

## Fibroadenom, Sellüler Fibroadenom ve Benign Fillodes Tümörde Proliferatif Aktivitenin Ki-67 ve Mitoz Sayımı ile Karşılaştırılması\*

### *Proliferative Activity Determined by Ki-67 and Mitosis in Fibroadenoma, Cellular Fibroadenoma and Benign Phyllodes Tumor*

Nilgün Kapucuoğlu<sup>1</sup>, Çiğdem Irkkan<sup>1</sup>, Işın Pak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ankara Onkoloji Hastanesi Patoloji Bölümü, Ankara

Fibroadenom ve fillodes tümör, bifazik tümörler olup, hem stromal hem de epitelyal komponentin proliferasyonu sonucu oluşmaktadır. Bu lezyonlarda biyolojik davranışı stromal elemanların belirlediği düşünülmektedir. Sellüler fibroadenomlar fibroadenom gibi davranırlar ve fillodes tümörlerden ayırd edilmeleri önemlidir. Bu çalışmada fibroadenom, sellüler fibroadenom ve benign fillodes tümörde proliferatif aktivitenin araştırılması amaçlanmıştır.

Beş benign fillodes tümör, 10 sellüler fibroadenom ve 33 fibroadenom çalışma

grubunu oluşturmuştur. Hematoksilin eozin boyalı kesitlerde on ardışık büyük büyütme alanında mitoz sayımı yapılmıştır. Ki-67 skorları, 10 ardışık büyük büyütme alanında pozitif boyanma gösteren hücreler sayılarak bulunmuştur.

Medyan değerler karşılaştırıldığında, hem Ki-67 hem de mitoz skorlarının fibroadenomlarda diğer iki gruptan farklı olduğu görülmüştür ( $p < 0.05$ ). Sellüler fibroadenomlarda her iki skor medyanları fillodes tümörden daha düşük olmakla birlikte, fark anlamsız bulunmuştur (mitoz:  $p = 0.055$ , Ki-67:  $p = 0.075$ ). Bu sonuçlar, sellüler fibroadenomların proliferatif aktiviteleri bakımından da fibroadenomlar ile fillodes tümör arasında yer aldığını ve bu lezyonların bir spektrum oluşturduklarını düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Fibroadenom, sellüler fibroadenom, benign fillodes tümör, Ki-67

Fibroadenoma and phyllodes tumor are biphasic tumors of both stromal and epithelial elements. It was thought that biological behaviour of these tumors were determined by stromal elements. Cellular fibroadenomas behave as fibroadenoma so that their differentiation from the phyllodes tumor is important. The aim of the present study is to investigate the proliferative activity of fibroadenoma, cellular fibroadenoma and benign phyllodes tumor.

Five benign phyllodes tumor, 10 cellular fibroadenoma and 33 fibroadenoma were included in this investigation. Mitosis counting were performed on 10 consecutive high power fields in hematoxylin-eosin

sections. Ki-67 scores were determined by counting the positive nuclear staining on 10 consecutive high power fields.

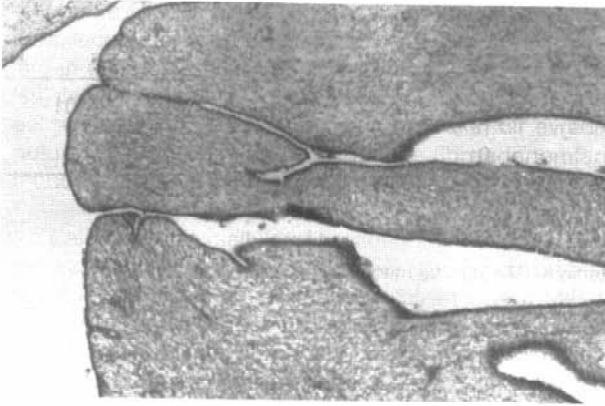
According to median scores, both mitosis and Ki-67 scores were found to be statistically different in fibroadenoma group when compared to other two groups. Both scores of the cellular fibroadenoma group were lower than the phyllodes group but these differences were statistically insignificant. These results suggest that cellular fibroadenoma are between fibroadenoma and benign phyllodes tumor according to their proliferative activity and these lesions may belong to a spectrum.

