

Kolon endoskopik biyopsilerinde müsifajların histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmesi*

Dr. Nurdan Tunalı** Dr. Canan Ersöz** Dr. Gülfiliz Gönüşen** Dr. Melek Ergin**

ÖZET

Herhangi bir dokunun histopatolojik incelenmesinde parankimal veya stromal elemanlarda araştırılması gereken başlıca anahtar noktalar belirlenmiş olmasına rağmen, rutin biyopsi sırasında gözden kaçabilen bazı nadir bulgular olduğu bilinmektedir. Müsifajlar bunlara iyi bir örnek oluşturmaktadır. Rektal biyopsilerde normal popülasyonda %10 oranında müsifaj bulunabildiği bildirilmekte ve bunların görülmesi Whipple hastalığı, malakoplaki ayırıcı tanısında önem taşımaktadır. Endoskopik biyopsilerde tanısı güç konan taşlı yüzük hücreli karsinom ile müsifaj içeren kolon mukozal biyopsilerinin ayırıcı tanısı patoloğu bekleyen bir başka önemli yanılıgı konusu olabilir. Bu konuya dikkatleri çekmek ve kendi popülasyonumuzdaki müsifaj oranını saptamak amacıyla 1987-1991 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında saptanan 431 kolonoskopik biyopsi olgusu yeniden değerlendirilmiş, 346 olguya müsikarmen, PAS, Alcian mavisi, 16 olguya Con-A, lizozim, alfa-1 antitripsin uygulanarak ışık mikroskopunda incelenmiştir. Kontrol olarak kolon ve mide taşlı yüzük hücreli karsinom rezeksiyon materyalleri alınmıştır. 431 olgunun 267'si normal kolon mukozal doku örnekleri olup 46'sında (%17,2), 108 kolit olgusunun 17'sinde (%15,7), 29 ülseratif kolit olgusunun 6'sında (%20,6), 9 amiloidozis olgusunun 1'inde (%11,1), 18 karsinom olgusunun 8'inde (%44,4) müsifajlar izlenmiştir. Müsifaj saptanan 17 olguda Con-A, anti-lizozim, anti-alfa-1 antitripsin ABC immüno-peroksidaz yöntemi ile değerlendirilmiştir. Kolonmukozasında mevcut müsifaj içeriğinin fagosit edilerek histiosit içinde görülebilmesi için beklenen etyopatogenetik olay, bir doku zedelenmesi olayı olmakla birlikte normal popülasyonda rektum endoskopik biyopsilerinde %10 oranında müsifaj bulunduğu bildirilmiştir. Ancak çalışmamızda karsinom olgularında %44,4, ülseratif kolit olgula-

SUMMARY

Detection of musiphages in colonic endoscopic biopsy materials by means of histochemical and immunohistochemical methods

In histopathological analysis of tissues, search for only predetermined routine key features may lead to histopathological misdiagnosis in occasional cases. Other features that could be an indicator of a disease should also be looked for. Presence of muciphages which have significance in the differential diagnosis of Whipple disease and malakoplakia are such features. The differential diagnosis of signet ring cell carcinoma and muciphage containing colonic mucosa may be puzzling for the pathologist. In order to emphasize this problem and to find out the rate of muciphage presence in the colonic mucosa in our population, this study was carried out at the Pathology Department of the Çukurova University Medical School. 431 colonic biopsies were reanalyzed; mucicarmen, PAS, and Alcian Blue were applied in 346 and Con-A, lysozyme, and a-1 antitrypsin were applied in 16 of the cases. Colonic and gastric signet ring cell carcinoma resection materials were used as controls.

Muciphages were determined in 46 (17.2%) of the 167 normal colonic mucosal tissue specimens, in 17 (15.7%) of the 108 colitis cases, in 6 (20.6%) of 29 ulcerative colitis cases, in 1 (11.1%) of 9 amyloidosis, and 8 (44.4%) of 18 carcinoma cases. Con-A, anti-lysozyme, anti a-1 antitrypsin ABC were investigated by means of immunoperoxidase method.

A tissue injury is required for the phagocytosis of mucine by the histiocytes. Our finding of 44.4% and 20.6% rates of muciphage presence in colonic carcinomas and ulcerative colitis when compared with the 10.0% rate in the normal population indicates that pathological phenomena have increasing effect on the presence rate of these cells.

