TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

MALİGN PLEVRAL MEZOTELYOMALARDA DOKU MİKROARRAY YÖNTEMİYLE İMMÜNPROFİLİN İNCELENMESİ

Dr. Eda AKPINAR

PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Serpil DİZBAY SAK

ANKARA
2010

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

MALİGN PLEVRAL MEZOTELYOMALARDA DOKU MİKROARRAY YÖNTEMİYLE İMMÜNPROFİLİN İNCELENMESİ

Dr. Eda AKPINAR

PATOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Serpil DİZBAY SAK

ANKARA
2010

KABUL VE ONAY

ÖNSÖZ

Tezimin tüm aşamalarında desteğini ve yardımlarını hiç esirgemeyen Prof. Dr. Serpil DİZBAY SAK'a, uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde katkıları olan tüm değerli hocalarıma, mikroarray konusunda büyük yardımından ötürü Doç. Dr. Gülşah KAYGUSUZ' a, beraber çalıştığım tüm uzman arkadaşlarıma ve asistanlığım boyunca hep yanımda olan arkadaşlarım; Yasemin YUYUCU KARABULUT, Elçin KADAN, Pınar CELEPLİ, Banu İNCE, Seher YÜKSEL ve Ayşegül ŞAŞMAZ' a teşekkür ederim.

Çalışmamda kullanmak üzere arşivini bana açan Prof. Dr. Selim EREKUL, Prof. Dr. Esra ERDEN ve Prof. Dr. Serpil DİZBAY SAK' a teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamın hazırlık aşamasındaki yardımlarından ötürü, Alahattin ALPTEKİN ve Yusuf ASLAN' a, H&E ve immünhistokimyasal kesitlerin hazırlanmasındaki emekleri için Kesit Patoloji çalışanlarına ve AÜTF İmmünpatoloji laboratuarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Asistanlığım ve tez dönemim süresince her zaman yanımda olan eşim Ayhan AKPINAR ve küçük kızım Ayda' ya teşekkür ederim.

Dr. Eda AKPINAR

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL VE ONAY i
ÖNSÖZ ii
İÇİNDEKİLER iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ vi
RESİMLER DİZİNİ vii
TABLOLAR DİZİNİ viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Plevra 3
2.1.1. Plevra Embriyolojisi 3
2.1.2. Plevra Histolojisi 4
2.2. Plevra Tümörleri 6
2.3. Diffüz Malign Mezotelyoma 6
2.3.1. Epidemiyoloji 7
2.3.2. Etiyoloji ve Patogenez 7
2.3.3. Makroskopik Bulgular 9
2.3.4. Diffüz Malign Mezotelyoma Histolojik Alt Tipleri 9
2.4. Lokalize Malign Mezotelyoma 13
2.5. Mezotelyal Kökenli Diğer Tümörler 13
2.5.1. İyi Diferansiye Papiller Mezotelyoma 13
2.5.2. Adenomatoid Tümör 13
2.6. Diffüz Malign Mezotelyomada Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Özellikler 14
2.6.1. Histokimyasal Özellikler 14
2.6.2. İmmünohistokimyasal Özellikler 14
2.7. Diffüz Malign Mezotelyomada Ayırıcı Tanı 16
2.7.1. Benign (Reaktif) Mezotel Proliferasyonları ile Malign Mezotel Proliferasyonları Arasında Ayrım 16

2.7.2. Epiteloid Malign Plevral Mezotelyoma ile Öncelikle Akciğer Adenokarsinomu olmak üzere Metastatik Diğer Adenokarsinomların Ayırıcı Tanısı 19
2.7.3. Dezmoplastik Malign Plevral Mezotelyoma ile Plevral Fibrozis Ayırıcı Tanısı 20
2.7.4 Sarkomatoid Malign Plevral Mezotelyoma ile Diğer Mezenşimal Tümörler Arasındaki Ayırım 21
2.8. Çalışmada Kullanılan İmmünohistokimyasal Belirteçler 21
2.8.1. Kalretinin 21
2.8.2. Sitokeratin 5/6 (CK5/6) 22
2.8.3. D2-40 23
2.8.4. Wilm's Tümörü 1 (WT1) 24
2.8.5. HBME1 24
2.8.6. Tiroid Transkripsiyon Faktör-1 (TTF1) 25
2.8.7. Karsinoembriyonik Antijen (CEA) 25
2.8.8. Epitelyal Spesifik Antijen (MOC 31) 26
2.8.9. GLUT1 26
2.8.10. EMA 27
2.8.11. BCL-2 27
2.8.12. ER 28
2.8.13. C-ERB B2 28
2.8.14. P53 29
2.8.15. Kİ67 29
2.8.16. Epidermal Büyüme Faktörü (EGFR) 29
2.8.17. Desmin 30
2.8.18. Keratinler 30
2.9. Klinik Bulgular, Prognoz, Evreleme, Tedavi Yaklaşımları 31
3. MATERYAL VE METOD 33
3.1. Olgu Seçimi ve Mikroarray Blokların Hazırlanması 33
3.2. Histopatolojik İnceleme 34
3.3. İmmünhistokimyasal İnceleme 35
3.3.1. Kullanılan Antikorların Özellikleri 35

3.3.2. İmmünhistokimyasal Boyama 36
3.3.3. İmmünhistokimyasal Boyamaların Değerlendirilmesi 36
3.4. Mikroarray Bloklarında Doku Silindirlerinin Değerlendirilmesi 36
3.5. İstatistiksel Değerlendirme 37
4. BULGULAR 38
4.1. Genel Bulgular 38
4.2. Mikroskopik Bulgular 43
4.3 Malign Mezotelyoma Alt Tiplerine Göre İmmünhistokimyasal Bulgular 44
4.3.1. Epiteloid Mezotelyoma Olgularında İmmünhistokimyasal Bulgular 44
4.3.2. Sarkomatoid Mezotelyoma Olgularında İmmünhistokimyasal Bulgular 50
4.3.3. Bifazik Mezotelyoma Olgularında İmmünhistokimyasal Bulgular 55
4.3.4. Epiteloid Morfolojiye Sahip Diğer Tümör Türlerinde İmmünhistokimyasal Bulgular 62
4.4. İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Duyarlılık ve Seçicilikleri 65
4.4.1. Epiteloid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Duyarlılık ve Seçicilikleri 67
4.4 2. Sarkomatoid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Bellirleyicilerin Duyarlılık ve Seçicilikleri 68
4.4.3. Bifazik Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Duyarlılık ve Seçicilikleri 69
5. TARTIŞMA 78
6. SONUÇLAR 104
7. ÖZET 109
8. SUMMARY 111
9. KAYNAKLAR 113

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

TGF B-1	: Farklılaştırıcı Büyüme Faktörü Beta - 1
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DfMM	: Diffüz Malign Mezotelyoma
SV 40	: Simian Virüs 40
EDfMM	: Epiteloid Diffüz Malign Mezotelyoma
SDfMM	: Sarkomatoid Diffüz Malign Mezotelyoma
DzDfMM	: Dezmoplastik Diffüz Malign Mezotelyoma
LMM	: Lokalize Malign Mezotelyoma
MM	: Malign Mezotelyoma
MPM	: Malign Plevral Mezotelyoma
EMA	: Epitelyal Membran Antijen
WT1	: Wilm's Tümör 1
CEA	: Karsinoembriyonik Antijen
TTF1	: Tiroid Transkripsiyon Faktör 1
MOC31	: Epitelyal Spesifik Antijen
CK5/6	: Sitokeratin 5/6
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
MA	: Mikroarray
ER	: Östrojen Reseptörü

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. MA bloğu, H&E ve İHK boyalı camlar, H&E kesitler

Resim 2. Plörodezis uygulamalarına bağlı görünüm

Resim 3. Bifazik malign mezotelyoma olgusunda lenf nodülü metastazı

Resim 4. Dezmoplastik mezotelyoma

Resim 5. Mezotelyoma olgularında kalretinin ekspresyonları

Resim 6. Mezotelyoma olgularında CK5/6 ekspresyonları

Resim 7. Mezotelyoma olgularında WT1 ekspresyonları

Resim 8. Mezotelyoma olgularında D2-40 ekspresyonları

Resim 9. Mezotelyoma olgularında HBME1 ekspresyonları

Resim 10. Desmin ekspresyonları

Resim 11. EMA ekspresyonları

Resim 12. Akciğer adenokarsinomu immünprofili

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Plevra Tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütüne Göre Histolojik Sınıflandırılması

