

Prostatik adenokarsinomaların nükleer morfolometrik özellikleri *

*Nuclear morphometric features of prostatic adenocarcinomas **

Ayhan Özcan¹, Handan Kaya², Bülent Celasun¹, Sevgi Küllü²

¹ Gülhane Askeri Tıp Akademisi Patoloji Anabilim Dalı, ANKARA

² Marmara Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

* Bu yazı "XV Patoloji Sempozyum"unda poster olarak sunulmuştur.

Prostat kanseri histopatolojik tanısı ve prognostik ölçütlerinin belirlenmesi açısından güçlük yaratabilen bir lezyondur. Bu güçlüklerin aşılmasında morfolometrik yöntemlerin rolü henüz tam olarak belirlenmemiştir. Bu çalışmada, hemotoksilen-eosin ile boyalı kesitler üzerinde seçilmiş neoplastik ve nonneoplastik alanlarda nükleus ile ilgili morfolometrik ölçütler (alan, çevre, "feretmin", "feretmax", "feretratio", "fcircle" ve yuvarlaklık indeksi) değerlendirilmiştir. Ortalama nükleer alan, nükleus çevresi, "feretmin", "feretmax", "fcircle" ve yuvarlaklık indeksi sırasıyla neoplastik alanlarda $55.96\mu^2$, 28.94μ , 7.31μ , 7.12μ , 0.887 ve 1.096 , nonneoplastik alanlarda ise $27.16\mu^2$, 20.40μ , 5.07μ , 9.86μ , 0.909 ve 1.091 olarak saptanmıştır. İstatiksel olarak neoplastik ve nonneoplastik alanlardaki morfolometrik değerler arasındaki farkın anlamlı olduğu ($p < 0.0001$) belirlenmiştir. Bu parametreler ile Gleason skoru arasında istatiksel olarak anlamlı farklılık ($p < 0.098$) saptanmamıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada neoplastik ve nonneoplastik alanlarda nükleer morfolometrik verilerin anlamlı farklılık gösterdiği saptanmıştır. Bu farklılıklar olası tanı güçlüklerinin aşılmasında kullanılabilir nitelikte görülmektedir

Anahtar Kelimeler: Prostatik adenokarsinoma, morfolometri

Prostate cancer is a lesion that can create difficulty in histopathologic diagnosis and prognostic parameters. The role of morphometric methods has not been exactly determined yet. In this study, nuclear morphometric parameters (area, perimeter, "feretmin", "feretmax", "feretratio", "fcircle" and roundness index) have been evaluated H&E stained on sections in selected neoplastic and nonneoplastic areas. Mean nuclear area, nuclear perimeter, "feretmin", "feretmax", "fcircle" and circularity index have been determined as $55.96\mu^2$, 28.94μ , 7.31μ , 7.12μ , 0.887 and 1.096 in neoplastic areas and $27.16\mu^2$, 20.40μ , 5.07μ , 9.86μ , 0.909 and 1.091 in nonneoplastic areas respectively. Differences between morphometric values in neoplastic and nonneoplastic areas

were found meaningful ($p < 0.0001$) statistically. No statistically meaningful difference between these parameters and Gleason score have been determined.

In conclusion, meaningful differences between the values of nuclear morphometric parameters in neoplastic and nonneoplastic areas have been determined. These differences may be useful in overcoming potential diagnostic difficulties.