Key words: Histochemistry, immunoperoxidase, muciphage

* Bu çalışma 10. Ulusal Patoloji Kongresinde sunulmuştur.

** Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD

rında %20,6 oranında müsifaj saptanması, müsifajların görülme oranının patolojik olaylarda arttığını desteklemektedir.

Anahtar kelimeler: Histokimya, immünoperoksidaz, müsifaj

Herhangi bir dokunun histopatolojik incelemesinde parankimal veya stromal elamanlarda araştırılması gereken başlıca anahtar noktalar belirlenmiş olmasına rağmen, rutin biyopsi sırasında nadiren gözden kaçabilen bazı bulgular olduğu bilinmektedir. Kalın barsak endoskopik biyopsi materyallerinin değerlendirilmesinde dikkat edilmesi gereken temel yapılar; yüzey ve gland epiteli, goblet hücre sıklığı, lamina propriadaki hücresel popülasyonun niteliği ve niceliği, vasküler yapılar, muskularis mukoza ve submukozadır. Rektal biyopsilerde normal kişilerde %10 sıklıkta bulunduğu bildirilen müsifajlar makrofajlar (müsifajlar) tunika propriada her zaman beklenmediğimiz bir hücresel elemandır ve özellikle malakoplaki, Whipple ve ceroid depo hastalığı tanısında yanılgıya yol açabilmektedir.^{2,3,6}

MATERYAL VE METOD

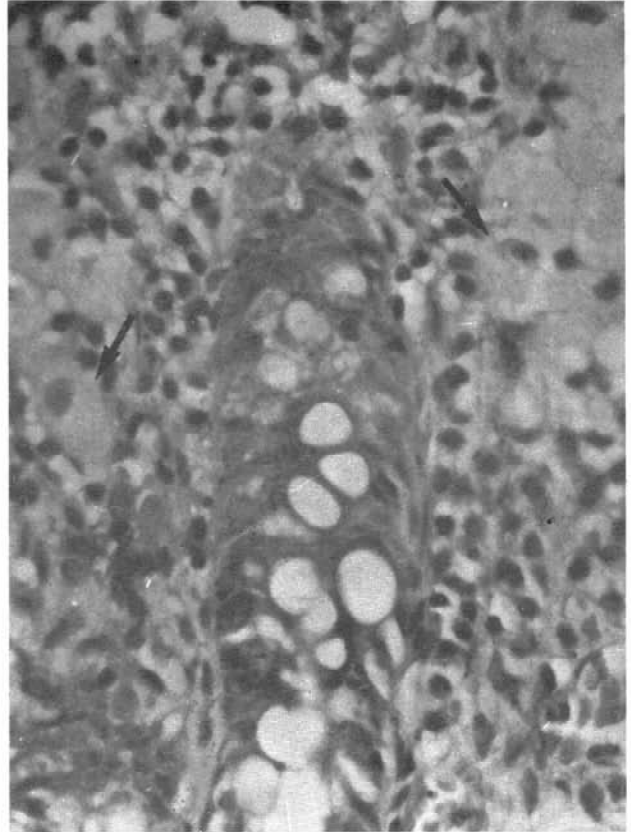
1987-1991 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına gelen 431 kolonoskopik biyopsi yeniden değerlendirilmiş; 1 kolon ve 1 mide taşlı yüzük hücreli karsinom rezeksiyon materyali kontrol olarak alınmıştır. Daha önce müsikarmen uygulanmamış 346 olguya histokimyasal yöntemlerle müsikarmen, PAS, Alsiyan mavisi; müsifaj içeren normal mukoza, kolitis ve karsinomali 5'er olgu ve 1 amiloidozisli toplam 16 olguya ve taşlı yüzük hücreli mide ve kolon karsinom rezeksiyon materyallerine ABC immünoperoksidaz yöntemleri ile Con-A, anti-lizozim ve anti-alfa-1 antitripsin uygulanarak ışık mikroskopunda incelenmiştir.

İstatistiksel değerlendirme Statgraphics istatistik paketinde Fisher's Exact Test yöntemi ile yapıldı.