Tablo 2. Malign Mezotelyoma ve Akciğer Adenokarsinomunun Histokimyasal Özellikleri

Tablo 3. Çalışmaya Dahil Edilen Olgu Grupları

Tablo 4. Çalışmada Kullanılan Antikorların İsimleri, Dilüsyonları ve Ticari Kaynaklar

Tablo 5. Olguların Yaş (Yıl) Dağılımı

Tablo 6a. Cinsiyete Göre Histolojik Tip Dağılımı

Tablo 6b. Histolojik Tiplerde Cinsiyet Dağılımı

Tablo 7. Histolojik Tiplere Göre Spesmen Türü

Tablo 8. Materyal Boyutlarına Göre Histolojik Tip Dağılımı

Tablo 9. Materyal Boyutlarına Göre Epiteloid ve Bifazik Mezotelyoma Dağılımı

Tablo 10. Örneklerin Birinci ve İkinci Değerlendirme Sonuçları

Tablo 11. Alt Tiplere Göre Plevral Plak

Tablo 12. Epiteloid Mezotelyoma Olgularında İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Tablo13. Epiteloid Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Tüm Korlar Değerlendirildiğinde İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Tablo14a. Epiteloid Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Tüm Korlar Değerlendirildiğinde Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Performansları

Tablo 14b. Epiteloid Mezotelyomada Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Tablo 15. Epiteloid Mezotelyoma P53, Ki67 Boyanma Oranları

Tablo 16. Sarkomatoid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Tablo 17. Sarkomatoid Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Tüm Korlar Değerlendirildiğinde İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Tablo 18a. Sarkomatoid Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Tüm Korlar Değerlendirildiğinde Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Performansları

Tablo 18b. Sarkomatoid Mezotelyomada Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Tablo 19. Sarkomatoid Mezotelyomada P53, Ki67 Boyanma Oranları

Tablo 20. Bifazik Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Tablo 21. Bifazik Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Epiteloid ve Sarkomatoid Alanların Birlikte Görüldüğü Korlarda İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Tablo 22. Bifazik Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Tüm Korlar Değerlendirildiğinde İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Epiteloid ve Sarkomatoid Alanları Belirleme Performansları

Tablo 23a. Bifazik Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Tüm Korlar Değerlendirildiğinde Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Performansları

Tablo 23b. Bifazik Mezotelyomada Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Tablo 24. Bifazik Mezotelyomada P53 ve Ki67 Boyanma Oranları

Tablo 25. Diğer Tümörlerde İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Tablo 26. Diğer Tümör Türleri Değerlendirildiğinde Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Performansları

Tablo 27. Diğer Tümör Türlerinde P53 ve Ki67 Boyanma Oranları

Tablo 28. Kalretininin İçin Örnek Duyarlılık ve Seçicilik Hesap Değerleri

Tablo 29a. Epiteloid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Duyarlılık, Seçicilik ve Diğer Değerleri

Tablo 29b. Epiteloid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Birlikte Kullanımı ile Elde Edilen Duyarlılık ve Seçicilik Değerleri

Tablo 30a. Sarkomatoid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Duyarlılık, Seçicilik ve Diğer Değerleri

Tablo 30b. Sarkomatoid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Birlikte Kullanımı ile Elde Edilen Duyarlılık ve Seçicilik Değerleri

Tablo 31a. Bifazik Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Duyarlılık, Seçicilik ve Diğer Değerleri

Tablo 31b. Bifazik Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Birlikte Kullanımı ile Elde Edilen Duyarlılık ve Seçicilik Değerleri

Tablo 32. Kalretinin ile Yapılmış Çalışmaların Sonuçları

Tablo 33. CK5/6 ile Yapılmış Çalışmaların Sonuçları

Tablo 34. WT1 ile Yapılmış Çalışmaların Sonuçları

Tablo 35. D2-40 ile Yapılmış Çalışmaların Sonuçları

Tablo 36. HBME1 ile Yapılmış Çalışmaların Sonuçları

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Malign mezotelyoma, başta plevra olmak üzere tüm serozal yüzeylerdeki mezotelyal hücrelerden köken alan primer bir tümördür. En sık görüldüğü yer plevra olup, bunu periton ve daha az sıklıkta perikard ve tunika vajinalis testis takip etmektedir.

Mezotelyoma ilk kez 1960 yılında Wagner ve arkadaşları tarafından, asbest maruziyeti ile ilişkili olarak Güney Afrika'da tanımlanmıştır (1). Görülme sıklığı endüstride asbest kullanımının artması ile 20.yüzyılın başlarında artış göstermiştir (2). Ülkemizde özellikle Orta ve Güneydoğu Anadolu'da önemli bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır. Kapadokya bölgesinde üç köyde (Tuzköy, Karain, Sarıhıdır), asbest dışında erionit isimli bir mineralin de malign mezotelyoma epidemisine yol açtığı tesbit edilmiştir. Bu bölgelerde asbest ilişkili malign mezotelyoma insidansı milyonda 50 olarak bildirilirken, bu oranın erionit ilişkili malign mezotelyomada milyonda 2200-8000' e ulaştığı tesbit edilmiştir. Bu durum batı ülkelerindeki asbest teması olmayan nüfustan 10.000 kat daha fazla olup, 1 lif/mL hava/yıl miktarındaki temas sonucunda plevral mezotelyoma oluşması 996/100.000 kişi/yıl olarak tahmin edilmektedir (3, 4).

Mezotelyal lezyonlar patolog açısından tanısı güç lezyonlardır, çünkü benign tümörler, reaktif proliferasyonlar ve malign mezotelyoma patolojik olarak biribirini taklit edebilirler. Serozal yüzeyler iç organlara ait değişik malign neoplazilerden sık metastaz alırlar, ayrıca malign mezotelyomada izlenen morfolojik patternler, plevraya metastaz yapabilen diğer epitelyal ve non-epitelyal tümörler ile benzer özellikler içerebilirler (5, 6). Klinik, radyolojik bulgular ve histomorfolojik özellikler malign mezotelyoma tanısı için yeterli olmadığında histokimya, immünhistokimya ve elektron mikroskobik yöntemlere başvurulabilir. İmmünhistokimya günümüzde bunlar arasında rutin uygulamada en yararlı olan yöntemdir. Ancak malign mezotelyoma için spesifik bir belirleyici henüz tanımlanmamıştır. Bu nedenle mezotelyoma tanısı için, mezotelyomada ekpresyonu

beklenen “pozitif belirleyiciler” ve immünreaksiyon göstermemesi beklenen “negatif belirleyiciler” ‘in kombine edilmesi ile oluşturulan immünhistokimyasal bir panel kullanılır (6).

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Türkiye’ de göğüs cerrahisinin uygulandığı öncü merkezlerden biri olduğundan Patoloji Anabilim Dalı’nın mezotelyoma ve mezotelyoma ile karışan tümörler açısından zengin bir materyali bulunmaktadır. Biz de bu çalışmada coğrafi kaynaklı (erionit ve asbest) mezotelyomanın sık görüldüğü ülkemizde kendi serimizde mezotelyoma olgularının dökümünü yapmak, tiplerini belirlemek ve uygun immünhistokimyasal paneli kendi koşullarımızla değerlendirmek için bu çalışmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PLEVRA

Göğüs kafesi, diafram, mediasten ve akciğer parankimini örten seröz bir zardır. Plevranın ana görevi solunum anında akciğerlerin toraks içindeki hareketlerini kolaylaştırmaktır. Parietal ve visseral plevra olarak ikiye ayrılır. Visseral plevra akciğerlerin dış yüzü ve lober fissürleri sararken; parietal plevra toraksın iç yüzünü örter. Sardığı intratorasik yüzeylere göre kostal, diafragmatik ve mediastinal plevra olarak bölümlere ayrılmaktadır.

Normalde parietal ve visseral plevra arasında oldukça az bir miktarda plevra sıvısı bulunur. Bu sıvının bulunduğu alana plevra boşluğu ya da plevral kavite denir. Bu sıvıda monosit, makrofaj, lenfosit, mezotel hücreleri ve seyrek polimorf lökositler bulunur (7).

