

Prostatın Benign ve Malign Olgularında NOR Cisimciklerinin Prognostik ve Diagnostik Önemi

PROGNOSTIC AND DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF NOR BODIES IN BENIGN AND MALIGN LESIONS OF PROSTATE

Mustafa Cihat AVUNDUK*

* Yard.Doç.Dr.,Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD, KONYA

Özet

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış 15 benign prostat hiperplazisi, 15 prostat intraepitelyal neoplazi ve 15 prostat adenokarsinoma olgusunun daha önce incelenmiş preparatları belirlenerek çalışmaya başlandı. Seçilen preparatların parafin bloklarından yeni kesitler alındı. Yeni kesitler gümüş impregnasyon tekniği ile boyandı. Pozitif boyanan NOR cisimcikleri sayılarak vakaların AgNOR değerleri bulundu. Ortalama AgNOR değerlerinin benign prostat hiperplazisi olgularında 3.08 ± 0.4 , prostat intraepitelyal neoplazi olgularında 5.17 ± 1.4 ve prostat adenokarsinoma olgularında ise 7.53 ± 1.9 olduğu tespit edildi. Benign prostat hiperplazisi, prostat intraepitelyal neoplazi ve prostat adenokarsinoma olgularında saptanan AgNOR değerlerinin birbirleri ile istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gösterdikleri belirlendi. Bu sonuçlar ışığında prostat lezyonlarında AgNOR değerlerinin prognostik ve diagnostik öneme sahip olduğu vurgulandı.

Anahtar Kelimeler: Prostat, Benign prostat hiperplazisi, Intraepitelyal neoplazi, Adenokarsinoma, AgNOR

T Klin Tıp Bilimleri 1999, 19:90-94

Summary

We re-examined a number of forty-five biopsy specimens diagnosed as benign prostatic hyperplasia, intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma of prostate. Each group contained equal number of biopsy specimens. New slides from the paraffin blocks of diagnostic specimens were prepared and stained with silver impregnation technique. NOR granules which were stained positively with this technique were counted and the AgNOR values were established for each specimens. The mean AgNOR values were found to be as 3.08 ± 0.4 (for benign prostatic hyperplasia group), 5.17 ± 1.4 (for intraepithelial neoplasia group) and 7.53 ± 1.9 (for adenocarcinoma group). These statistically significant differences were found when the groups were compared with each other. We emphasise diagnostic and prognostic importance of AgNOR values in prostatic lesions in the view of the results of this study.

Key words: Prostate, Benign prostatic hyperplasia, Intraepithelial neoplasia, Adenocarcinoma, AgNOR

T Klin J Med Sci 1999, 19:90-94

İnsan prostat dokusunun parakrin ve nöroendokrin hücreleri özellikle gümüş boyaması ve immünohistokimyanın da içinde bulunduğu çeşitli yöntemlerle incelenebilmektedir (1). Gümüş boyaması ile ribozomal RNA üretiminden sorumlu, nucleolar organizasyon region (NOR) boyanır (2, 3). NOR cisimcikleri arjirofilik, asidik, nonhiston proteinlerdir. Gümüş ile boyandıklarında ışık mikroskopunda kolayca görülebilir hale gelir ve sayılarak AgNOR değerleri elde edilir (2). AgNOR değerlerinin

tanısal amaçlı kullanımının istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verdiği bildirilmektedir (4).

Biz bu çalışmamızda benign prostat hiperplazisi (BPH), intraepitelyal neoplazi (PIN) ve prostat adenokarsinomu olgularında gümüş impregnasyon yöntemi ile AgNOR değerlerini belirledik. Olguların AgNOR değerlerini birbirleri ile karşılaştırarak literatür eşliğinde tartıştık.

Materyal Metod

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış, 15 BPH, 15 PIN ve 15 prostat adenokarsinomu olgusu çalışmaya dahil edildi. PIN olgularının 5'i düşük grade'li 10'u ise

Geliş Tarihi: 31.12.1998

Yazışma Adresi: Dr.Mustafa Cihat AVUNDUK
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji AD 42080 Akyokuş, KONYA

yüksek grade'li idi. Düşük grade'li PIN olguları PIN I ve II yi kapsarken, PIN III olguları yüksek grade'li olarak kabul edildi. Prostat adenokarsinomu olgularının ise; 7'si iyi differansiye, 8'i de kötü differansiye olgulardan oluşmaktadır. İyi differansiye prostat adenokarsinoma olguları Gleason'nun histolojik grade'ine göre Grade 1 ve 3c arasındaki olguları kapsamaktadır. Kötü differansiye olgular ise Grade 4a dan 5b'ye kadar uzanan grade'deki olgulardan oluşmaktadır.