**Key Words:** Fibroadenoma, cellular fibroadenoma, benign phyllodes tumor, Ki-67

Fibroadenom ve memenin fillodes tümörünün her ikisi de bifazik lezyonlardır ancak seyirleri farklıdır. Fibroadenomlar yavaş büyüyen, 2-3 cm den daha büyük boyuta ulaşmayan, regrese olabilen lezyonlardır. Fillodes tümörler ise 10 cm üzerinde boyuta ulaşabilen, lokal rekürrens gösteren ve metastaz yapabilen neoplazmlardır. Bu nedenle birbirlerinden ayırt edilmeleri önemlidir. Fibroadenom ile benign fillodes tümör arasında "borderline" diyebileceğimiz özellikler taşıyan lezyonlar da bulunmakta, bu tanı ve sınıflandırma zorluğu yaratmaktadır<sup>(1)</sup>.

Sellüler fibroadenom ya da fibroadenom varyantı olarak da bilinen antite, fibroadenomun bir tipi olarak kabul edilmektedir. Ortalama görülme yaşı ve tümör boyutu fibroadenomlardakinden farklı değildir ve fibroadenomların içerisinde %5'ini oluşturur. Bu lezyonların sellüler stroması nedeniyle fillodes tümörden ayırımında zaman zaman güçlükler yaşanmaktadır. Çünkü fillodes tümörde stromanın daha sellüler oluşu ve nükleer atipinin daha belirgin olması gibi ayırıcı tanıda kullanılan kriterler yetersiz kalmaktadır. Sellüler fibroadenomun fibroadenom spektrumunda bir uçta yer aldığı muhtemel görülmektedir<sup>(1)</sup>.

Bu çalışmada fibroadenom, sellüler fibroadenom ve benign fillodes tümörde proliferatif aktivitenin araştırılması amaçlanmıştır.



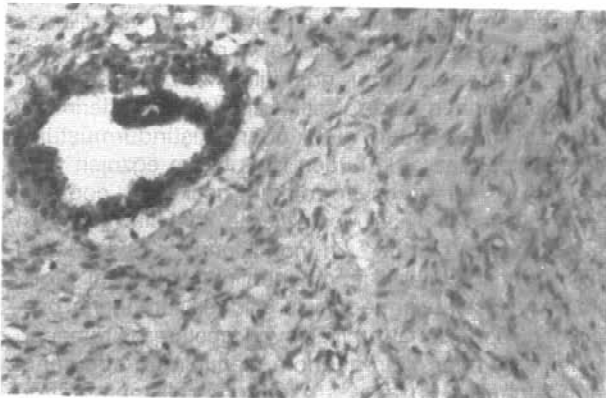
**Resim 1:** Sellüler stromalı ve glandüler yarıklanma gösteren benign fillodes tümör (HE, x20).



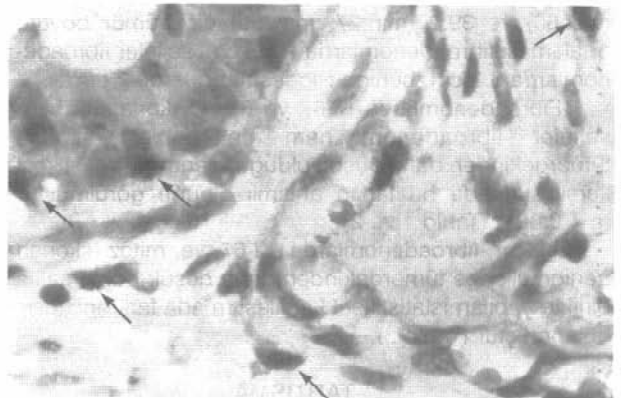
**Resim 2:** Çevreden muntazam sınırla ayrılan, perikanaliküler gelişim paterni gösteren sellüler fibroadenom (HE, x20).