2.1.1. Plevranın Embriyolojisi

Embriyoda plevrayı yapacak olan çölomik kavite U şeklinde bir bant olarak belirir. Bu bantın üst kısmı perikardiumu yaparken, diğer bölüm plevra ve parietal kaviteleri yapacaktır. Bu üç bölümün gelişmesinde septum transversum diafragma olarak görev yaparken, plöro- perikardial membranlar perikard ile plevrayı ayırırlar. Diğer taraftan plöro-peritoneal membranlar, septum transversum ile birleşerek plevral ve peritoneal boşluk arasındaki bölümü oluştururlar. Bu yeni oluşmuş plevral boşluk tam olarak mezotel ile örtülür. Dördüncü haftadan itibaren ilkel bronşial tomurcuk ile başlayan akciğer gelişimi 16. haftadan itibaren mezenkimal bir doku içinde epitel ve bağ dokusunu geliştirirken, bu mezenkimal kitleden gelecekteki mediastinum gelişecektir ve iki plevral kavite de (parietal ve visseral) birbirinden ayrılacaktır. Ayrılma ile birlikte mezotelyal örtü de gelişecektir. Bronşial ağaç

geliştikçe de farklı loblar kendi visseral plevralarını ve fissürlerini geliştirirler. Plevral kavitenin mezotelyal örtüsü de parietal plevrayı oluşturur (7, 8).

2.1.2. Plevranın Histolojisi

Kaburga ve interkostal alanlar üzerindeki parietal plevra, düzensiz yumuşak bir bağ dokusu ve üzerindeki mezotelden ibarettir. Bağ dokusunda kan damarları, özellikle kapillerler ve lenfatik lakünler görülür. Parietal plevranın kalınlığı canlı türlerine göre farklılıklar gösterebilir. Bu 20–25 μm arasındadır (9).

Visseral plevra, anatomik olarak parietal plevradan belirgin olarak farklıdır. Yine türlere göre farklılıklar gösterir. Kedi, köpek, maymun ince; insan, koyun, domuz, at ise kalın bir plevraya sahiptir. Visseral plevranın ince ve kalın olması ile akciğerler arasındaki fizyolojik ilişki önemlidir. Zira kan akımı ihtiyacı plevra kalınlığı ile doğrudan ilişkilidir. Kalın plevralarda kanın başlıca kaynağı sistemik dolaşım iken; ince plevralarda kaynak pulmoner dolaşımdır (9).

Histolojik olarak kalın visseral plevra mezotel ve bağ dokusu olarak iki bölümden oluşur. Kan ve lenf damarları ile sinirler bağ dokusundadır. Kan ve lenf damarları kollajen ve elastik liflerce desteklenirler. Kollajen ve elastik liflerin oluşturduğu bu tabaka iki alt tabakaya ayrılır: internal ve eksternal elastik lamina. Eksternal elastik lamina mezotelyal hücreleri desteklerken, internal elastik lamina damarları çevreler ve akciğerin interstisyumu ile devamlılık halindedir. Bu elastik tabakanın belirlenmesi, özellikle primer akciğer kanser evrelemesinde önemli olan plevral invazyonu anlayabilmek için gereklidir (10). Kalın visseral plevrada iyi gelişmiş bir bağ dokusu görülür. Bu bağ dokusu iki önemli fonksiyona sahiptir. İlki hava ile şişen akciğerlerin sönmesine ve diğeri aşırı şişmesine engel olmaktır (11).

Hem parietal hem de visseral plevra yüzeyi tek tabakalı yassı mezotel hücreleri ile kaplıdır. Mezotel hücreleri pleomorfiktir ve büyük olasılıkla alttaki submezotelyal dokunun gerilme derecesine göre yassıdan küboid veya kolumnar şekle kadar değişiklikler gösterebilir. Morfolojilerindeki farklılıklara rağmen bütün

alanlarda tek sıralıdırlar. Mezotel hücrelerinin kalınlıkları 1–4 μm ve yüzey çapları ise 16–40 μm'dur. Elektron mikroskobunda plevra yüzeyi düz veya bombeli görülür. Bombeli yüzler visseral plevranın çoğu bölgesinde ve parietal plevranın kosta altına rastlayan bölgeleri ile baskıya maruz kalarak yapısının zayıfladığı bölgelerde görülürler. Bu hücrelerde bol mikrovilli vardır. Her hücre yaklaşık 300 mikrovilli içerir. Mikrovilliler parietal plevranın inferior kısmında daha fazladır, boyları 0,5–3 μm, çapları 0,1μm civarındadır. Mikrovilli fonksiyonları tam olarak bilinmemekle birlikte, plevra sıvısını emerek visseral plevranın kapasitesini arttırmak veya özellikle toraks alt alanlarında sürtünmeyi azaltmak için göğüs duvarı ve akciğer arasında hyalurinik asitten zengin glikoprotein ağı örmek olduğu düşünülür (10).

Mezotel hücreleri aktif hücrelerdir. Çeşitli uyaranlara cevap verirler ve hassastırlar (12). Kültürde; tip I, II ve IV kollagen, elastin, fibronektin ve laminin ürettikleri gösterilmiştir (13). Ayrıca tipik olarak hem fibroblast hem epitelyal hücrelerin intermedier filamentlerini ifade ederler. Mezotel hücreleri ayrıca hücre yüzeyinde faktör VII bağlayan bir doku faktöründen dolayı prokoagülan aktivite de taşırlar. Nitrik oksit ve Farklılaştırıcı Büyüme Faktörü Beta -1 (TGF ß–1) de üretirler (12, 13).

Mezotel tabakası çok frajildir. Plevral hastalığı olmayan hastalara torakotomi uygulandığında bile mezotel hücrelerinin döküldüğü, soyulduğu görülür. Bu alanlar mezotel hücrelerinin migrasyonu ve mitozu ile tamir edilir. Yüzeyden ayrıldıklarında plevra sıvısı içinde serbest kalırlar ve oval/yuvarlak olarak gözlenirler. Sitoplazmaları organelden yana zengindir. Bu halleriyle fagositoz yetenekleri kazanarak makrofajlara dönüşürler. Bu değişmiş hallerinde sitoplazmalarında vakuoller görülür. Plevra sıvısındaki tüm makrofajlar mezotel hücrelerinden köken almaz. Bir kısmı periferik kan mononükleer hücrelerinden bir kısmı da alveoler makrofajlardan köken alabilirler. Mezotel hücrelerinden köken alan makrofajların immünolojik role sahip oldukları da belirtilmiştir (12, 13).

2.2. PLEVRA TÜMÖRLERİ

Plevra tümörleri 2004 Dünya Sağlık Örgütünün (DSÖ) sınıflamasında mezotelyal tümörler, lenfoproliferatif hastalıklar, mezenkimal tümörler olmak üzere 3 ana başlık altında incelenmektedir (14). (Tablo 1)

Tablo 1. Plevra Tümörlerinin Dünya Sağlık Örgütüne Göre Histolojik Sınıflandırılması

MEZOTELYAL TÜMÖRLER	**LENFOPROLİFERATİF HASTALIKLAR**	**MEZENKİMAL TÜMÖRLER**
1- Diffüz malign mezotelyoma	***1- Primer effüzyon lenfoması***	***1- Epiteloid hemanjioendotelyoma***
a- Epiteloid mezotelyoma	***2- Piyotoraksla ilişkili lenfoma***	- Anjioyosarkom
b- Sarkomatoid mezotelyoma		***2- Sinovyal sarkom***
c- Dezmoplastik mezotelyoma		a- Monofazik
d- Bifazik mezotelyoma		b- Bifazik
2- Lokalize malign mezotelyoma		***3- Soliter fibröz tümör***
3- Mezotel kökenli diğer tümörler		***4- Plevranın kalsifiye tümörü***
İyi differansiye papiller tümör		***5- Dezmoplastik yuvarlak hücreli tümör***
b- Adenomatoid tümör		

2.3. DİFFÜZ MALİGN MEZOTELYOMA

Diffüz Malign Mezotelyoma (DfMM) plevradaki mezotelyal hücrelerden kaynaklanan, diffüz pattern gösteren ya da plevral yüzeyden dışa doğru ilerleyen malign tümördür. Plevranın en sık görülen primer malign tömörüdür (14). "Malign mezotelyoma" terimi genellikle "diffüz malign mezotelyoma" yerine kullanılmaktadır (15).