BULGULAR

Bu çalışmamız sonucunda 431 olgudan 78'inde müsifaj saptanmış iken, müsifaj varlığının sadece 7 olguda rapor edildiği dikkati çekmiştir. Müsikarmen, PAS ve Alcian blue boyaları değerlendirilemeyen 85 olgu mevcut olup bunların 14'ünde salt HE ile müsifaj varlığı gözlenmiştir. Tüm olgular içinde HE ile farkedilemeyen diğer histokimyasal boyalar ile müsifaj saptanan olgu sayısı 32'dir.

Kalın barsak mukozası içinde müsifajlar karsinomlarda hem mukoza derininde, hem mukoza yüzeyinde hatta muskularis mukoza ve submukozada yerleşmekte, diğer olgulardan 25'inde yalnızca mukoza yüzeyinde, 18 olguda yalnızca mukoza derin katlarında, 17 olguda ise hem yüzeyde hem derinde gözlenmektedir. HE ile geniş soluk eozinofiliksitoplazmalı, santral yerleşimli nükleuslu görü-

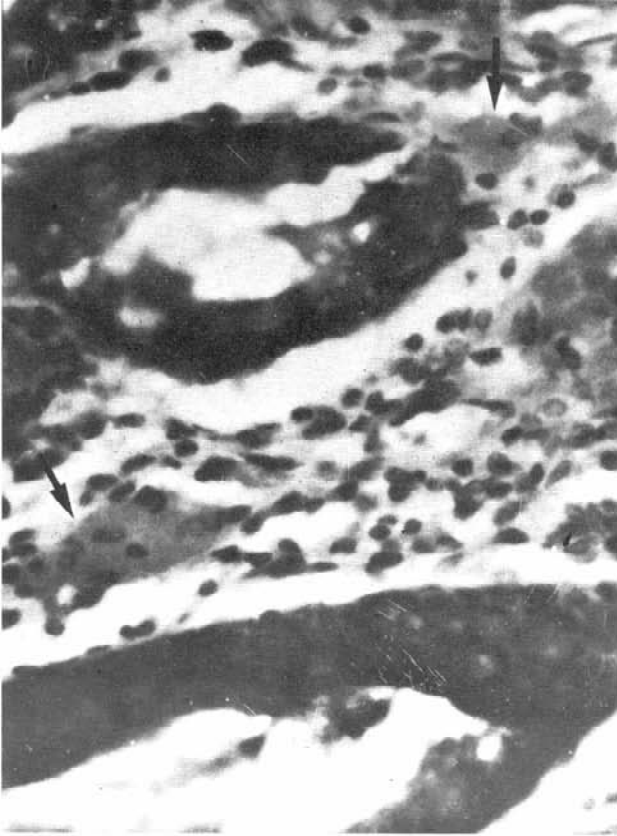


Resim 1: Kolon mukozasında tunika propriada soluk eozinofilik sitoplazmalı, santral yerleşimli nükleusa sahip müsifaj grupları görülmektedir (HE x 600).

len müsifajlar müsikarmen, PAS ve Alcian Blue ile şiddetli pozitif boyanmaktadır. (Resim 1, 2).

16 olguya uygulanan anti-alfa-1 antitripsin, antilizozim ile müsifaj sitoplazmalarında negatif boyanma saptanmıştır. Con-A ile müsifajlar tüm olgularda değişik şiddette pozitif bulunmuş, yüzey epitelinde hafif şiddette ve tunika propria lenfoid hücrelerinde değişen derecelerde (Resim 3) ve intestinal tip adenokarsinom hücrelerinin apikalinde zayıf pozitif boyanma göstermiştir. Kontrol olarak alınan mide ve kolon taşlı yüzük hücreli karsinom olgularında tümör hücre sitoplazmalarında Con-A ile şiddetli pozitif boyanma görülmüştür (Resim 4).