### GEREÇ VE YÖNTEM

Ankara Onkoloji Hastanesi Patoloji Bölümü arşivinde 1985-1997 yılları arasında kayıtlı bulunan materyaller arasından 5 benign fillodes tümör, 10 sellüler fibroadenom ve 33 fibroadenom çalışma grubunu oluşturmuştur. Lezyonlarda stromal sellülarite kesitler küçük büyütmede incelenerek (x40, x100) değerlendirilmiştir. Sellüler stroma ile birlikte kistik boşluklara yapraksı uzantılar oluşturan lezyonlar fillodes tümör olarak değerlendirilmiştir (resim 1). Stomasında kollajenöz ve sellüler özellikler taşıyan, perikanaliküler tarzda büyüyen, (resim 2, 3) epitelyal hücrelerde de nükleositoplazma oranında nükleus lehine artış ve veziküler nükleus değişiklikleri içerebilen, fibroadenom özellikleri taşıyan lezyonlar sellüler fibroadenom olarak değerlendirilmiştir<sup>(1,2)</sup>. Sellüler stroma ile birlikte tam gelişmemiş yapraksı oluşumlar içeren lezyonlar sellüler fibroadenom olarak sınıflandırılmıştır<sup>(1,2)</sup>.



**Resim 3:** Sellüler fibroadenomda fibrokollajenize stroma (HE, x100)



**Resim 4:** Sellüler fibroadenomda epitelyal ve stromal hücrelerde izlenen pozitif nükleer Ki-67 boyanması (ok) (x400).

Olgulara ait hematoksilin eozin kesitlerde stromanın mitotik olarak en aktif olduğu alandan başlayarak 10 ardışık büyük büyütme alanında (x400, Optiphot-2, Nikon, alan çapı:0.48mm) mitotik figür sayımı yapılmıştır. Mitoz sayımının yapıldığı bloklardan hazırlanan kesitlere Ki-67 antikoru ile immünohistokimyasal boyama uygulanmıştır. İmmünohistokimyasal boyama öncesi kesitlere mikrodalga fırında (650W) sitrat tampon çözeltisi içerisinde toplam 40 dakika kaynatma uygulanmıştır. APAAP tekniği kullanılarak poliklonal Ki-67 antikoru (DAKO, predilüe) ile boyanma sağlanmıştır (resim 4). Ki-67 boyanmasının değerlendirilmesi ise boyanmanın en güçlü olduğu alandan başlayarak 10 ardışık büyük büyütme alanında (x400, Optiphot-2, Nikon) pozitif nükleer boyanma gösteren stromal hücreler sayılarak yapılmıştır.

Çalışma gruplarında Ki-67 skorları ve mitoz sayıları, medyan değerler kullanılarak Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. 0.05'den küçük p değerleri istatistiksel

	Ki-67					P	Mitoz				
	n	min	max	ort	medyan		min	max	ort	medyan	P
FA	33	0	34	5.72	4	=0.0002	0	1	0.06	0	=0.0001
SFA	10	5	64	21.70	17		0	6	1.20	1	

FA: fibroadenom, SFA: Sellüler fibroadenom

**Tablo 1 :** Fibroadenomlar ile sellüler fibroadenomlarda proliferatif aktivitenin Ki-67 skoru ve mitoz sayımı ile karşılaştırılması

	Ki-67					P	Mitoz				
	n	min	max	ort	medyan		min	max	ort	medyan	P
FA	33	0	34	5.72	4	=0.0006	0	1	0.06	0	=0.0000
BFT	5	21	104	42.60	27		1	8	3.20	3	

FA: Fibroadenom, BFT: Benign fillodes tümör

**Tablo 2 :** Fibroadenomlar ile benign fillodes tümörlerde proliferatif aktivitenin Ki-67 skoru ve mitoz sayımı ile karşılaştırılması

	Ki-67					P	Mitoz				
	n	min	max	ort	medyan		min	max	ort	medyan	P
SFA	10	5	64	21.70	17	=0.0755	0	1	1.20	1	=0.0552
BFT	5	21	104	42.60	27		1	8	3.20	3	

FA: Fibroadenom, BFT: Benign fillodes tümör

**Tablo 3 :** Sellüler fibroadenomlar ile benign fillodes tümörlerde proliferatif aktivitenin Ki-67 skoru ve mitoz sayımı ile karşılaştırılması

olarak anlamlı kabul edilmiştir .