2.3.1. Epidemiyoloji

Plevral mezotelyoma genelde 60 yaş üstü hastalarda daha sık görülür fakat yaş dağılımı geniştir ve nadiren çocuklarda da görülür. Görülme sıklığı endüstride asbest kullanımının artması ile 20.yüzyılın başlarında artış göstermiştir (2). Kuzey Amerika'da kadınlardaki malign mezotelyoma insidansı yaklaşık 2-3 /milyon/yıl olarak belirlenmiş ve bu oranın son 30 yıldır değişmediği saptanmıştır. Yine Kuzey Amerika'da erkeklerde malign mezotelyoma insidansı yaklaşık 20/ milyon/yıl oranındadır. Kuzey Amerika'da 1990'ların başı itibariyle artan bu insidansın düşüşü beklenmektedir. Kuzey Amerika'da erkek/ kadın oranı 9/1 iken, diğer ülkelerde bu oran düşüktür. Avusturalya, Fransa ve İngiltere'de ise malign mezotelyoma insidansının daha yüksek olduğu ve bu oranın artmaya devam ettiği bilinmektedir (14). Türkiye'de insidans ile ilgili kesin bir bilgi vermek mümkün değildir. Ancak yapılan çalışmalarda, insidansın milyonda 43 ile 50 arasında olduğu, Kapadokya'daki erionit köylerinde ise bu oranın milyonda 996'ya çıktığı belirtilmektedir (3).

2.3.2. Etiyoloji ve Patogenez

Malign mezotelyomalı hastaların yaklaşık % 70-80'inde asbest maruziyeti öyküsü bulunmaktadır (16). Latent periodu 30-40 yıldır. Asbestin malign plevral mezotelyoma gelişiminde direkt ve indirekt etkileri söz konusudur. Asbest, sitokinler ve aktive makrofajlar tarafından yönetilen kronik bir inflamasyon ve fibrozis ile sonuçlanan bir reaksiyona neden olur (17). C-cis (Platelet kökenli büyüme faktörünün beta zinciri) gibi protoonkogenlerin fibrotik akciğer içindeki alveoler makrofajlarda yoğun olarak eksprese edildiği izlenir. Bu da mezotel hücrelerinin aşırı proliferasyonuna neden olur. Asbest mezotelyal hücrelerde mutasyonları uyarır. C-fos ve c-jun gibi protoonkogenlerin ekspresyonunu arttırır. Plevrada fibril birikimi sonucu hasar oluşur. Uzun fibriller parietal plevranın derinine yerleşirler ve büyük oranda plevral mezotelyomanın nedeni olurlar. Asbest mitotik siklusu da etkileyerek anöploidi ve DNA hasarına neden olur. Ayrıca, asbest serbest oksijen radikallerinin oluşmasına neden olur. Serbest oksijen radikalleri asbest fibrillerinin demir içeriğinin

katalizatörlüğü ya da fibril yüzeyindeki ek reaksiyonlar ile oluşur. Asbest fibrillerini fagosite etmiş makrofajlardan salınan serbest oksijen radikalleri ve lenfokinler DNA hasarına ve immün sistem baskılanmasına neden olur (18).

Asbest tek bir mineral olmayıp fibröz hidroksi silikat ailesine verilen isimdir, biyolojik özellikleri ve boyutlarına göre esas olarak 2 ana grupta incelenmektedir:

1-Serpentin grubu (“chrysotile”= beyaz asbest)

2-Amphibole (“crocidolite”= mavi asbest, “amosite”) grubu

Endüstride kullanılmasına izin verilen asbest türü serpentin grubudur. Serpentin grubu asbest fibrilleri asbetozisde % 95 oranında görülür, kolay parçalanır ve vücuttan hızlı temizlenir. Amfibol grubu fibriller ise % 5 oranında görülür. Bunlar uzun, ince fibrillerdir. Vücutta daha uzun süre kalırlar ve karsinojenik potansiyelleri daha fazladır.

Türkiye'de ise sorun esas olarak çevresel olup, Orta ve Güneydoğu Anadolu'da önemli bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır. Türkiye'de ayrıca Kapadokya bölgesinde 3 köyde (Tuzköy, Karain ve Sarıhıdır köylerinde) asbest dışı bir mineralin malign plevral mezotelyoma epidemisine yol açtığı bulunmuştur. Bu mineral fibröz "zeolite" (erionit) olarak adlandırılmaktadır. Erionit en güçlü karsinojen olarak kabul edilmekte olup, bu köylerde evlerin yapıldığı tüf kayaları ile evlerin dayanığı ve kiler olarak kullanılan mağaraların duvarlarında bulunmuştur. Patogenezi asbeste benzer, onkogen aktivitesini arttırır, erioniti fagosite etmiş makrofajlardan serbest oksijen radikalleri salınır (3, 4).

Radyasyon sonrası malign plevral mezotelyoma gelişimi çok nadir olarak gözlenmiş, şu ana dek meme kanseri, Hodgkin hastalığı, Wilm’s tümörü ve seminomda alınan radyoterapiler sonrası malign plevral mezotelyoma olgularının görüldüğü bildirilmiştir. Radyoterapinin etkisinin multifaktöriyel olduğu düşünülmektedir (18).

Sitogenetik çalışmalar ile 1p, 3p, 6q, 9p, 22q delesyonları yüksek oranda saptanmıştır. Latent Simian Virus (SV 40) enfeksiyonu ile oluşan p53 mutasyonunun da mezotelyoma ile ilişkili olduğu bilinmektedir (14).

Malign plevral mezotelyomada tümör supresör genlerin (p53, Rb) inaktivasyonu saptanmıştır. SV40 telomeraz'ı aktive eder. Telomeraz neoplastik hücrelerin apoptozunu önler (18).

2.3.3. Makroskopik Bulgular

Mezotelyomada plevra kalınlaşır ve sert, gri-beyaz renk alır. Erken evrelerde, mezotelyoma parietal, bazen de visseral plevrada çok sayıda küçük nodüller olarak görülür. İleri dönemlerde nodüller birleşir, visseral ve pariyetal plevra yapışarak akciğerde çekilmelere neden olur. Tümör yoğunluğu jelatinöz ve solid arasında olup, kalınlığı birkaç santimetreye ulaşabilir. Tümör içinde loküle sıvı koleksiyonları olabilir. İnterlober fissürler boyunca, akciğer loblarına, diafragma, toraks duvarı, mediasten ve perikarda yayılır. Mezotelyoma, pulmoner parankime, hiler ve mediastinal lenf nodlarına metastaz yapabilir (14, 19).

2.3.4. Diffüz Malign Mezotelyoma Histolojik Alt Tipleri

DfMM'nin epiteloid, sarkomatoid, dezmoplastik, bifazik (mikst) olmak üzere dört temel histolojik tipi bulunmaktadır (14). Ancak bu dört histolojik tip içerisinde oldukça çeşitli histolojik patternler yer alır. Bu histolojik patternler klinik açıdan önem taşımazlar. Bu nedenle klinik ve tedavi açısından bu histolojik patternleri birbirinden ayırt etmenin bir önemi olmamasına karşın, patolog tarafından bu patternlerin bilinmesi DfMM ile diğer neoplazileri birbirinden ayırt edebilmek için önemlidir (15).

2.3.4.1. Epiteloid Diffüz Malign Mezotelyoma

DfMM'nin yaklaşık % 50 gibi bir oranla en sık görülen histolojik tipidir (5). Epiteloid sitolojik özellikler gösterir. EDfMM'lerin büyük kısmı reaktif mezotel hücrelerine benzer iyi diferansiye hücrelerden oluşur, ancak anaplastik ya da pleomorfik formlar da görülür (14). Birçok EDfMM dikkat çeker bir sitolojik atipi göstermeyen, belirgin nükleollü, veziküler nükleuslu, eozinofilik sitoplazmalı ve seyrek mitoz bulunduran tümör hücrelerinden oluşur. Az diferansiye formlarında belirgin nükleollü, kaba kromatinli nükleuslara sahip, sık mitoz içeren, yer yer multinükleer dev hücre de bulunduran tümör hücreleri izlenebilir (15).

