

Meme Müsinöz Karsinomlarında Argyrophilic Hücreler ve Nöroendokrin Diferansiyasyon

Dr. Şükrü O. Özdamar*, Dr. İbrahim Öztekin*, Dr. Şükrü Yıldırım*, Dr. Nesimi BÜYÜKBABANI*

ÖZET

Meme müsinöz karsinomlarında argyrophilic/nörosekretuar granülleri içeren hücrelerin varlığı dağılımları ile klinik ve morfolojik özellikler arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla dört (üçü mikst, biri pure tip) primer meme müsinöz karsinomu olgusu üzerinde çalışıldı. Tümör dokularına PAS, A.blue, Grimelius boya yöntemleri uygulandı ve tümör hücrelerinde CEA, EMA, Cytokeratin, S-100 protein ve Chromogranin varlığı araştırıldı. Olgularımızın hepsinde PAS, A.blue reaksiyonları pozitif; CEA, EMA ve Cytokeratin (AE1/AE3), immünreaksiyonları değişen oranlarda pozitif, S-100 ise negatif olarak izlendi. Grimelius ve Chromogranin pozitif intrasellüler granülasyon reaksiyonları ekstrasellüler müsin içeren alanlarda; pure olgumuzda daha yoğun olarak gözlemlendi. Müsinöz meme karsinomlarında bu granüler yapıları içeren hücrelerin varlığının, bu hücrelerin fonksiyonel diferansiyasyonları ile ilgili görüldüğü sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, Müsinöz karsinoma, Nöroendokrin diferansiyasyon, Argyrophilia, Chromograninler

GİRİŞ

İlk kez 1977 de Cubilla ve Woodruff bazı primer meme karsinomlarının nöroendokrin karakterlerinden söz etmişlerdir. APUD hücrelerine ve APUD sisteminden köken alan tümörlere spesifik olduğu sanılan argyrophilic/nörosekretuar granüller içeren hücreler, 1980 de Capella ve Azzopardi tarafından meme müsinöz karsinomlarının yaklaşık % 35 inde saptanmışlardır (1,2).

Endokrin aktiviteyi saptama kriterleri olarak, son yıllarda pozitif Grimelius argyrophil reaksiyonu ile immünohistokimyasal olarak chromogranin veya synaptophysin ekspresyonu veya ultrastrüktürel olarak membran-bağlı küçük elektron yoğun granüllerin gösterilmesinin en kuvvetli kanıt olduğu ileri sürülmektedir (3,4).

Çalışmamızda tüm meme karsinomlarının % 1-7 sini oluşturan, post menapozal dönemde karşımıza çıkan ve pure formlarının mikst tiplerine ve infiltratif duktal karsinoma oranla daha iyi prognoz gösterdikleri bilinen meme müsinöz karsinomlarında argyrophilic/nörosekretuar granülleri içeren hücrelerin varlığı, dağılımları ile klinik ve morfolojik özellikler arasındaki ilişkiyi incelemek amaçlanmıştır.

SUMMARY

In this study, 4 (3 mixed, one pure type) cases of primary mucinous carcinoma were examined to investigate the presence and distribution of cells containing argyrophilic/neurosecretory granules in mammary mucinous carcinomas. PAS, A.blue, and Grimelius methods were used to examine the presence of CEA, EMA, Cytokeratin, S-100 protein and Chromogranin in tumor cells. In all cases, PAS and A.Blue reactions were positive, but S-100 protein was negative. Grimelius and Chromogranin positive intracellular reactions were observed more concentrated in areas containing extracellular mucin in our pure type mucinous carcinoma. In conclusion, we believe that the presence of cells containing these granules are related to the functional differentiation of these cells.