## BULGULAR

Çalışma gruplarında fibroadenom, sellüler fibroadenom ve benign fillodes tümürlü olgularda sırası ile yaş ortalamaları 26.6 (min:16, max:44), 34.2 (min:17, max:60) ve 39.2 (min:27, max:59) dir. Tümör boyutu ortalaması fibroadenomlarda 2.79 cm, sellüler fibroadenomlarda 3.2 cm, benign fillodes tümörlerde 7 cm'dir.

Fibroadenomlarda Ki-67 ve mitoz skorlarının hem sellüler fibroadenom hem de benign fillodes tümördekenden daha düşük olduğu izlenmiş, istatistiksel karşılaştırmada bu farkın anlamlı olduğu görülmüştür ( $p < 0.001$ ) (Tablo 1 ve 2).

Sellüler fibroadenomlarda Ki-67 ve mitoz skorları benign fillodes tümördekenden daha düşük bulunmakla birlikte yapılan istatistiksel karşılaştırmada fark anlamsız bulunmuştur (Tablo 3).

## TARTIŞMA

Çalışmamızda proliferatif aktivite hem mitoz sayımı hem de immünohistokimyasal Ki-67 boyanması ile

değerlendirilmiştir. Bu yöntemlerin her ikisi ile yapılan istatistiksel karşılaştırmalarda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Rutin şartlarda kolayca uygulanabilir bir yöntem olması yanısıra mitoz sayımı fibroadenomlar ile benign fillodes tümörlerin karşılaştırılmasında Ki-67 skorları kadar değerli olabilir.

Daha önce yapılan klonal analiz çalışmalarında fibroadenomların poliklonal epitelyal ve stromal, fillodes tümörlerin ise poliklonal epitelyal ve monoklonal stromal hücrelerden oluştuğu gösterilmiştir<sup>(3)</sup>. Bu sonuçlar fibroadenomların hiperplastik, fillodes tümörlerin ise neoplastik lezyonlar olduklarını düşündürmüştür<sup>(3)</sup>. Çünkü hiperplazilerde birden fazla hücre egzojen veya endojen uyarılara cevap olarak poliklonal çoğalma göstermektedir. Oysa neoplazilerde somatik mutasyon teorisi sonucu bir hücrenin monoklonal çoğaldığı kabul edilmektedir. Epitelyal komponentinin poliklonal proliferasyon göstermesi nedeniyle, fillodes tümörlerin baştan beri monoklonal proliferasyon gösteren stromanın gelişmek yerine fibroadenom zemininde stromanın monoklonalite kazanması sonucu gelişmiş olduğu spekülasyonu yapılmıştır<sup>(3)</sup>. Daha sonraki çalışmalarda fibroadenomların bir kısmında da monoklonal proliferasyonun gösterilmesi bu spekülasyonu desteklemiştir<sup>(4,5)</sup>. Fibroadenomların da aslında neoplastik

olduğu ve fillodes tümörden önceki bir basamağı oluşturabileceği görüşleri ortaya atılmıştır<sup>(6)</sup>. Poliklonal olanlardan daha az sıklıkta görülen ve histopatolojik özellikleri ile ayırt edilemeyen monoklonal fibroadenomların gelişimsel olarak fillodes tümöre daha yakın bir evrede bulunduğunu söyleyen yazarlar, fibroadenomları monoklonal ve poliklonal olmak üzere ikiye ayırmaktadır<sup>(4)</sup>.