Epiteloid mezotelyomanın çeşitli histolojik tiplerinin en yaygın olanları, sitolojik olarak mezotelyal hücreleri andıran iyi differansiye hücrelerden oluşan tübülopapiller, adenomatoid (mikroglandüler) ve solid iyi diferansiye ve asiner (glandüler) tipleridir. Daha az görülen şeffaf, desiduoid ve küçük hücre tipleridir. Birkaç farklı morfolojik tip aynı tümör içinde görülebilir veya tek tip baskındır (20).

a- Tübülopapiller Varyant: Tübülopapiller tip, en yaygın histolojik tiplerinden biridir. Plevraya metastaz yapmış pimer akciğer adenokarsinomundan ayırt edilmesi gerekir. Genellikle uniform, yassı, küboidal veya poligonal hücreler ile döşeli trabekül, yarık, fibrovasküler merkezlere sahip papiller yapılar ve tübüllerin karışımından oluşur. Psammom cisimcikleri % 5-10 oranında gözlenir (14, 20).

b- Adenomatoid (Mikroglandüler) Varyant: İnce yassı-küboid hücreler, salgı bezi benzeri küçük yapılar oluştururlar. Genelikle diğer tiplerle birlikte görülür (14, 15, 20).

c- Solid İyi-Diferansiye Varyant: Neoplastik hücreler, kümeler, şeritler veya tabakalar halinde oluşur ve reaktif mezotelyal hücrelerini çok andırır. Belirgin çekirdekçiği olan yuvarlak, veziküler çekirdekleri ve yoğun bir sitoplazması olan hücrelerdir. Mitoz genelde belirgin değildir (14, 15, 20).

d- Solid Az-Diferansiye Varyant: Uniform nükleuslara sahip ve çoğunlukla tekdüze tabakalar halinde dizilmiş, poligonal-yuvarlak hücrelerden oluşur. Lenfoma ve büyük hücreli karsinoma ile ayırıcı tanısının yapılması gerekir (14, 15, 20).

e- Asiner (Glandüler) Varyant: Asiner ya da salgı bezi benzeri yapılarla karakterizedir. Lümenler uzayabilir veya dallanabilir ve genelde tek tip olan kümeleşmiş küboidal hücrelerle çevrelenir (14, 15, 20).

f- Şeffaf Hücreli Varyant: Şeffaf sitoplazmaya sahip tümör hücreleriyle karakterizedir. Renal hücreli karsinom, akciğerin şeffaf hücreli karsinomları, şeffaf hücreli melanom gibi diğer şeffaf hücreli neoplazmalardan ayırt edilmesi gerekir (14, 15, 20).

g-Desiduoid Varyant: İlk önceleri, kız çocuklar ve genç kadınlarda ortaya çıkan iyi prognozlu peritoneal bir tümör olarak tanımlanan desiduoid mezotelyoma, daha yaşlı erkek ve kadınlarda plevrada da tanımlanmıştır. Günümüzde prognostik bir öneme sahip olmadığı düşünülmektedir. Keskin sınırları, yoğun camsı eozinofilik sitoplazması ve belirgin nükleoluslu yuvarlak veziküler çekirdekleri olan büyük, yuvarlak-poligonal hücre proliferasyonuyla karakterizedir ve desidual reaksiyonu anımsatır. Mitoz sık görülmez (14, 15, 20).

h- Adenoid Kistik Varyant: Kribriform ve tübüler yapılar, değişken sayıda kronik inflamatuar hücre içeren fibröz bir stomayla ayrılır (14, 15, 20).

i- Taşlı Yüzük (Lipidden Zengin) Varyant : Tümör hücreleri kümeler ya da tabakalar halinde bulunur ve sitoplazmik vakuoller içerirler (14, 15, 20).

j- Küçük Hücreli Varyant: Tümör hücreleri yuvarlak nükleusları olan ve nükleus/sitoplazma oranı yüksek, uniform küçük, yuvarlak hücrelerdir. Bunlar, primer olan ya da plevraya metastaz yapmış diğer küçük hücreli karsinomlardan ayırt edilmelidir (14, 15, 20).

2.3.4.2. Sarkomatoid Diffüz Malign Mezotelyoma

SDfMM yaklaşık % 10-15 gibi bir oranda görülen DfMM'dir. Fibrosarkoma benzer şekilde iğsi hücrelerin demetler oluşturması ya da diffüz bir pattern göstermesi ile karakterizedir. Bazı SDfMM'ler malign fibröz histiositomaya benzer şekilde anaplastik hücreler veya dev hücreler içerebilirler. EDfMM'ye göre daha fazla mitoz, nekroz ve sitolojik atipi içerirler(14, 15). Olguların küçük bir oranında osteosarkom, kondrosarkom ve diğer sarkomlara benzeyen alanlar bulunabilir. Bu olgular plevraya metastaz yapan osteosarkom ve kondrosarkomlardan ayırt edilmelidir (20).

2.3.4.3. Dezmoplastik Malign Mezotelyoma

Tüm malign mezotelyomaların yaklaşık % 5'ini oluşturmaktadır (21). DzDfMM, SDfMM klasifikasyonu içinde de yer almasına karşın WHO 2004 klasifikasyonunda ayrı bir grup olarak ele alınmıştır (15, 20). DzDfMM, storiform ya da "patterni olmayan pattern" şeklinde organizasyon gösteren, atipik hücrelerle birbirinden ayrılan ve tümörün en az % 50'sini oluşturan yoğun kollajen demetleri ile karakterizedir (14, 20).

2.3.4.4.Bifazik (Mikst) Diffüz Malign Mezotelyoma

Mezotelyomalar % 30 oranında hem epiteloid, hem de sarkomatoid tipleri birlikte içerir. Tümörü bifazik olarak adlandırmak için her bir tipin tümörün en az % 10'unu oluşturması gerekir. Bifazik olarak sınıflandırılan tümörlerin görülme yüzdesi iyi tümör örneklemesi ile artar (14, 20).

2.4. LOKALİZE MALİGN MEZOTELYOMA

LMM, makroskopik olarak lokalize nodüler bir lezyon gibi görünen, diffüz plevral yayılım göstermeyen, DfMM'nin immünhistokimyasal ve ultrastrüktürel özelliklerini gösteren nadir bir tümördür (14, 22).

2.5. MEZOTELYAL KÖKENLİ DİĞER TÜMÖRLER

2.5.1. İyi Diferansiye Papiller Mezotelyoma

Papiller yapılar, benign görünümlü sitolojik özellikler ve invazyon göstermeksizin yüzeye doğru yayılım gösteren bir MM tipidir. Pelvik peritonda daha sık görülür (14).

Mikroskopik olarak plevral yüzeye doğru çıkıntılar yapan, tek sıralı basıklaşmış kübik veya kolumnar epitel ile döşeli papiller yapılar ile karakterizedir. Nükleol ve mitoz genellikle izlenmez (15).

2.5.2. Adenomatoid Tümör

Tipik olarak genital sistemde rastlantısal bir bulgu olarak saptanır. Plevrada nadir olarak görülür. Mikroskopik olarak genellikle belirgin sitoplazmik vakuolizasyonun eşlik ettiği, eozinofilik sitoplazmalı, basıklaşmış-kübik mezotel hücreleri ile döşeli gland ve tübül yapılarından oluşur (23).

2.6. DİFFÜZ MALİGN MEZOTELYOMADA HİSTOKİMYASAL VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLER

2.6.1. Histokimyasal Özellikler

Mezotelyomalarda alsiyan mavisi veya kolloidal demir boyası ile gösterilebilen hiyaluronik asit üretimi vardır. Bu materyal müsikarmen ile boyanma göstermez. İntrasitoplazmik musikarmen veya PAS pozitifliği sık olmamakla birlikte görülebilir. Glikojen genellikle yoktur (24).(Tablo 2)

Tablo 2. Malign Mezotelyoma ve Akciğer Adenokarsinomunun Histokimyasal Özellikleri

Histokimyasal Boya	**Malign Mezotelyoma**	**Akciğer Adenokarsinomu**
PAS	+	+
Diastazlı PAS	-	+
Alsian Mavisi	+	+
Alsian Mavisi+Hyalürinidaz	-	+
Müsikarmen	+/-	+