Key Words: Prostatic adenocarcinoma, morphology

Prostatik adenokarsinomali hastaların tanısında, prognoz belirlenmesinde ve uygun tedavi yöntemlerinin seçiminde histopatolojik inceleme en önemli yöntemlerden biridir. Glandüler yapının özelliklerine veya nükleer pleomorfizme dayanan subjektif histolojik derecelendirme sistemleri^(1,2) prostatik karsinomali hastaların her birinin prognozunu belirlemede tek başına yeterli olmamaktadır⁽²⁻⁹⁾. Bu nedenle, bu derecelendirme sistemlerinin yanısıra daha objektif yöntemlerin kullanılması gerekliliği ortaya çıkmıştır. İlk olarak 1982'de Diamond ve arkadaşları⁽³⁾ nükleer boyutlara dayanan "yuvarlaklık indeksi" adını verdikleri bir ölçütü tanımlamışlardır. Bu ölçütün prostatik adenokarsinomali olguların prognozunu belirlenmesinde diğer histolojik değerlendirme sistemlerinden daha objektif ve tekrarlanabilir sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Diamond ve arkadaşlarının bu çalışmasından günümüze kadar pek çok nükleer özellik (DNA içeriği, kromatin yoğunluğu ve paterni, proliferasyon antijenleri, kromozomal değişiklikler, nükleer boyut, alan, hacim ve çevre ölçümleri) ayrıntılı şekilde değerlendirilmiştir⁽³⁻¹⁴⁾. Bu ölçütlerin bazılarının kullanışlı prognostik faktörler olabileceği düşünülmektedir. En kullanışlı prognostik morfolometrik ölçütlerden biri olan yuvarlaklık indeksinden sonra nükleer hacmin de klinik olarak lokalize prostatik adenokarsinomalarda Gleason skorundan daha kullanışlı bir prognostik bir faktör olduğu bildirilmiştir^(10,11,14).

Bu çalışmada, nükleer alan, nükleus çevresi, "feretmin", "feretmax", "feretratio", "fcircle" ve yuvarlaklık indeksi gibi morfolometrik ölçütlerin neoplastik ve non-

neoplastik alandaki değerleri incelenmiştir. Ayrıca, bu morfolometrik ölçütler ile Gleason skoru arasındaki ilişki araştırılmıştır. Sonuçların tanısal ve prognostik değerleri tartışılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma; GATA Patoloji Anabilim dalında Marmara Üniversitesi Patoloji Anabilim dalı arşivinden sağlanan 27 radikal prostatektomiye ait preparatlar üzerinde yapılmıştır. Hemotoksilen-eosin ile boyalı 5 µ kalınlığındaki histolojik kesitler üzerinde 0,5x0,5 cm'lik neoplastik ve nonneoplastik alanlar (aynı preparat üzerinde) seçilmiştir. Olguların üçünün histolojik kesitleri yalnızca tümörden oluştuğu için bu olgularda yalnızca neoplastik alanda morfolometrik çalışma yapılabilmektedir. Çalışmada Intel Pentium MMX 233 MHz işlemcili, Matrox Meteor görüntü yakalama kartı bulunan 128 MB RAM'lı IBM uyumlu bir bilgisayar kullanılmıştır. Tüm değerlendirmede Zeiss Vision KS400 versiyon 3.0 görüntü analizi yazılımı kullanılmış olup, çalışma için gerekli makro çalışmacılardan biri (Dr. B. C.) tarafından hazır-

lanmıştır. Histolojik kesitlerde aynı preparat üzerinde seçilen neoplastik ve nonneoplastik alanlarda 100'lük plan-apokromat immersiyon objektifi (nümerik açıklığı 1,4) kullanılarak sistematik gelişigüzel örnekleme yöntemi ile seçilmiş 50 nükleusun çevresi çizilmiştir. Bu çizimler her bir olguda tekrarlanmış olup, her alan çizimi yaklaşık olarak 20-30 dk sürmüştür. Bu çizim sonucunda elde edilen ortalama nükleer alan (μ^2), nükleus çevresi (μ), "feretmin (μ)", "feretmax (μ)", "feretratio (feretmin/feretmax)", "fcircle" ve yuvarlaklık indeksi değerleri Tablo-1'de sunulmuştur. Feretmin; nükleusun en kısa eksenin uzunluğunu, feretmax; nükleusun en uzun eksenin uzunluğunu göstermektedir. Fcircle, Diamond ve arkadaşlarının kullandığı yuvarlaklık indeksi formülünden farklı bir formülle KS 400 versiyon 3.0 da hesaplanan bir ölçüttür. Her iki ölçüt de nükleusun yuvarlaklığını göstermekte olup aşağıdaki formüllerle hesaplanmaktadır:

$$Fcircle = (4 \cdot \pi \cdot \text{Alan}) / (\text{Çevre})^2$$

Yuvarlaklık indeksi (Diamond ve ark.) = $(\text{Çevre}/2\pi) / (\sqrt{\text{Alan}/\pi})$