Olguların hematoksilen eozin ile boyalı arşivlenmiş kesitleri gözden geçirilerek uygun parafin blokları seçildi. Seçilen parafin bloklardan 5 µ kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler gümüş impregnasyon yöntemi ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. Her olguda lezyonun bulunduğu alanda yer alan epitelyal 100 hücre rasgele seçilerek gümüş ile pozitif boyanan küçük kumsu tanecikler halindeki NOR bölgeleri sayıldı. NOR bölgeleri sayılırken tüm beneklerin ayrı ayrı sayılmasına önem gösterildi (5). Elde edilen sayının 100 e bölümü ile her olgunun hücre başına düşen ortalama partikül sayıları belirlendi ve böylelikle AgNOR değerleri elde edildi.

BPH, PIN ve prostat adenokarsinoma olgularının oluşturduğu her bir grubun ortalama AgNOR değerleri; grubu oluşturan olguların AgNOR değerlerinin toplanıp grup olgu sayısı olan 15'e bölünmesi ile hesaplandı. Yine bu yöntemle düşük grade'li PIN, yüksek grade'li PIN, iyi differansiye prostat adenokarsinomu ve kötü differansiye prostat adenokarsinomu olgularının AgNOR sayıları hesaplandı.

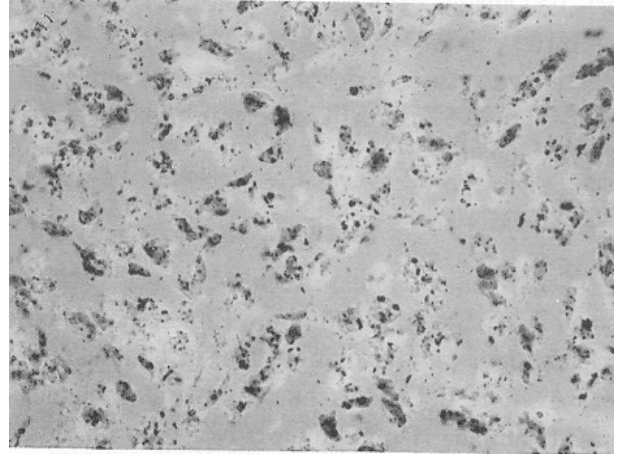
BPH, PIN ve prostat adenokarsinomu olgularının AgNOR değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundurup bulundurmadıkları Student T testi ile araştırıldı. Değişkenlerin az olmasından dolayı iyi differansiye prostat adenokarsinomu ile yüksek grade'li PIN ve BPH ile düşük grade'li PIN olguları arasında anlamlı bir farkın bulunup bulunmadığı Mann-Whitney U testi yardımıyla irdelendi.

Bulgular

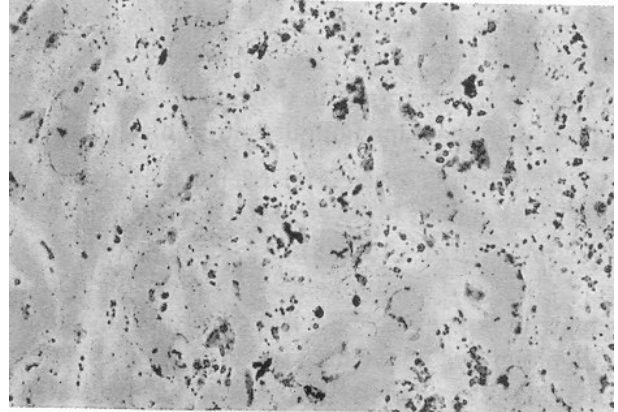
NOR cisimcikleri; gümüş impregnasyon yöntemi ile boyanan BPH, PIN (Şekil 1) ve prostat adenokarsinomu (Şekil 2) olgularına ait preparatlarda koyu kumsu tanecikler şeklinde görüldü. Ortalama

AgNOR sayısı BPH olgularında 3.08 ± 0.4 partikül/hücre, PIN olgularında 5.17 ± 1.4 partikül/hücre ve prostat karsinomu olgularında ise 7.53 ± 1.9 partikül/hücre olarak saptandı. Bu değerler düşük grade'li PIN olgularında 3.69 ± 0.4 partikül/hücre, yüksek grade'li PIN olgularında 5.91 ± 1.1 partikül/hücre, iyi differansiye prostat adenokarsinomunda 6.06 ± 1.2 partikül/hücre ve kötü differansiye prostat adenokarsinomu olgularında ise 8.83 ± 1.4 partikül/hücre olarak belirlendi (Tablo 1).