2.6.2. İmmünhistokimyasal Özellikler

MM ile ilgili immünhistokimyasal çalışmalar daha çok EDfMM ile pulmoner adenokarsinomun ayrımında kullanılabilecek immünhistokimyasal belirleyiciler üzerine odaklanmıştır (15). Günümüzde MM için ortaya konmuş spesifik bir immünhistokimyasal belirleyici bulunmamaktadır. Bu nedenle özellikle EDfMM ile pulmoner adenokarsinomun ayrımı için kullanılacak immünhistokimya paneli, MM'nin boyanma gösterdiği "pozitif" belirleyiciler ile, boyanma göstermediği "negatif" belirleyicilerin her ikisini de içermelidir. Böylelikle "iki pozitif" ve "iki negatif" olmak üzere dört belirleyici içeren bir immünhistokimya panelinin EDfMM

ile pulmoner adenokarsinomu ayırmada yeterli olacağı düşünülmektedir (25, 5). EDfMM' de: kalretinin, sitokeratin 5/6 ve mezotelin ile % 100 oranında boyanma izlenirken; WT1 ve EMA ile % 93 ve HBME1 ile % 85 oranında pozitiflik bildirilmektedir (5). Kalretinin, "pozitif" mezotelyoma belirleyicileri arasında en iyi ve MM tanısında en sık kullanılan belirleyicilerden birisidir. Kalretinin, EDfMM'lerde genellikle kuvvetli ve diffüz bir boyanma gösterir. Bir tümörde bu antikor ile boyanmanın olmaması bu tümörün büyük bir olasılıkla mezotelyal diferansiyasyon göstermediği anlamına gelmektedir. EDfMM'ler EMA ile genellikle membranöz boyanma göstermelerine karşın adenokarsinomlar ile çakışan boyanma patternleri sergilemelerinden dolayı bu durum EMA antikorunun MM ayırıcı tanısındaki değerini azaltmaktadır. EDfMM'lerde yaygın ve kuvvetli mezotelin ekspresyonu, bu belirleyici ile boyanmanın izlenmediği durumlarda, tanının EDfMM olmadığını kuvvetle düşündürmelidir. HBME1 monoklonal antikoru membranöz boyanma patterni göstermektedir. Adenokarsinomlarda ise bu belirleyici ile boyanma patterninin genellikle sitoplazmik olduğu bildirilmiştir. EMA için ileri sürülen boyanma patternleri ile ilgili dezavantajlardan dolayı mezotelinin de EDfMM tanısındaki değeri kısıtlıdır (25). EDfMM'nin Ber-EP4 ile % 18, MOC-31 ile % 8 ve BG-8 (Lewis^{y}) ile % 7 oranında pozitiflik gösterdiği izlenirken, CEA, B72.3 (TAG-72), CD15, TTF1 ve CA19-9 ile reaktivite saptanmamıştır (25). Belirleyicilerin sensitivite ve spesifisiteleri göz önünde bulundurulduğunda; kalretinin, sitokeratin 5/6 ve WT1 en iyi "pozitif" mezotelyoma belirleyicileri ve CEA, MOC-31, Ber-EP4, BG-8 ve B72.3 ise en iyi "negatif" mezotelyoma belirleyicileri olarak kabul edilebilirler (15, 25). Ancak akciğer dışı adenokarsinomlarda bu belirleyicilerden bazılarının ekspresyonunda farklılıkların olduğu akılda tutulmalıdır. SDfMM'ler tipik olarak geniş spektrumlu sitokeratinlerle boyanma gösterirler ancak bazı olgularda sitokeratinlerle boyanma izlenmeyebilir. Ayrıca SDfMM'ler vimentin, aktin, desmin veya S-100 ile pozitiflik gösterebilirler. Bazı SDfMM olgularının kalretinin ile reaktivite gösterdiği bildirilmiştir (14).

2.7. DİFFÜZ MALİGN MEZOTELYOMADA AYIRICI TANI

Malign plevral mezotelyomanın ayırıcı tanısı dört grupta ele alınabilir:

1. Benign (reaktif) mezotel proliferasyonları ile malign mezotelyal proliferasyonlar
2. Epiteloid malign plevral mezotelyoma ile öncelikle akciğer adenokarsinomu olmak üzere metastatik diğer adenokarsinomlar
3. Sarkomatoid malign plevral mezotelyoma ile plevral fibrozis
4. Sarkomatoid malign plevral mezotelyoma ile diğer mezenşimal tümörler

2.7.1. Benign (Reaktif) Mezotel Proliferasyonları ile Malign Mezotel Proliferasyonları Arasındaki Ayrım

Mezotelyal kökenli bir lezyonu incelerken, olgunun klinik ve radyolojik özellikleri özellikle plevranın torakotomi veya torakoskopideki görünümü de dahil olmak üzere bir bütün içerisinde değerlendirilmesi gerekir. Cerrah tarafından multipl tümör nodülü veya diffüz tümör varlığı gibi plevra üzerinde saptanan lezyonlar patolojik olayın büyük bir olasılıkla malign olduğunu gösterir. Buna karşın tümör nodülü veya tümör benzeri plevral kalınlaşmanın görülmemesi maligniteden uzaklaştırır. Bu tür bir durumda histopatolojik olarak MM tanısından kaçınılmalıdır. Ayrıca bazı asbestoz çeşitlerine maruz kalma ile daha sonrasında gelişen MM arasında kuvvetli bir ilişki bulunduğunun gösterilmiş olmasına karşın MM'nin asbestoz maruziyeti bulunmayan kişilerde de ortaya çıkabildiği ve plevral plak, diffüz fibrozis, efüzyon ve yuvarlak atelektazi gibi benign plevral reaksiyonlarda asbestoz maruziyetinin MM'ye göre daha sık görüldüğü bildirilmiştir (26, 27).

Reaktif mezotelyal proliferasyonlarla malign plevral mezotelyoma ayrımında bazı önemli noktalar vardır:

İnvazyon: Bir mezotel hücre proliferasyonunda en güvenilir malignite kriteri stromal invazyondur. Bu nedenle bir mezotel hücre proliferasyonu göğüs duvarının fibrolipomatö dokusu veya kas tabakası veya akciğer parankimine infiltre ise malign olarak değerlendirilmelidir. Plevral stromal invazyonun malignite kriteri olarak güvenilirliği plevral invazyonun derinliği ve artan derinliklerde mezotel hücre infiltrasyonunun dağılımı ile değişkenlik gösterir. Bir MM olgusunda genellikle mezotel hücre proliferasyonunun plevral yüzeyden yağ dokusuna kadar tüm plevral kalınlık boyunca görülmesi beklenir. Epitelyal veya iğsi tip mezotel hücrelerinden oluşan organize efüzyonlar plevral yüzeye doğru artan selülarite ile karakterize "ters zonasyon" şeklinde tanımlanabilecek tipik bir bulgu gösterirler.

Non-neoplastik mezotel hücre kalıntıları: EDfMM ile benign reaksiyonların (reaktif epitelyal mezotel proliferasyonların) ayrımındaki en önemli nokta gerçek stromal invazyonun, invazyonu taklit eden inflamatuar reaksiyon sonucu geride kalan mezotel hücrelerinden ayırt edilmesidir. Mezotel hücre kalıntıları aktif fibrin birikimi ve buna eşlik eden inflamatuar hücre reaksiyonunun olduğu alana sınırlı ve derin invazyonu düşündürecek bir bulgu gözlenmiyor ise bu olay benign olarak değerlendirilir. İnflamasyonlu plevra üst üste biriken fibrin çöküntüsü ve daha önce var olan mezotelyal yüzeyin üzerine efüzyon organizasyonu sonucu hızlı tabakalanma ile iyileşerek fibrinöz, organize veya fibrotik plevrit halini almadan önceki plevral yüzey içerisinde sıkışıp kalan benign reaktif mezotel hücreleri stromal invazyon izlenimi verirler. İnflamasyonla birlikte fibrin ve/veya fibröz bağ dokusu plevral yüzeye doğru yayıldıkça plevral yüzey içerisinde sıkışıp kalan mezotel hücreleri lineer bir dizilim oluştururlar (27). İmmünhistokimyasal olarak sitokeratin boyası mezotel hücrelerinin lineer diziliminin net olarak ortaya konmasında yardımcı olur. Karsinomlar ve EDfMM'lerde plevritte görülen lineer dizilim patterni izlenmez (27, 28).