Patolojik gruplarla normal grubun müsifaj gösterme oranlarının karşılaştırılmasında sadece karsinoma grubunda normal gruptan istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.011$). Karsinom grubunun nonspesifik kolit grubuyla da anlamlı bir farkı varken ($p=0.012$), ülseratif kolit grubundan farkı -büyük ölçüde gruplardaki olgu sayısının yetersizliği nedeniyle- anlamlı bulunmamıştır ($p=0.160$). Normal ve benign olguların birleştirilmesi yapılan değerlendirmede malign lezyonların normal/benign gruptan çok önemli bir istatistik fark gösterdiği görülmüştür ($p=0.004$).



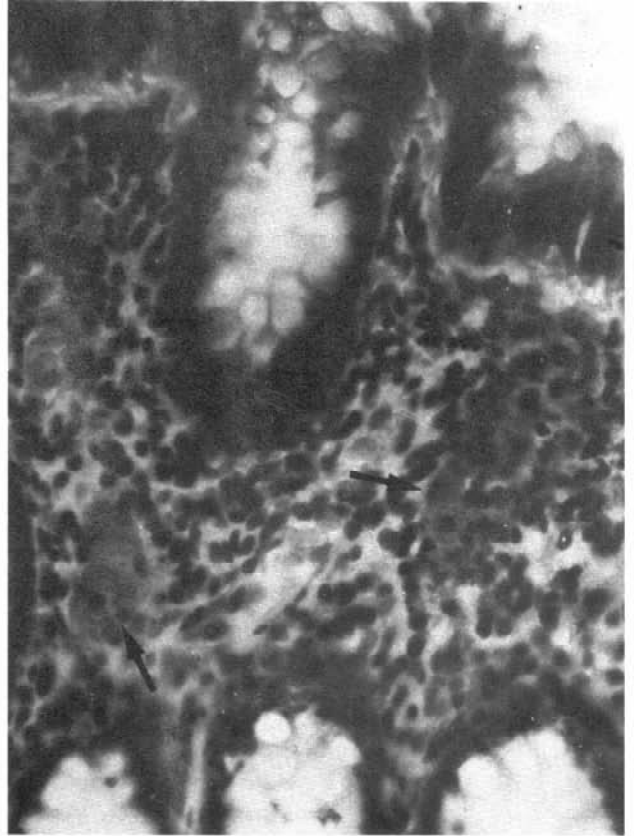
Resim 2: Müsikarmen ile pozitif boyanan müsifajlar görülmektedir (HE x 600).

TARTIŞMA

Kolonik müsiner barsak mikroçevresine karşı bariyer oluşturarak mukozanın korunmasında ve kayganlaştırılmasında önemli rol oynarlar. Sağlam kolon mukozasında başlıca goblet hücreleri ve küçük miktarlarda da kolumnar epitelde bulunan müsinin bir zedelenme olmadıkça tünika propriaya geçmesi beklenmeyen bir bulgu iken rektal endoskopik biopsilerde normal popülasyonda %10 sıklıkta müsifaj bulunduğunun bildirilmesi⁶ ilgi çekicidir.

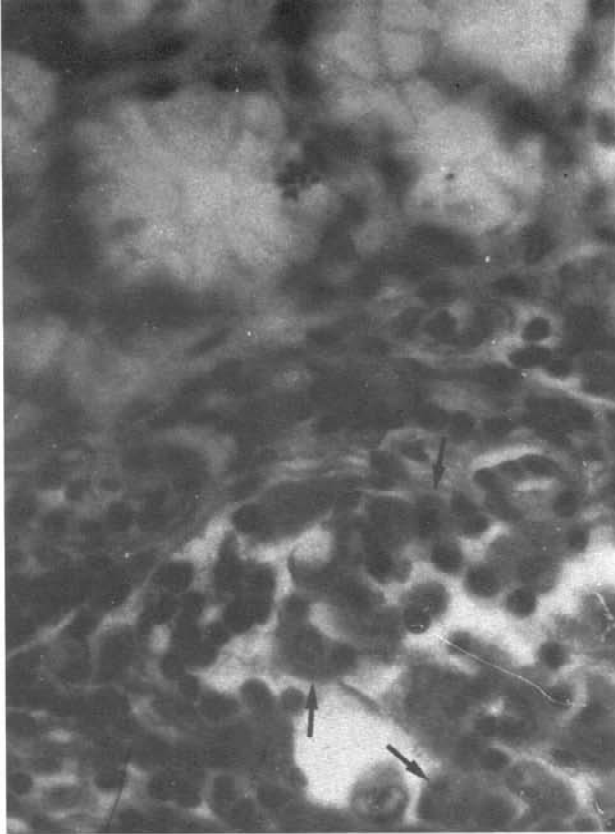
Çalışmamızda 431 kolonoskopik biopsi materyalinde Şekil 1'de görüldüğü gibi klinikçe gastrointestinal şikayeti olan ancak histopatolojik değişiklik göstermeyen kolon mukozası örneklerinde %17.2, nonspesifik kolitis olgularında %15.7, ülseratif kolitis olgularında %20.6, amiloidozis olgularında %11.1, karsinom olgularında %44.4, oranında müsifaj saptanmıştır. Serimizde amiloidozis olgularının az sayıda olması, bu olguların seçilerek alınması nedeniyle, Amiloidozisler dışında tüm patolojik özellikte kolon doku örneklerinde müsifaj görünme oranı ise %20'dir.