Çalışmamızda sellüler fibroadenomların proliferatif aktivite bakımından fillodes tümör grubundan farklı olmadığı görülmektedir. Bir başka çalışmada da MIB-1 skoru düşük olan fillodes tümörlere göre daha yüksek MIB-1 skoruna sahip fibroadenom grubu tarif edilmektedir<sup>(7)</sup>. Bu bulgular, fibroadenomları fillodes tümörlerden ayırmakta kullanılan histomorfolojik kriterlerin yetersiz olduğunu göstermektedir. Bir başka çalışmada ise sellüler fibroadenomlar ile benign fillodes tümörlerde PCNA indeksleri belirgin farklılık göstermektedir. Bu çalışmada 10 büyük büyütme alanında mitoz sayısı: 5:3 olan sellüler lezyonların sellüler fibroadenom, 3 olanların ise benign fillodes tümör olarak sınıflandırıldığı belirtilmektedir ve bu kriterin fibroadenom ile fillodes tümör ayırımında değerli olduğu vurgulanmaktadır. Çalışmamızda ise mitoz sayısı bu lezyonların ayırımında bir kriter olarak kullanılmamıştır.

Çalışmamızda proliferatif aktiviteleri bakımından sellüler fibroadenomların diğer fibroadenomlardan istatistiksel olarak farklı olduğu sonucu elde edilmiştir (tablo 1). Bu sonuç, kullandığımız histomorfolojik kriterlerin, sellüler varyantı diğer fibroadenomlardan ayırt etmek bakımından değerli olduğunu göstermektedir. Benzer başka iki çalışmada da sellüler varyantın PCNA<sup>(8)</sup> ve MIB 1<sup>(7)</sup> indeksinin diğer fibroadenomlardan farklı olduğu bildirilmektedir<sup>(6)</sup>. Bu iki çalışmada stromal sellülarite, bir büyük büyütme alanındaki stromal hücre sayısı hesaplanarak belirlenmiştir ve stromal sellülaritenin fibroadenomları sınıflandırmada önemli bir kriter olduğu vurgu-

lanmaktadır. Çalışmamızda ise stromal sellülarite küçük büyütme alanlarında kesitler taranarak belirlenmiştir.

Bir çalışmada bütün fibroadenomlar ve varyantları arasında yüksek MIB 1 indeksine sahip olanlar incelendiğinde hiçbir ortak histopatolojik özellik bulunmadığı, ancak yüksek MIB-1 indeksli fibroadenomlarda stromal sellülaritenin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu belirtilmektedir<sup>(7)</sup>. Yüksek proliferatif indeks yalnızca sellüler fibroadenomlara fenotipik bir özellik olarak yansımış olabilir. Her ne kadar monoklonal fibroadenomların da histopatolojik özellikleri ile ayırt edilemediği belirtilse de<sup>(4)</sup> yeni çalışmalarla sellüler fibroadenomların monoklonal fibroadenomlar olup olmadıklarının araştırılması memenin bifazik lezyonları arasındaki ilişkinin aydınlatılmasında faydalı olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Azzopardi JG. Problems in Breast Pathology. London: WB Saunders, 1979; 39-50.
2. Tavassoli FA. Pathology of the Breast. Norwalk: Appleton and Lange; 1992: 430-431.
3. Noguchi S, Motomura K, Inaji H, Imaoka S, Koyama H. Clonal analysis of fibroadenomas and phyllodes tumor of the breast. Cancer Res 1993; 53: 4071-4074.
4. Noguchi S, Yohouchi K, Alhara T, Motomura K, Inaji H, Imaoka S, Koyama H. Progression of fibroadenoma to phyllodes tumor demonstrated by clonal analysis. Cancer 1995; 76: 1779-1785.
5. Özişik yy, Meloni AM, Stephenson CF, Peler A, Moore GE, Sandberg AA. Chromosome abnormalities in breast fibroadenomas. Cancer Genet Cytogen 1994; 77: 125-128.
6. Hasebe T, Imoto S, Sasaki S, Tsubono Y, Mukai K. Proliferative activity and tumor angiogenesis is closely correlated to stromal cellularity of fibroadenoma: Proposal fibroadenoma, cellular variant. Pathol Int 1999; 49: 435-443.
7. Umekita Y, Yoshida H. Immunohistochemical study of MIB 1 expression in phyllodes tumor and fibroadenoma. Pathol Int 1999; 49: 807-810.