L, Atilla MK, Kander B, Yıldız S. Intraobserver and interobserver reproducibility of WHO and Gleason histologic grading systems in prostatic adenocarcinomas. *Int Urol Nephrol* 1996;23:73-77.
4. Berman JJ, Moore GW. Image analysis software for the detection of preneoplastic and early neoplastic lesions. *Cancer Lett* 1994;77:2-3.
5. Silva CS, Saldiva PHN, Ellinger F, Filho BL, Capelozzi VL, Antonangelo L. Quantitation of conventional histologic parameters and biologic factors in prostatic needle biopsy are useful to distinguish paramalignant from malignant disease. *Pathol Res Prac* 2004;200:599-608.
6. Humphrey PA. Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. *Mod Pathol* 2004;17:292-306.
7. Blom JH, Ten Kate FJW, Schroeder FH, van der Heul RO. Morphometrically estimated variation in nuclear size. A useful tool in grading prostatic cancer. *Urol Res* 1990;18:93-99.
8. Veltri RW, Partin AW, Miller MC. Quantitative nuclear grade (QNG): A new image analysis-based biomarker of clinically relevant nuclear structure alterations. *J Cell Biochem Suppl* 2000;35:151-157.
9. Zhang Y, Kanamaru H, Oyama N, Miwa Y, Suzuki Y, Akino H, Noriki S, et al. Comparison of nuclear morphometric results between needle biopsy and surgical specimens from patients with prostate cancer. *Urology* 1999;54:763-766.
10. Diamond DA, Berry SJ, Umbricht C, Jewett HJ, Coffey DS. Computerized image analysis of nuclear shape as a prognostic factor for prostatic cancer. *Prostate* 1982;3:321-332.
11. Partin AW, Walsh AC, Pitcock RV, Mohler JL, Epstein JI, Coffey DS. A comparison of nuclear morphometry and Gleason grade as a predictor of prognosis in stage A2 prostate cancer: a critical analysis. *J Urol* 1989;142:1254-1258.
12. Mohler JL, Partin AW, Lohr WD, Coffey DS. Nuclear roundness factor measurement for assessment of prognosis of patients with prostatic carcinoma. I. Testing of a digitization system. *J Urol* 1988;139:1080-1084.
13. Mohler JL, Partin AW, Epstein JI, Lohr WD, Coffey DS. Nuclear roundness factor measurement for assessment of prognosis of patients with prostatic carcinoma. II. Standardization of methodology for histologic sections. *J Urol* 1988;139:1085-1090.
14. Choi NG, Sohn JH, Park HW, Jung TY. Apoptosis and nuclear shapes in benign prostate hyperplasia and prostate adenocarcinoma: Comparison with and relation to Gleason score. *Int J Urol* 1999;6:13-18.
15. Aragona F, Franco V, Rodolico V, Dardanoni G, Cabi D, Melloni D, Pavone C, et al. Interactive computerized morphometric analysis for the differential diagnosis between dysplasia and well differentiated adenocarcinoma of the prostate. *Urol Res* 1989;17:35-40.
16. Zhang Y, Kanamaru H, Oyama N, Miwa Y, Suzuki Y, Akino H, Noriki S. Prognostic value of nuclear morphometry on needle biopsy from patients with prostate cancer: is volume-weighted mean nuclear volume superior to other morphometric parameters? *Urology* 2000;55:377-381.
17. Buhmeida A, Kuopio T, Collan Y. Nuclear size and shape in fine needle aspiration biopsy samples of the prostate. *Anal Quant Cytol Histol* 2000;22:291-298.
18. Montironi R. Prognostic factors in prostate cancer. *BMJ* 2001;322:378-379.