İstatistiksel çalışmada SPSS 9.0 yazılımı kullanılarak "T-test" ile neoplastik ve nonneoplastik alanlardaki mor-

No	Yaş	Alan (μ^2)		Çevre (μ)		Feretmin(μ)		Feretmax(μ)		Feretratio		Fcircle		Yuvarlaklık indeksi		Gleason Skoru
		NA	NNA	NA	NNA	NA	NNA	NA	NNA	NA	NNA	NA	NNA	NA	NNA	
1	62	56.58	28.51	29.51	20.66	7.38	5.43	10.19	7.2	0.73	0.75	0.92	0.90	1,10	1,09	7
2	63	42.89	37.27	25.06	23.68	6.75	6.12	8.36	8.22	0.80	0.74	0.92	0.94	1,07	1,09	4
3	67	34.53	25.69	23.05	19.75	5.55	4.99	8.29	7.02	0.67	0.72	0.91	0.90	1,10	1,09	5
4	70	50.12	-	27.27	-	7.24	-	9.20	-	0.78	-	0.93	-	1,11	-	9
5	68	34.47	27.32	23.32	16.44	5.60	3.94	8.37	5.86	0.67	0.68	0.88	0.90	1,11	0,88	5
6	66	58.05	31.46	29.59	21.89	7.65	5.52	10.21	7.8	0.75	0.71	0.91	0.92	1,09	1,10	3
7	64	62.89	37.63	30.15	23.86	7.77	6.18	10.42	8.2	0.75	0.75	0.91	0.92	1,07	1,09	5
8	65	38.75	23.67	24.18	19.54	6.04	4.50	8.50	7.2	0.71	0.63	0.86	0.91	1,09	1,13	5
9	63	61.50	20.83	31.05	18.08	7.80	4.39	10.74	6.5	0.74	0.67	0.87	0.89	1,11	1,11	5
10	61	75.66	32.65	34.40	19.3	8.47	4.33	12.06	7.2	0.72	0.61	0.83	0.88	1,11	0,95	5
11	72	53.50	27.81	28.32	20.77	7.31	5.15	9.61	7.22	0.76	0.71	0.89	0.91	1,09	1,11	9
12	71	70.18	-	32.52	-	8.24	-	11.17	-	0.74	-	0.91	-	1,09	-	8
13	68	70.84	-	32.50	-	8.27	-	11.12	-	0.75	-	0.91	-	1,08	-	9
14	64	58.21	32.23	29.67	22.14	7.55	5.48	10.17	7.6	0.74	0.72	0.89	0.91	1,09	1,09	7
15	58	57.48	29.69	29.48	21.15	7.47	5.35	10.11	7.26	0.74	0.74	0.90	0.91	1,09	1,09	6
16	70	78.74	20.34	34.99	17.35	8.70	4.50	11.95	5.8	0.77	0.74	0.93	0.88	1,11	1,08	7
17	70	57.22	31.25	29.06	21.54	7.75	5.74	9.68	7.2	0.80	0.79	0.93	0.94	1,08	1,08	5
18	66	48.90	29.31	26.92	21.3	7.00	5.33	9.12	7.39	0.77	0.73	0.89	0.93	1,08	1,10	5
19	58	59.99	24.48	30.21	19.09	7.64	4.78	10.36	6.6	0.75	0.72	0.91	0.91	1,09	1,08	7
20	64	53.86	26.55	28.26	20.01	7.44	5.13	9.49	6.85	0.78	0.75	0.91	0.92	1,08	1,09	7
21	66	54.04	28.53	28.58	21.09	7.30	5.11	9.70	7.40	0.75	0.70	0.87	0.90	1,09	1,11	5
22	60	51.71	26.17	28.53	20.23	6.83	4.98	10.0	7.0	0.68	0.71	0.88	0.88	1,11	1,11	5
23	68	65.81	22.69	31.07	18.46	8.36	4.62	10.3	6.41	0.81	0.72	0.90	0.94	1,07	1,09	8
24	69	52.37	28.10	28.78	20.83	6.89	5.16	10.15	7.25	0.72	0.71	0.87	0.88	1,12	1,10	7
25	71	43.53	24.25	25.77	20.14	6.58	4.81	8.81	7.0	0.75	0.69	0.82	0.90	1,10	1,15	5
26	66	54.90	30.01	28.69	22.63	7.45	5.52	9.77	7.76	0.77	0.71	0.81	0.92	1,09	1,16	5
27	72	64.30	25.48	30.68	19.83	8.17	4.82	10.24	6.98	0.80	0.69	0.88	0.93	1,07	1,10	5