Key Words: Breast cancer, Mucinous carcinoma, Neuroendocrine differentiation, Argyrophilia, Chromogranins

GEREÇ VE YÖNTEM

1990-1992 yılları arasında kurumumuzda tanı almış 4 primer meme müsinöz karsinomu olgusu üzerinde çalışılmıştır. Olgulara ait % 70 lik ethanol de fikse parafine gömülü doku bloklarından hazırlanan seri kesitlerin bir bölümü HE, PAS, A.Blue (Ph:2.5), metodları ile boyanarak tekrar değerlendirilmiştir. Bir bölüm seri kesitlere Grimelius argyrophil metodu uygulanmış, diğer bölüm seri kesitlerde ise streptavidin biotin peroksidaz tekniği ile tümör hücrelerinde cytokeratin (AE1/AE3), CEA, EMA, S-100 protein ve Chromogranin (Pan-A, B, C) ekspresyonu araştırılmıştır. Argyrophil reaksiyonu için seyrek hücrelerde karakteristik siyah granüllerin varlığı pozitif reaksiyon olarak kabul edilmiştir. Grimelius reaksiyonu argyrophil granüller ekstrasellüler müsin içeren alanlardaki hücrelerde izleniyorsa (+), ek olarak eşlik eden duktal karsinom hücrelerinde de gözleniyorsa (++) olarak değerlendirilmiştir. İmmün reaksiyon için 0-(+++), boyanma patterni için ise fokal veya diffüz kriterleri kullanılmış, olgulara ait klinik bilgiler tekrar değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Olgularımızın ortalama yaşı 66.7 dir. Operasyon materyallerinin makroskopik incelemesinde ortalama tümör çapı 3 ol-

* Gata Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Patoloji Kliniği, İstanbul

Tablo: Vakalarımızın klinik, morfolojik, histokimyasal ve immünohistokimyasal özellikleri

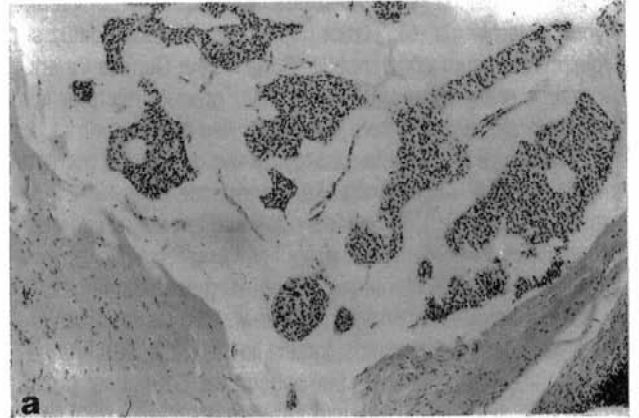
VAKA	YAŞ	TANI	TÜMÖR ÇAPI	LENF NODU METASTAZI	PAS/A.Blue (Ph:2.5)S	GRIMELIUS	CYTO-KERATIN	CEA	EMA	S-100	CHROMO-GRANIN
1	80	Mikst Müsinöz Ca (Inf. DK)	4 cm	1/1	+/+	+	D++++	D++++	F+	-	F+
2	68	Mikst Müsinöz Ca (Inf. DK)	7 cm	2/5	+/+	+	D++++	F++++	F+	-	F+
3	40	Pure Müsinöz Ca	2.5 cm	2/5	+/+	++	D++++	F+	F++	-	F++
4	64	Mikst Müsinöz Ca (int. DK)	2 cm	-	+/+	+	D++++	F+	F+	-	F+

guda 5 cm nin altındadır. 2. olgumuzda yaklaşık 7 cm dir. Mikroskopik incelemede esas itibarıyla çevre dokulara doğru akan, eozinofilik, PAS (+) ve A.Blue (ph:2.5) (+) reaksiyon veren geniş müsin gölcükleri içerisinde izlenen belirgin nükleollere sahip oval veziküle nükleuslu, geniş eozinofilik sitoplazmalı atipik epitelyal hücrelerin oluşturduğu küçük adacıklar ile karakterli iyi diferansiye müsinöz karsinom yapıları saptanmıştır. 1. ve 2. olguda bu tabloya ek olarak özellikle lezyon periferinde infiltratif duktal karsinom, 4. olgumuzda ise intraduktal karsinom alanları izlenmiştir. 1., 2. ve 4. olgumuz mikst tip müsinöz karsinomdur. 3. olgumuz ise pure form tanısı almıştır (resim 1). Lumpektomi uygulanmış olan bu olgu dışındaki 3 olguda primerleri ile aynı morfolojiye sahip aksiller lenf nodu metastazları belirlenmiş ancak uzak metastaz saptanmamıştır. Post operatif dönemde henüz hiçbir olguda rekürrens görülmemiştir (tablo).