Müsifaj görülme oranının malignensi'ye zemin hazırlayan idiopatik barsak hastalıklarından ülseratif kolitte (her ne kadar istatistik önem vermese de) ve karsinomlarda sırasıyla giderek artması müsifaj varlığının kalın barsak



Resim 3: Müsifaj sitoplazmalarında Con-A pozitif sitoplazmik boyanma görülmektedir (Con-A x 375).

patolojileri ile ilişkili olduğunu vurgular niteliktedir. Retrospektif bir çalışma olmanın verebileceği potansiyel bir normal/patolojik ayırımında yanılgıya düşülmüş olma olasılığı da göz önüne alınmalıdır. Hastane arşivindeki yetersizlik dolayısıyla değerlendirmeler geçmiş raporlardaki bilgiler de göz önüne alınarak histopatolojik kesitler yeniden incelenerek yapılmıştır ve normal olarak değerlendirilmiş olguların kesite isabet etmemiş bölgelerinde patolojik lezyon varlığı ekarte edilememiştir. Patolojik bulgu saptanmayan kalın barsak mukozalarındaki müsifaj oranının %17.2 bulunmasını kolon endoskopik biopsisi alınan bu olgularda mevcut, ancak biopsi ile kanıtlanmamış gastrointestinal hastalıklar ile açıklanabilir. Görüldüğü üzere kaynaklardaki değere en yakın rakam amiloidozislerde saptanan müsifaj oranıdır. Amiloidoziste de iskemiye bağlı gastrointestinal mukozal lezyonlar görülebilir.⁷ Hasta yönünden oldukça travmatik bir girişim olan kolon endoskopik biopsilerinin gastrointestinal şikayeti veya semptomu olmayan bireylere amiloidozis ve benzeri tanısal amaçlar dışında uygulanması etik açıdan söz konusu değildir. Bu nedenle kolonu normal bireylerde müsifaj görülme sıklığı ancak otopsilerde araştırılabilir. 431 olgunun 78'inde saptadığımız müsifajların ancak 7'sinin rapor edilmiş olması bunların kolaylıkla gözden kaçabileceğini

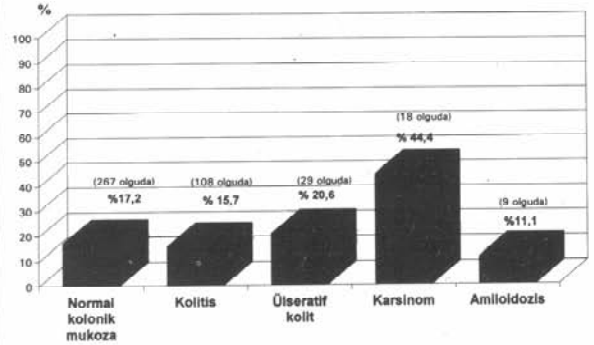


Resim 4: Mide taşlı yüzük hücreli karsinom hücrelerinde Con-A ile pozitif sitoplazmik boyanma görülmektedir (Con-A x 600).

göstermektedir. Klasik olarak histokimyasal yöntemlerle malakoplaki, Whipple hastalığı ve çocuklarda ceroid depo hastalığının ayırıcı tanısında önemli olduğu anılan müsifajların endoskopik biopsilerde tanı koyma güçlüğü olan taşlı yüzük hücreli karsinomlardan ayrılması patolojü bekleyen bir başka önemli yanlışlığı konusu olabilir.