NA: Neoplastik alan NNA: Nonneoplastik alan

Tablo 1: Prostatik adenokarsinomali olgulara ait morfolometrik çalışma sonuçları

fometrik ölçütler arasındaki farklılığın anlamı değerlendirilmiştir. Ayrıca "Curve Fit Test" (lojistik regresyon analizi) ile neoplastik alandaki morfometrik ölçütler ve Gleason skoru değerleri arasındaki farklılığın anlamına bakılmıştır. Olguların üçünde nonneoplastik alan bulunmadığından bunlar çalışma dışında tutulmuş olup, istatistiksel değerlendirmeler 24 olgu üzerinde yapılmıştır

BULGULAR

Prostatik adenokarsinomali 27 olgunun morfometrik değerlendirme sonuçları olguların yaşları ile Gleason Skoru değerleri Tablo-I'de gösterilmiştir. Olguların yaşları 58 ile 72 (ortalama 66) arasında değişmektedir. Gleason skoru 5'in altında (iyi diferansiye) 2 olgu, 5-7 arasında (orta derecede diferansiye) 20 olgu ve 7'nin üzerinde (az derecede diferansiye) 5 olgu bulunmaktadır. Nükleer alan, nükleus çevresi, "feretmin", "feretmax", "feretratio", "fcircle" ve yuvarlaklık indeksi ölçütlerinin neoplastik ve nonneoplastik alanlardaki ortalama değerleri tablo-II'de gösterilmiştir. Neoplastik alanlardaki morfometrik değerlerin nonneoplastik alanlardaki değerlerden yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Yuvarlaklık indeksi arttıkça ve "fcircle" değeri azaldıkça heriki ölçüt de "1" değerinden (dolayısıyla ideal bir çemberden) uzaklaşmaktadır. Bu durum nükleer membran düzensizliğinin arttığını göstermektedir. Bu morfometrik ölçütlerin her bir olguya ait neoplastik ve nonneoplastik alanlardaki değerleri arasında "T-test" ile istatistiksel anlamlı farklılık (bütün "P" değerleri 0,05'den küçük) saptanmıştır (Tablo-II). Gleason skoru değerleri ile neoplastik alandaki morfometrik değerler arasında "Curve Fit Test" (lojistik regresyon analizine göre) ile istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Seride, yalnızca 13. olguda tanı sırasında metastaz saptanmış olup, bu olgunun morfometrik ölçütlerinin ve Gleason skorunun yüksek olduğu [9] dikkati çekmektedir.