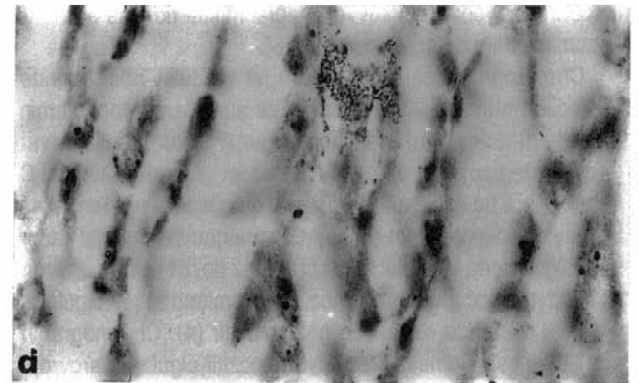
Mikst tümörlerde duktal diferansiyasyon alanlarında intrasellüler PAS ve A.Blue pozitif materyal varlığı dikkati çekmekte, bu özellikle ekstrasellüler müsin içinde yüzen tümör hücre kümelerinde izlenmektedir. Grimelius reaksiyonu değişken olup, pure olgumuzda seyrek hücrelerde fokal intrasitoplazmik (++) boyanma, diğer olgularımızda duktal karsinom ve müsinöz karsinom alanlarında yine seyrek hücrelerde gözlenen dağınık, intrasitoplazmik ve yer yer intersellüler ince granülasyonlar (+) tarzındadır (resim 2).

Cytokeratin immün reaksiyonu olguların tümünde D(++++)) olarak izlenmiştir. CEA ise 1. olgumuzda D(++++), 2. olgumuzda F(++++), 3.(pure) ve 4. olgumuzda F(+) dir. EMA reaksiyonu oldukça zayıf izlenmiş, pure olgumuzda F(++), diğerlerinde F(+) olarak gözlenmiştir. S-100 protein reaksiyonu tüm olgularda negatiftir.

Chromogranin reaksiyonu ise pure formda intrasitoplazmik F(++) diğer olgularda ise ekstrasellüler müsin içeren alanlarda çok az, buna karşın, duktal diferansiyasyon alanlarında daha yoğun olarak F(+) değerlendirilmiştir.



Resim 1: Müsinöz karsinom olgularımız (x100, H+E)



Resim2: Olgularımızda izlenen Grimelius reaksiyonu: (x1000 imm oil)

TARTIŞMA

Çalışma grubumuzda olgularımızın yaş, klinik bulgu ve makroskopik özellikleri literatürde belirtilenler ile benzerlik göstermektedir (3, 5, 7, 9).

Meme karsinoid tümörlerini ilk kez 1977 de Cubilla ve Woodruff tanımlamışlardır (3). Ancak bu tümörlerin klasik kar-

sinoidlere gerek klinik gerekse morfolojik olarak çok benzemelikleri ileri sürülmüştür (1,8). Yapılan birçok çalışmada primer meme duktal ve lobuler karsinomlarında argyrophilic hücreler saptanmışlardır (1, 4, 6). Primer meme karsinomlarında bu granüllerin fonksiyonları bilinmemektedir. Bazı yayınlarda katekolamin, calcitonin, parathormon, beta endorfin, bombesin, HCG, HPL, Leu-enkefalin, gastrin, substance P ve alfa laktalbumin içerdikleri bildirilmiştir (5, 6). Bazı yazarlar bu granüllerin müsinöz karsinomlarda daha sık gözlenmesi nedeniyle bu tümörlerin, karsinoidlerin müsinöz varyantları olduklarını, Capella ve ark. ise bu tümörlerin endokrin hücrelerden köken aldığını ileri sürmüşlerdir (1, 2, 5). Ancak müsinöz karsinomlar meme bezi epitel hücrelerinden kaynaklanan tümörlerde gözlenen karakterlere de sahiptirler (8, 9). Olgularımızın CEA, cytokeratin ve EMA immün reaksiyonu göstermeleri bu özelliklere sahip olduklarını kanıtlamaktadır.