Sadece plevral yüzeyde bulunan epitelyal proliferasyonlar: Plevranın normal mezotelyal döşenmesi basıklaşmış, belirgin olmayan hücrelerden oluşur. Plevral yüzeyin iritasyonu mezotelyal döşenmenin basit hiperplazisine neden olur. Basit hiperplazide izlenen mezotel hücreleri plevral yüzey boyunca düzgün bir dizilim gösteren, daha belirgin tabakalar şeklindeki benign görünümlü kübik hücrelerden

meydana gelirler. “Atipik mezotel hiperplazisi” ise plevral yüzey boyunca değişken derecelerde sitolojik atipi içeren tek sıralı hücrelerden oluşabileceği gibi birkaç sıralı hücrelerden de meydana gelebilir. Bu tür proliferasyonlara inflamasyon eşlik edebilir veya etmeyebilir, ancak papiller yapılar izlenmez. Yüzey mezotel hücreleri benign olsalar da özellikle inflamasyon varlığında belirgin sitolojik atipi gösterebilirler. İnvazyon gözlenmediği taktirde, sadece plevral yüzey proliferasyonundan oluşan bir lezyon malign olarak değerlendirilmemelidir (27).

Sitolojik özellikler: Epitelyal mezotel proliferasyonları bir lezyonun mezotelyal olduğunun ortaya konulmasına yardımcı olan birçok karakteristik sitolojik pattern göstermelerine karşın bu patternler benign mezotelyal lezyonların malign olanlardan ayrılmasına genellikle yardımcı olmazlar. Basıklaşmış-kübik hücrelerle döşeli dallanma gösteren glandlar öncelikle mezotel proliferasyonlarını düşündürürler. Kolumnar hücreler mezotel proliferasyonlarında daha az sıklıkta görülürler ve “gland içinde gland” patterni daha çok karsinomu akla getirir. Malign mezotel hücreleri genellikle büyüktür ve büyük nükleoller içerirler. MM tanısında sitolojik atipi malignite açısından güvenilir bir histolojik kriter değildir. EDfMM’lerin büyük bir kısmı monoton bir görünüm sergilerler ve bazen reaktif olaylarda izlenen mezotel hücrelerine benzer morfoloji gösterirler. Mitozlar atipik görünümlü olmadıkları sürece tanıda yardımcı olmazlar, çünkü MM’lerde nadir mitotik aktiviteye rastlanırken benign reaksiyonlarda daha sık mitoz izlenebilmektedir.

Nekroz: Epitelyal mezotel proliferasyonlarında nekroz genellikle maligniteyi düşündüren bir bulgudur, ancak bazı benign mezotel proliferasyonlarında nekroz izlenebilmektedir. Özellikle tüberküloz gibi infeksiyonlarda nekroz gözlenmektedir (27).

İmmünhistokimya: Benign mezotel proliferasyonlarının malign olanlardan ayırt edilmesini mümkün kılan bir immünhistokimyasal belirleyici bulunmamaktadır. Keratin boyanması, prolifere mezotel hücrelerinin dağılımının ve bir anlamda invazyonun değerlendirilmesinde yararlı olur. Epitelyal mezotel proliferasyonlarında EMA pozitifliğinin malignite bulgusu olduğu ileri sürülmüştür. Birçok EDfMM’nin

EMA ile kuvvetli membranöz pozitiflik gösterdiği doğru olmasına karşın, bu belirleyici ile reaktif epitelyal mezotel proliferasyonlarında da zayıf membranöz boyanma görülebilir, hatta bazı olgularda kuvvetli boyanma bile izlenebilmektedir. Bunun aksine tüm MM'ler de EMA ile pozitiflik göstermemektedir.

Literatürde mezotelyal lezyonlarda p53 boyanmasının malignite bulgusu olduğu ileri sürülmektedir. Malign mezotel proliferasyonlarında p53 boyanmasına daha sık rastlanıldığı bildirilmiş olmasına karşın malign lezyonlar her zaman p53 ile boyanma göstermemektedir. Ayrıca benign reaksiyonların da p53 ile pozitiflik gösterdikleri ortaya konmuştur (26, 29). Desmin antikorunun reaktif mezotelyal hiperplazide yüksek oranda ve kuvvetli, neoplastik mezotelde ise düşük oranda ekspresyon gösterdiği bildirilmiştir. Bcl-2 antikorunun mezotel neoplazisi için düşük sensitivite ancak yüksek spesifisite gösterdiği belirtilmiştir (28, 29).

2.7.2. Epiteloid Malign Plevral Mezotelyoma ile Öncelikle Akciğer Adenokarsinomu Olmak Üzere Metastatik Diğer Adenokarsinomların Ayırıcı Tanısı

Plevranın en sık görülen primer tümörü DfMM'dir. Ancak metastatik tümörler plevranın en sık karşılaşılan tümörleridir. Plevraya en sık metastaz yapan tümörler akciğer, meme karsinomları, lenfoma, gastrointestinal sistem ve genitoüriner sistem karsinomlarıdır. Plevraya en sık metastaz yapan karsinom tipi ise adenokarsinomdur (15). EDfMM ile pulmoner adenokarsinomun ayrımı için kullanılacak immünhistokimyasal panel, MM' de boyanma gösteren "pozitif" belirleyiciler ile boyanma göstermeyen "negatif" belirleyicileri içermelidir. Belirleyicilerin sensitivite ve spesifisiteleri göz önünde bulundurulduğunda, kalretinin, sitokeratin 5/6 ve WT1 en iyi "pozitif mezotelyoma belirleyicileri" ve CEA, MOC-31, Ber-EP4, BG-8 ve B72.3 ise en iyi "negatif mezotelyoma belirleyicileri" olarak kabul edilebilirler.

2.7.3. Dezmoplastik Malign Plevral Mezotelyoma ile Plevral Fibrozis Ayırıcı Tanısı:

Fibröz plörezi ve DzDfMM'de gözlenen kalınlaşmış plevranın asıl olarak yoğun fibröz dokudan oluşması nedeniyle, her iki lezyonun da her ne kadar daha selüler alanlar içerseler de hiposelüler görünüm sergilemesi nedeniyle birbirlerinden ayrımı güçtür.

İnvazyon: DzDfMM'nin iğsi hücrelerinin komşu yapılara invazyonunun gösterilmesi en güvenilir malignite kriterlerinden birisidir. DzDfMM'de yağ dokusuna invazyon gösteren iğsi hücreler yüksek ve düşük moleküler ağırlıklı sitokeratinlerle pozitiflik gösterirler. Fibröz plörezi olgularının birçoğunda ise kollajen demetler yağ dokusuna kadar ulaşmazlar.

Kollajen nekroz: "Sakin *(bland)* nekroz" olarak tanımlanan bulgu iyi sınırlı alanlarda nükleer fragmantasyon ve karyoreksi veya nükleusun tamamen ortadan kalkması ile ortaya çıkan eozin boyasının daha açık renkte gözükmesi gibi hematoksilen-eozin boyaması ile izlenen hafif morfolojik değişiklikleri yansıtmaktadır. Ancak zemindeki doku patterni intakt olarak izlenir ve inflamasyon içermez.

Aşikar sarkomatöz odaklar: Hiposelüler kalınlaşmış ve fibrotik bir plevrada aşikar sarkomatöz alanların saptanması DzDfMM tanısı için güvenilir bir bulgudur. Fibröz plörezi tipik olarak plevral yüzeye doğru artan selülarite olarak tanımlanan "ters zonasyon" bulgusu gösterir; efüzyona yakın alanlar daha selüler olarak izlenir ve selülarite plevral yüzeyden uzaklaşıldıkça azalır. Bu durumun aksine DzDfMM'de görülen sarkomatöz odaklar göğüs duvarının yağ dokusuna yakın yerleşim gösterirler veya bir kesitin tüm kalınlığı boyunca gelişigüzel dağılım gösterirler.

Uzak metastaz: Uzak metastaz varlığı kesin malignite kriteridir (15).