BPH olguları ile PIN olgularının AgNOR değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılığın varlığı görüldü ($p=2.11 \times 10^{-5}$,



Şekil 1. PIN olgusunda gümüş impregnasyon yöntemi ile boyama sonucunda koyu kumsu tanecikler halinde görülen NOR cisimcikleri izlenmekte (HE; x400).



Şekil 2. Prostat adenokarsinomu olgusunda bir köşede yoğunlaşan atipik hücrelerin içerisinde gümüş impregnasyon yöntemi ile boyanma sonrasında ince kumsu tanecikler halinde seçilen NOR cisimciklerinin PIN olgusunda izlenilene göre daha fazla sayıda olduğu dikkati çekmekte. Diğer köşede yer alan benign hücrelerde ise bu taneciklerin sayısının oldukça düşük olduğu görülmekte (HE; x400).

Tablo 1. Olguların AgNOR ortalamaları.

	BPH	PIN	Düşük grade'li PIN	Yüksek grade'li PIN	Prostat Adeno CA	İyi diff. Adeno CA	Kötü diff. Adeno CA
Olgu sayısı	15	15	5	10	15	7	8
Ortalama AgNOR değerleri	3.08 ± 0.4	5.17 ± 1.4	3.69 ± 0.4	5.91 ± 1.1	7.53 ± 1.9	6.06 ± 1.2	8.83 ± 1.4

$p < 0.01$). İstatistiksel olarak anlamlı farklılık, aynı zamanda, BPH olguları ile prostat adenokarsinomu olgularının AgNOR değerleri ($p = 1.27 \times 10^{-7}$, $p < 0.01$) ve PIN olguları ile prostat adenokarsinomu olgularının AgNOR değerleri arasında da ($p = 3.73 \times 10^{-4}$, $p < 0.01$) mevcuttu. Ayrıca BPH olguları ile düşük grade'li PIN olguları arasında ($p = 3 \times 10^{-3}$, $p < 0.01$) ve yüksek grade'li PIN ile iyi differansiye prostat adenokarsinomu arasında da ($p = 0.41$; $p < 0.5$) istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar mevcuttu.

Tartışma

Daha önce yapılan birçok çalışmada NOR cisimciklerinin tümörün proliferatif durumunun belirlenmesinde bir araç olduğundan söz edilmektedir (6). AgNOR değerlerin hücre kinetiğini ölçmek için kullanılan 3H-timidin otoradyografisi ile diğer hücresel proliferasyon belirleyicileri olan PCNA ve Ki-67 değerleri ile de bir paralellik göstermektedir (7). Kullanımının kolaylığı ile diğer proliferasyon belirleyicilerine göre daha ekonomik olması AgNOR değerlerinin önemini arttırmaktadır. Bu çalışmamızda prostatın benign ve malign lezyonlarında AgNOR değerlerini saptayarak elde ettiğimiz sonuçlarla olguların diagnostik ve prognostik özellikleri hakkında bilgilennmeyi amaçladık.

Hücre başına düşen ortalama partikül sayısının BPH olgularında; PIN ve prostat adenokarsinomu olgularına göre oldukça düşük sayıda olduğunu gözledik. Bir çok araştırmada da benign olgularda gümüş ile boyanan NOR cisimciklerinin sayısının malign olgulara göre daha az olduğu bildirilmektedir (8-11). Buna karşın BPH olgularında saptanılan AgNOR değerlerinin normal popülasyondaki semptomsuz kişilerin prostat dokularında gösterilen AgNOR değerlerinden daha fazla olduğundan söz edilmektedir (10). Olgularımız arasında normal prostat dokusu bulunmadığı için bu bulguyu saptayamadık. Ancak BPH olgularımızın AgNOR

değerleri; PIN ve prostat karsinomu olgularımızdaki AgNOR değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundurmaktadır. Zaten; AgNOR değerlerinin benign ve malign olgularda farklılıklar gösterdiği bir çok çalışmada gözlenen bir bulgu olmuştur (1,4,8,10,12,13).