Meme müsinöz karsinomlarında Grimelius argyrophil reaksiyonu heterojendir (6). Tümör hücrelerinin çoğunda diffüz sitoplazmik boyanma gözlenebilir. Buna karşın Capella ve ark., Grimelius reaksiyonunun sadece koyu granüle hücreler için pozitif olarak yorumlanması gerektiğini ileri sürmektedir (1, 2, 6). Tüm duktal karsinomlarda argyrophilic granüllerin görülme sıklığı % 4.5-6, müsinöz karsinomlarda ise % 25-35 arasındadır (6,11). Bugün nöroendokrin diferansiyasyonu belirleyebilmek için argyrophilic granüllerin araştırılmasında önce Grimelius metodu kullanılması gereği vurgulanmaktadır (1, 3, 6). Diğer metodlarda örneğin Sevier-Munger veya Chrukian-Schenk metodlarında gümüş, kazein ile çapraz reaksiyona girmektedir (1, 6). Yapılan bir çalışmada Grimelius pozitif granüllerin yaklaşık % 50 sinin alfa laktalbumin içerdikleri saptanmıştır. Bu yüzden Grimelius reaksiyonu chromogranin immünreaksiyonundan kuvvetli saptanmışsa dokuda alfa laktalbumin varlığı da araştırılmalıdır (6).

Chromograninler ilk kez adrenal medulla hücrelerinde keşfedilen adrenerjik veziküllerde ve son olarak peptid/amin yapan endokrin hücrelerin çoğunluğunda sekreteruar granüllerde saptanan bir asidik proteinler grubudur. A, B ve C olmak üzere üç tipi ayırdedilmiştir ve en güvenilir nöroendokrin belirleyicilerden biridirler (8, 10). Chromograninler duktal karsinom olgularında yaklaşık % 10 oranında pozitif bulunmuşlardır (8). Argyrophilic meme müsinöz karsinomlarında ise olguların yaklaşık 1/3 ünde reaksiyon gözlenmiştir (4). Chromogranin negatif, ancak Grimelius reaksiyonu pozitif olgularda argyrophilic reaksiyonun non-endokrin faktörlere (alfa-laktalbumin, keratohyalin granülleri, nükleoluslar vb.) bağlı olarak yalancı pozitifliği ve/veya doku antijenik yapısının destrüksiyonu akla

gelmelidir. Chromogranin C Grimelius reaksiyonu vermez. Özellikle chromogranin reaksiyonunun pozitif, Grimelius reaksiyonunun negatif olduğu durumlarda bunun muhtemelen chromogranin C'ye bağlı olduğu düşünülmelidir (6, 10, 11). Bizim intraduktal karsinom komponentli olgumuzda zayıf görülen Grimelius reaksiyonuna karşın nisbeten kuvvetli chromogranin immünreaktivitesi bu hücrelerdeki chromogranin C varlığına bağlı olabilir.