Bu amaçla mide ve kalın barsak karsinom hücrelerinde bulunan ve malign neoplastik hücre belirleyicisi olarak kullanılan^{1,3,4} ConA'nın kontrol olarak alınan mide ve kolon taşlı yüzük hücreli karsinom hücrelerinde pozitif boyanmış ancak müsifajlarda da çeşitli patolojik gruplarda değişik şiddette pozitif bulunması, bu yöntemin müsifaj-karsinom ayırıcı tanısına yardımcı olamayacağını göstermektedir. Ayrıca yerli lenfoid hücre popülasyonunda

Şekil 1: 431 rektoskopik biyopsi materyalinde histopatolojik tanılarına göre müsifaj görülme oranları



da Con-A'nın pozitif oluşu müsifajların bu yöntemle tanınmasını güçleştirmektedir. Tümör ayırıcı tanısında klasik bilgilerimizde olduğu gibi yine nükleus yapısı önem kazanmaktadır. Anti Alfa-1-antitripsin ve anti-lizozimin müsifajlarda negatif oluşu bu hücrelerdeki aşırı müsün yükü ve lizozomal enzimlerin harcanması nedeniyle bu lizozomal enzimlerin aktivitelerinin demonstre edilemeyecek derecede azalmış olması ile açıklanabilir.

SONUÇ

Kolon endoskopik biopsilerinde müsün içeren makrofajlar gözden kaçabilmektedir. Işık mikroskopik düzeyde dikkatli bir muayene ile seçilebilmekte ve müsikarmen, PAS, Alcian blue gibi histokimyasal yöntemler müsifajların tanınmasına yardımcı olmaktadır. Kolon mukozası patolojik lezyonlarında nonspesifik iltihabi olaylardan karsinomalara doğru müsifaj görülme sıklığı giderek artmaktadır. İncelenen kalın barsak doku örneği normal de olsa müsifajların bu ilk biopsi ile kanıtlanamayan muhtemel patolojik olayların göstergesi olabileceği ve bu nedenle raporda müsifaj varlığının belirtilerek kliniğin uyarılması gerektiği kanısına varıldı. ABC immünooperksidaz yöntemi ile anti-alfa-1 antitripsin, antilizozim ve Con-A taşlı yüzük hücreli karsinom-müsifaj ayırıcı tanısına yardımcı olmamaktadır. Etik nedenlerle normal popülasyonda müsifaj varlığı ancak kolona ait gastrointestinal patolojik bulgusu olmayan otopsilerde araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- 1 Bur M., Franklin W.A.,; Lectin Binding to Human Gastric Adenocarcinomas and Adjacent Tissues. AJP 119(2): 279-287, 1985.
- 2 Equan J.H., Hill R.B.,; Colonic Histiocytosis: Clinical and pathological Evaluation. Gastroenterology 55(5): 619-625, 1968.

- 3 Filipe M.I.,; The histochemistry of intestinal mucins. Changes in disease., in Gastrointestinal and Oesophageal Pathology, Chapter 7, first ed., Ed. Whitehead R., Churchill Livingstone, London, pp. 65-89, 1989.
- 4 Furmanski P., Kirkland W.L., Gargala T., Rich M.A., The Breast Cancer Prognostic Study Clinical Associates., Prog-

nostic Value of Concanavalin A Reactivity of Primary Human Breast Cancer Cells. *Cancer Res* 41: 4087-4092, 1981.

- 5 Ree H.J.,: Lectin Histochemistry of Malignant Tumors. II. Concanavalin A:a new histochemical marker for macrophage-histiocytes in follicular lymphoma. *Cancer* 51: 1639-1646, 1983.

6 Rosai J.,: Gastrointestinal Tract, in Ackerman's Surgical Pathology, Chapter 11, Vol. I, 7 th ed., Ed. Rosai J., The C.V.Mosby Company ST. Louis, pp. 467-638, 1989.

- 7 Vernon S.E., : Amyloid Colitis. *Dis Colon Rectum* 25: 728-730, 1982.