PIN olgularının AgNOR değerlerinin de prostat adenokarsinom olgularının AgNOR değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gösterdiğini belirledik. PIN olgularında saptadığımız hücre başına düşen ortalama partikül sayısı; BPH olgularında saptadığımız AgNOR değerlerinden yüksek olmasına karşın, prostat adenokarsinomu olgularındaki AgNOR değerine göre ise düşüktü. Burada dikkati çeken bir bulgu da BPH olgularının AgNOR değerlerinin standart sapması oldukça düşük seyrederken (± 0.4), PIN olgularında bu değerlerin daha yüksek tespit edilmesidir (± 1.4). Bu da bize PIN olgularının AgNOR değerlerinin BPH olgularına göre daha geniş bir marjda seyrettiğini göstermektedir. Bir çalışmada iyi differansiye prostat adenokarsinomu olguları ile yüksek grade'li PIN olgularının AgNOR değerlerinin önemli bir fark göstermediğinden söz edilmektedir (10). Aynı şekilde düşük grade'li PIN olgularının da BPH olguları ile belirgin bir fark göstermesi düşünülemez. Böylelikle PIN olgularının kesin, dar bir sınır içerisinde seyretmeyip, bazı olgularda iyi differansiye adenokarsinoma bazı olgularda ise benign prostatik lezyonlara yakın olması beklenilir. Bunun sonucu olarak da PIN olgularındaki AgNOR değerlerinin standart sapması, BPH olgularında saptadığımız standart sapmadan daha büyük olacaktır.

Ancak biz çalışmamızda ortalama AgNOR indeksleri çok az miktarda değişiklik gösteren BPH ve düşük grade'li PIN olgularının (Tablo 1) AgNOR değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığı saptadık ($p = 3 \times 10^{-3}$, $p < 0.01$). Aynı anlamlı farklılığı yüksek gradeli PIN ile iyi differansiye prostat adenokarsinomları arasında da saptadık

($p=0.41$; $p<0.5$). Bu fark diğer gruplar arasında görülen fark kadar çarpıcı olmasa da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde idi.

AgNOR değerleri yalnız benign ve malign olgularda önemli farklılıklar göstermekle kalmayıp aynı zamanda malign olguların grade'lenmesinde de yol gösterici olmaktadır (14). Prostat adenokarsinom olgularında diferansiyasyon azaldıkça ve histolojik grade arttıkça AgNOR değerlerinin yükseldiği göze çarpmaktadır (8,10,14-17). Biz de prostat adenokarsinoma olgularımızın AgNOR değerlerinin geniş bir marj içerisinde seyrettiğini belirledik (± 1.9). İyi diferansiye formlarda AgNOR değerlerini prostat karsinoması ortalama değerlerinden oldukça düşük bulduk. Buna karşın AgNOR değerlerinin yüksek grade'li olgularda ve az differansiye formlarda ise ortalama değerden oldukça yüksek olduğunu gördük (Tablo 1). Zaten prostat karsinomu olgularındaki AgNOR değerlerinin standart sapmanın bu kadar yüksek olması da (± 1.9) bunu açıkça göstermekteydi.

Gümüş ile pozitif boyanan NOR cisimciklerinin benign olgularda az sayıda fakat büyük çaplı olduğu, buna karşın malign olgularda çok sayıda ancak küçük çaplı olduğu bizim de saptadığımız bir bulguydu (18).

AgNOR değerleri çalışmamızda da açıkça gördüğümüz gibi tanısal özellikleri yansıtmaması bakımından dikkat çekicidir. Bazı çalışmalarda prognostik özellikleri de yansıttığı bunun sonucu olarak da sağ kalım ile ilişkili olduğundan sözü edilmektedir (19). AgNOR değerlerinin takibi hastalığın tedaviye cevap verip vermediğini de inceleme olanağı sunmaktadır (20,21). Bu sayede küratif olmayan tedavi ile çok değerli zamanın boşuna geçirilmesi de önlenilmektedir.

AgNOR değerleri bir tümör için spesifik belirleyici olmamasına karşın rutin kullanım için oldukça uygun bir yöntemdir. Çünkü tümörün metabolik aktivitesini gösterebilmekte ve proliferatif davranışı hakkında bilgiler içermektedir (22). Ancak standart bir sonuç vermemektedir. Değerlendiren kişiye göre farklı sonuçlar elde edilebilmektedir (8). Olumsuzluklarına karşın oldukça kolay uygulanabilirliği ve geriye dönük çalışmaya da olanak vermesi avantajlarıdır.