Nöroendokrin meme karsinomundan söz edebilmek için Maluf ve ark. ile Scopsi ve ark., pozitif Grimelius reaksiyonu ile chromogranin veya synaptophysin immün reaksiyonu veya ultrastrüktürel olarak dens core granüllerin varlığından başka, morfolojik olarak da organoid yapı, granüler eozinofilik sitoplazmalı, palizat oluşturan hücre kümeleri, pseudorozet formasyonları ve fokal hyalinize stroma yapılarının bulunmasını şart koşturmaktadır; nekroz, tek hücre infiltrasyonu ve desmoplazinin görülmemesi gerektiğini savunmaktadırlar (4, 11). Fetissiof ve ark. ile Scopsi ve ark., bir spektrum içerisinde incelenmesi gereken meme argyrophilic karsinomlarının, neoplastik süreç sırasında birçok yöne doğru diferansiyasyon sonucu argyrophilic/nörosekretuar granüller içeren hücrelere diferansiyasyon ile ortaya çıktıklarını ileri sürmektedirler (1, 11). Olgularımızda da saptadığımız üzere, bu tümörlerde duktal diferansiyasyon görülen alanlardaki hücrelerde izlenen PAS (+) materyal birikiminin solid kitleden kopan monomorfik tümör hücre kümelerinde izlenmemesi, yüzen matür tümör hücrelerinin müsin yapısında afonksiyonel olduğunu düşündürür (8, 9, 11). Mikst formlarda izlediğimiz Grimelius ve chromogranin reaksiyonlarında da duktal diferansiyasyonla ilişkili gibi görülen pozitif reaksiyon ile pure formda izlenen düşük EMA ve CEA immün reaksiyonları ve diğer olgulardakine oranla yüksek Grimelius ve chromogranin reaksiyonları meme müsinöz karsinomlarında da stem hücreden köken alan değişik derecelerde müsinöz ve endokrin diferansiyasyon örnekleri ile karşı karşıya olduğumuzu akla getirmektedir. Pure formların prognozunu mikst formlara oranla daha iyi olması da bu yaklaşımı destekler niteliktedir (3, 5, 11).

Literatürde granüllerin varlığı ile prognozu etkileyen bilinen faktörler arasında bir ilişki saptanmamıştır. Müsinöz meme karsinomlarında argyrophilic hücrelerin varlığı, bu hücrelerin fonksiyonel diferansiyasyonları ile ilgili görünmekte olup, prognostik bir önemi yok gibi görünmektedir. Bununla beraber pure ve mikst müsinöz karsinomların ayrımı gibi önemli prognostik göstergeler çok yönlü araştırılmalı ve bu granüllerin prognoza etkileri ortaya konmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Fetsos F, Dubois MP, Arbeille-Brassart B, Lansac J, Jobard P. Argrophilic Cells in Mammary Carcinoma. *Hum Pathol* 1983; 14:127-134.
2. Capella C, Eusebi V, Mann B, Azzopardi JG. Endocrine differentiation in mucoid carcinoma of the breast. *Histopathology* 1980; 4:613-630
3. Rasmussen BB, Rose C, Thorpe SM, Andersen KW, Hou-Jensen K. Argrophilic Cells in 202 Human Mucinous Breast Carcinomas. Relation to Histopathologic and Clinical Factors. *Am J Clin Pathol* 1985; 84: 737-740
4. Maluf HM, Zukerberg LR, Dickersin GR, Koerner FC. Spindle-Cell Argrophilic Mucin-Producing Carcinoma of the Breast. Histological, Ultrastructural and Immunohistochemical Studies of Two Cases. *Am J. Surg Pathol* 1991; 15:677-686
5. Rasmussen BB. Human Mucinous Breast Carcinomas and Their Lymph Node Metastases. A Histological Review of 247 Cases. *Path Res Pract* 1985; 180:377-382
6. Nesland JM, Holm R, Johannessen JV. A study of Different Markers for Neuroendocrine Differentiation in Breast Carcinomas. *Path Res Pract* 1986; 181:524-530
7. Rasmussen BB, Henschel A. Ultrastructural Characteristics and Variations in Human Mucinous Breast Carcinomas. *Path Res Pract* 1985; 180:28-35
8. Monaghan P, Roberts JDB. Immunocytochemical Evidence For Neuroendocrine Differentiation in Human Breast Carcinomas. *J Pathol* 1986; 147:281-289
9. Toikkanen S, Kujari H. Pure and Mixed Mucinous Carcinomas of the Breast. A Clinicopathologic Analysis of 61 Cases With Long-Term Follow-Up. *Hum Pathol* 1986; 20:758-764
10. Rindi G, Buffa R, Sessa F, Tortora O, Solcia E. Chromogranin A, B and C immunoreactivities of mammalian endocrine cells. Distribution, distinction from costored hormones/prohormones and relationship with the argrophil component of secretory granules. *Histochem* 1986; 85:19-28.
11. Scopsi L, Andreola S, Pilotti S, et al. Argrophilia and granin (chromogranin/secretogranin) expression in female breast carcinomas: Their relationship to the survival and other disease parameters. *Am J Surg Pathol* 1992; 16:561-76.