TARTIŞMA

Prostatik adenokarsinomalarda histolojik değerlendirme sistemlerinden (Mostofi, M.D.Anderson ve Gleason) en kullanışlı olanı ve en çok kabul göreni Gleason derecelendirme sistemidir⁽¹⁾. Ancak, Gleason ve diğer histolojik derecelendirme sistemlerinin olguların

büyük bir çoğunluğunda prognozu belirlemede tek başına yeterli olmadığı bilinmektedir^(2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 13). Bu nedenle alternatif prognostik faktörlere gereksinim duyulmaktadır. Bilgisayarlı görüntü analizi sistemleri histolojik kesitlerde nicel ve objektif değerler elde edilmesinde ve prognozun belirlenmesinde önemli katkılar sağlamaktadır⁽¹⁵⁾. Bu yöntemle sağlanan veriler diğer subjektif histolojik derecelendirme sistemlerinden elde edilen verilere göre daha sağlıklı olabilmektedir. Ayrıca, histolojik derecelendirme sistemlerini kullanan patologlar arasında önemli farklılıklar ortaya çıkabilmektedir⁽¹⁾. Bu yöntemlere alternatif olarak ilk kez Diamond ve arkadaşları⁽³⁾ 1982'de yuvarlaklık indeksi adını verdikleri bir ölçütü tanımlamışlardır. Bu ölçüt "1" değerinden ne kadar uzaklaşırsa, nükleusun da o derece düzensizleştiğini göstermektedir. Bu morfometrik ölçütün prostatik adenokarsinomalarda metastatik potansiyeli belirlemede önemli bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir⁽³⁾. Diamond ve arkadaşları⁽³⁾, 1942'de Evans'ın nükleer özelliklere dayanan ilk histolojik derecelendirme sisteminin, daha sonraları Mostofi'nin nükleer ve glandüler özelliklere dayanan sistemi ve 1980'de Murphy'nin nükleer özelliklere dayanan histolojik derecelendirme sisteminin klinik prognozu belirlemede ve nükleusun nicel biçim özelliklerini yansıtmada kullanışlı olmadıkları ileri sürmektedirler^(2, 3). Bu derecelendirme sistemlerinin yenilenebilirliklerindeki eksikliği morfometrik ölçütlerin giderebileceği bildirilmiştir^(2, 3). Yuvarlaklık indeksinin tanımlanmasından sonra nükleer özelliklere dayanan pek çok morfometrik ölçüt üzerinde çalışmalar yapılmış, morfometrik ölçütlerin tanısal-prognostik öneminin diğer histolojik derecelendirme sistemlerine göre daha üstün olduğu belirtilmiştir⁽³⁻¹⁴⁾. Bu morfometrik ölçütlerden özellikle nükleer hacmin prognostik açıdan, nükleer yuvarlaklık indeksi kadar önemli bir faktör olduğu ve Gleason derecelendirme sisteminden daha duyarlı olduğu bildirilmiştir^(11, 14).

Bu çalışmada, 27 prostatektomi örneğinde neoplastik ve nonneoplastik alanlardaki nükleusların bazı morfometrik özellikleri (nükleer alan, nükleus çevresi, "feretmin", "feretmax", "feretratio", "fcircle" ve yuvarlaklık indeksi) incelenmiştir. Neoplastik ve nonneoplastik alanlardaki bu morfometrik değerler arasında anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır. Petein ve arkadaşları benign prostatik hiperplazi, prostatik intraepitelyal neo-

Morfometrik ölçütler	Neoplastik alanlar	Nonneoplastik alanlar	"P" değerleri
Alan	55,96	27,16	0,0001
Çevre	28,94	20,40	0,0001
Feretmin	7,31	5,07	0,0001
Feretmax	9,86	7,12	0,0001
Feretratio	0,74	0,71	0,001
Fcircle	0,887	0,909	0,003
Yuvarlaklık indeksi	1,098	1,091	0,013

Tablo 2: Neoplastik ve nonneoplastik alanlardaki ortalama değerlerin istatistiksel anlamlılığı

plazi (PIN) ve prostatik adenokarsinoma tanısı almış olgularda nükleer boyutlara ait ölçütler ile DNA içeriğini incelemişler ve aralarında anlamlı farklılıklar olduğunu bulmuşlardır⁽⁹⁾. Bu anlamlı farklılıkların prostatik adenokarsinomaların tanısında ve prognoz belirlemede histolojik derecelendirme sistemlerine göre daha yararlı olabileceği öne sürülmüştür^(3, 9). Yuvarlaklık indeksinin kanıtlanmış bir prognostik öneminin olduğu bilinmektedir^(2,14). "F circle" ölçütü ile de yuvarlaklık indeksine benzer sonuçlar bulduk.