Sonuç olarak gümüş impregnasyon yöntemi; prostatın benign ve malign lezyonlarının değerlendirilmesinde değerli bir yöntemdir. Tanısal katkıları yanı sıra, tedavinin takibi ve prognoz tahmininde de yol gösterici olmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Cohen RJ, Gleason G, Haffjee Z, Afrika D. Prostatic carcinoma: histological and immunohistological factors affecting prognosis. *Br J Urol* 1990, 66(4): 405-10.
2. Chevillat JC, Clamon GH, Robinson RA. Silver-stained nucleolar organizer regions in the differentiation of prostatic hyperplasia, intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma. *Mod Pathol* 1990, 3(5): 596-8.
3. Deschenes J, Weidner N. Nucleolar organizer regions (NOR) in hyperplastic and neoplastic prostate disease. *Am J Surg Pathol* 1990, 14(12): 1148-55.
4. Hansen AB, Ostergard B. Nucleolar organizer regions in hyperplastic and neoplastic prostatic tissue. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1990, 417(1): 9-13.
5. Crocker J, Boldy DA, Egan Mj. How should we count AgNORs? Proposals for a standardized approach. *J Pathol* 1998; 158(3): 185-8.
6. Leek RD, Alison MR, Sarraf CE. Variations in the occurrence of silver-staining nucleolar organizer regions (AgNORs) in non-proliferating and proliferating tissues. *J Pathol* 1991 165(1):43-51.
7. Helpap B. Cell kinetic studies on prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) and atypical adenomatous hyperplasia (AAH) of the prostate. *Pathol Res Pract* 1995, 191(9): 904-7.
8. Lloyd SN, Johnson CP, Brown IL, Kirk D. Nucleolar organizer regions in benign and malignant prostatic disease. *Histopathol.* 1991, 18(5): 449-52.
9. Mamaeva S, Lundgren R, Elfving P, Limon J, Mandahl N, Mamaev N, et al. AgNOR staining in benign hyperplasia and carcinoma of the prostate. *Prostate.* 1991, 18(2): 155-62.
10. Mucherjee J, Misra V, Gupta SC, Gupta AK, Tandon SP. Argyrophilic nucleolar organizer regions in atypical adenomatous hyperplasias, prostatic intraepithelial neoplasias and prostatic neoplasms. *Urol Int* 1997, 58(2): 75-9.
11. Pavlakis K, Alivizatos G, Mitropoulos D, Constantinides C, Skopelitou A, Kittas C et al. Silver-binding nucleolar organizer regions in benign and malignant prostatic lesions. *Urol Int* 1992, 49(3):137-40.
12. Ghazizadeh M, Sasaki Y, Ogoro T, Aihara K. Silver staining of nucleolar organizer regions in prostatic lesions. *Histopathol* 1991, 19(4):369-72.
13. Helpap B, Riede C. Nucleolar organizer regions in low- and high grade carcinomas of the prostate. *World J Urol* 1995, 13(3): 195-9.
14. Lundgren R. Cytogenetic studies of prostatic cancer. *Scand J Nephrol Suppl.* 1991, 136:1-35.

15. Alivizatos G, Pavlaki K, Giannopoulos A, Mitropoulos D, Tsega A, Deliveliotis C et al. Nucleolar organizer regions in prostatic adenocarcinomas. Comparison with flow cytometric analysis, tumor grade, stage and serum prostate-specific antigen levels. *Eur Urol*. 1992, 21(2): 141-5.
16. Ahıskalı R, Alican Y, Ekiciođlu G, Çevik I, Kullu S, Akdaş A. Evaluation of three different AgNOR counting methods in advanced carcinoma of the prostate. *Prostate*. 1995, 26(2): 105-10.
17. Botticelli AR, Casali AM, Botticelli L, Zaffè D. Immunohistochemical detection of cell-cycle associated markers on paraffin embedded and formalin fixed needle biopsies of prostate cancer: correlation of p120 protein expression with AgNOR, PCNA/cyclin, Ki-67/MIB1 proliferation-scores and Gleason gradings. *Eur J Histochem* 1998, 42(1): 41-8.
18. Contractor H, Ruschoff J, Hanisch T, Ulshofer B, Neumann K, Schultze-Seemann W et al. Silver-stained structures in prostatic carcinoma: evaluation of diagnostic and prognostic relevance by automated image analysis. *Urol Int* 1991, 46(1): 9-14.
19. Chiusa L, Galliano D, Formiconi A, Di Primo O, Pich A. High and low risk prostate carcinoma determined by histologic grade and proliferative activity. *Cancer* 1997, 15:79(10): 1956-63.
20. Szepeshazi K, Korkut E, Schally AV. Decrease in the AgNOR number in Dunning R3327 prostate cancers after treatment with an agonist and antagonist of luteinizing hormone-releasing hormone. *Am J Pathol* 1991, 138(5):1273-7.
21. Ohki T, Akakura K, Ueda T, Akimoto S, Yatani R, Shimazaki J. Changes in histologic grade and argyrophilic nucleolar organizer regions during progression of prostate cancer. *Jpn J Clin Oncol* 1996, 26(2): 82-7.
22. Kodousek R, Dusek J. Demonstration of the nucleolar organizer region by silver staining (AgNOR method) in research and in histopathological practice. *Acta Univ Placki Olomuc Fac Med* 1991, 131: 9-37.