Sonuç olarak, bu çalışmada neoplastik ve nonneoplastik alanlarda nicel morfometrik verilerin anlamlı bir farklılık gösterdiği saptanmıştır. Bu morfometrik ölçütler, tanı ve prognoz açısından kullanılabilir nitelikte görülmektedir. Ancak, neoplastik alanlardaki morfometrik ölçütlerle Gleason skoru arasında tanısal ve prognostik açıdan kullanılabilir özellikte bir farklılık saptanmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Brawn P.N.: Histologic grading study of a new system and comparison with other methods; a preliminary study. *Cancer* 1982;49:525-32.
2. Miller G.J.: Pathologic aspects of prostate cancer: Prediction of malignant potential. *Urology* (suppl 4) 1989; 34: 5-9.
3. Diamond D.A., Berry S.J., Jewett H.J., Eggleston J.C. and Coffey D.S.: A new method to assess metastatic potential of human prostate cancer; relative nuclear roundness. *J. Urol.* 1982; 128: 729-34.
4. Paulson D.F., Stone A.R., Walther P.J., Tucker J.A. and Cox E.B.: Radical prostatectomy: anatomical predictors of success or failure. *J. Urol.* 1986; 136: 1041-43.
5. Mohler J.L., Partin A.W., Lohr W.D. and Coffey D.S.: Nuclear roundness factor measurement for assessment of prognosis of patients with prostatic carcinoma: I. Testing of a digitization system. *J. Urol.* 1988; 139: 1080-84.
6. Mohler J.L., Partin A.W., Epstein J.I., Lohr W.D. and Coffey D.S.: Nuclear roundness factor measurement for assessment of prognosis of patients with prostatic carcinoma: II. Standardization of methodology for histologic sections. *J. Urol.* 1988; 139: 1085-90.
7. Epstein J.I., Pizov G., Steinberg G.D., et al: Correlation of prostate cancer nuclear deoxyribonucleic acid, size, shape and Gleason grade with pathological stage at radical prostatectomy. *J. Urol.* 1992; 148: 87-92.
8. Partin A.W., Steinberg G.D., Pitcock R.V., et al: Use of nuclear morphometry, Gleason histologic scoring, clinical stage and age to predict disease-free survival among patients with prostate cancer. *Cancer* 1992; 70: 161-68.
9. Petin M., Michel P., Velthoven R.V.: Morphonuclear relationship between prostatic intraepithelial neoplasia and cancers as assessed by digital cell image analysis. *Am. J. Clin. Pathol.* 1991; 96: 628-34.
10. Bostwick D.G.: High grade prostatic intraepithelial neoplasia; the most likely precursor of prostate cancer. *Cancer* 1995; 75: 1823-36.
11. Fujikawa K., Sasaki M., Aoyama T and Itoh T.: Prognostic criteria in patients with stage D2 prostate cancer: Correlation with mean nuclear volume. *Cancer* 1995; 76: 234-37.
12. Veltri R.W., Miller M.C., Partin A.W., et al.: Ability to predict biochemical progression using Gleason score and a computer-generated quantitative nuclear grade derived from cancer cell nuclei. *Urology* 1996; 48: 685-91.
13. Bostwick D.G.: Practical clinical application of predictive factors in prostate cancer: A review with an emphasis on quantitative methods in tissue specimens. *Analyt. Quant. Cytol. Histol.* 1998; 20: 323-42.
14. Beltran A.L., Perula E.A., Villalobos R.R. and Barona R.L.: Nuclear volume estimates in prostatic intraepithelial neoplasia. *Analyt. Quant. Cytol. Histol.* 2000; 22: 37-44.
15. Bartels P.H.: Computer-generated diagnosis and image analysis. *Cancer* 1992; 69: 1636-38.