2.7.4. Sarkomatoid Malign Plevral Mezotelyoma ile Diğer Mezenşimal Tümörler Arasındaki Ayırım:

Plevrada primer olarak görülen ve sarkomatoid mezotelyomaya benzer bir büyüme patterni gösteren tümörler arasında monofazik sinovyal sarkom, anjiosarkom, iğsi hücreli timoma, leiomyosarkom, malign soliter fibröz tümör ve akciğerin sarkomatoid karsinomu yer alır. Bu tümörlerin büyük kısmının immünhistokimyasal olarak bile sarkomatoid mezotelyomadan ayırıcı tanı güçlüğü bulunmaktadır. Örneğin monofazik sinovyal sarkom ve iğsi hücreli timoma keratin, CK5/6 ve kalretinin pozitifliği gösterir. Plevrada iğsi hücreli bir tümör görüldüğünde sarkomatoid mezotelyoma tanısı konmadan önce plevranın diğer primer ya da metastatik iğsi hücreli sarkomlarının ya da akciğerin sarkomatoid karsinomunun dışlanması gerekmektedir. Keratin negatif bir tümörde gerçek bir sarkom ve sarkomatoid mezotelyoma ayırıcı tanısını yapmak daha kolayken; keratin pozitifliği sadece soliter fibröz tümörü ekarte etmekte yardımcı olabilir. Bunlardan da anlaşılacağı üzere mezotelyomaya ait immünhistokimyasal panelin sarkomatoid malign mezotelyoma tanısında yeri çok sınırlıdır. Bu tanı için klinik hikaye, asbest maruziyeti öyküsü, radyolojik veriler gibi ipuçlarına ihtiyaç vardır (6).

2.8. ÇALIŞMADA KULLANILAN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER

2.8.1. Kalretinin

S-100 proteinin de ait olduğu kalsiyum bağlayan proteinler ailesinin bir üyesi olan kalretinin 29 kDa'luk bir proteindir. Merkezi ve periferal sinir dokularında özelikle retinada ve duyu yollarının nöronlarında yoğun olarak sentezlenmektedir (6, 30). Kalretinin mezotelyoma teşhisinde immunohistokimyasal bir belirleyici olarak yararlı olduğunu gösteren ilk çalışmalar 1996'da Doglioni ve Gotzos tarafından ayrı ayrı yayınlanmıştır (31). Günümüzde, kalretinin, pozitif mezotelyoma belirleyicilerinin en özgül ve en duyarlı olanlardan biri olarak görülmektedir (30). Epiteloid mezotelyomada sentezlenen ama sarkomatoid mezotelyomada

sentezlenmeyen mezotelin, D2–40, podoplanin ve keratin 5/6 gibi diğer yüksek düzeyde sensitif mezotelyoma işaretleyicilerinin aksine kalretinin, mezotelyomanın tüm histolojik tiplerinde sıkça sentezlendiği iddia edilmektedir (30). Bu konudaki serilerde sarkomatoid mezotelyomada kalretininin pozitifliğinin % 39 ile % 70' oranında olduğu bildirilmiştir. Epiteloid mezotelyomada kalretinin boyanma şekli tipik olarak güçlü ve diffüzdür. Hem nükleus hem de sitoplazmada boyanma gözlenir. Bunun aksine primer akciğer adenokarsinomalarındaki boyanma genelde küçük odaklar şeklindedir. Bununla birlikte, nadir durumlarda primer akciğer adenokarsinomalarında diffüz boyanma oluşabilir (6, 30). Ek olarak, farklı karsinom tipleri arasında kalretinin sentezi yönünden farklılıklar vardır. Son araştırmalarda kalretinin pozitiflik yüzdesi, akciğer karsinomlarında % 6–10, seröz karsinomlarda % 31–38 ve renal hücre karsinomlarında % 0–4 arasında değişmektedir. Akciğerin skuamöz hücreli karsinomlarında da % 23-39 oranında bu belirleyiciyi izlenmektedir (6, 30, 32, 33). Bunlar dışında kalretinin pozitifliği monofazik sinovyal sarkoma, epiteloid sarkoma, metastatik malign melanoma, overin seks kord stromal tümörleri, timoma, timik karsinoma, iğsi hücreli sarkom, sarkomatoid karsinom gibi malignitelerde de görülebilir (34, 35).

2.8.2. Sitokeratin 5/6 (CK5/6)

CK 5 başlıca keratinize ve non-keratinize skuamöz epitel, prostatın bazal hücreleri, tükrük bezi ve memede sentezlenen intrasitoplazmik özellikte bir ara filamenttir (6, 30). İlk olarak Blobel ve arkadaşları 1985'de CK 5'in epiteloid mezotelyomada pozitiflik gösterirken, pulmoner karsinomlarda negatif olduğunu yayınlamışlardır. Bu yayını Moll ve arkadaşlarının frozen dokularda yaptığı daha büyük bir çalışma takip etmiştir. Clover ve arkadaşlarının yaptığı, malign plevral mezotelyoma ve akciğer adenokarsinomlarını kapsayan bir çalışmada ise ilk olarak sitokeratin 5 ve 6 kokteyl monoklonal antikoru geliştirilmiştir (6). Literatürde bu belirleyiciyi kullanılarak yapılan çalışmalarda, CK5/6 ifade yüzdesi, epiteloid mezotelyomalarda % 64–100, akciğer adenokarsinomalarında % 0–19 olarak belirtilmiştir (25). Yaygın kuvvetli CK5/6 pozitifliği diffüz peritoneal malign

mezotelyomalarda % 100 oranında bildirilirken, tunika vajinalisten köken alan mezotelyomalarda bu oran % 72'ye inmektedir (6). Sarkomatoid mezotelyomalarda ise yaklaşık 1/3 oranında CK5/6 pozitifliği izlenmektedir (34, 36). Primer akciğer adenokarsinomlarında CK5/6 pozitifliği yaygın değildir ve olduğunda da genelde tümörün fokal bir alanında ya da birkaç izole hücrede gözlenir (25). Bu bulgunun muhtemelen, akciğer adenokarsinomalarında oluştuğu bilinen skuamoz bir farklılaşmanın varlığına bağlı olduğu yorumu yapılmıştır (37). Chu ve Weiss'ın değişik organlara ait 509 karsinom olgusunu dahil ettiği bir çalışmada CK5/6 'nın skuamöz hücreli karsinom, bazal hücreli karsinom, timoma, tükrük bezi karsinomu, ürotelyal karsinomların % 62'si, endometrial karsinomların % 50'sinde, pankreatik adenokarsinomların % 33'ü, meme karsinomlarının % 31'i, overin seröz karsinomlarının % 25'inde pozitiflik gösterdiği bildirilmiştir (36). CK5/6'nın özellikle malign mezotelyoma-pulmoner adenokarsinom ayırıcı tanısında yararlı olduğunu, akciğer dışı adenokarsinomlarda değerlendirirken dikkatli olunması gerektiği vurgulanmıştır.

2.8.3. D2-40

D2–40, yeni geliştirilmiş olan ve fetal germ (kök) hücrelerinde ve germ hücre tümörlerindeki 40-kd antijeni (onkofetal M2A antijeni) ile tepkimeye giren monoklonal bir antikordur (38). Bu antikorun tanıdığı antijen, seçici olarak lenfatik endotelde sentezlendiği için, hem lenfatik kaynaklı tümörlerin teşhisinde hem de tümörlerin lenfatik invazyonunun belirlenmesinde yararlı olduğu gösterilmiştir (39, 40). Son araştırmalar, antikorun epiteloid mezotelyomalarda da sentezlenmesinden dolayı primer akciğer adenokarsinomları ve malign mezotelyoma arasında ayırım yapmada yararlı olabileceğini göstermiştir (41, 42, 43). Chu ve arkadaşları 2005 yılında, D2-40'ın bir mezotelyoma belirleyicisi olarak önemini araştırmışlardır. Bu çalışmada, 16 bifazik mezotelyomanın 15'inin epiteloid bileşenlerinde (% 94) ve 33 epiteloid mezotelyomanın 33'ünde (% 100) güçlü membranöz reaktivite rapor edilmiştir (41). Ordonez 2005 yılında yaptığı çalışmada D2-40'ın epiteloid mezotelyomada % 86 oranında pozitiflik gösterdiğini, ancak çalışmada yer alan 6

sarkomatoid mezotelyoma olgusunda ve çalışmaya dahil edilen diğer adenokarsinom olgularında boyanma bulunmadığını, dolayısıyla epiteloid mezotelyoma tanısında en özgül ve duyarlı belirleyicilerden biri olduğunu ileri sürmüştür (43).

2.8.4. Wilm's Tümörü 1 (WT1)

WT1, böbreğin mezengial hücreleri, testisin sertoli hücreleri, overin stromal ve yüzey epitel hücreleri, düz kas hücreleri ve mezotelyal hücrelerde yerleşen bir tümör supresör gen olan Wilm's tümör geninin ürünüdür. Kullanılan antikor tipine bağlı olarak epiteloid mezotelyomaların % 43 ile % 93 oranları arasında kuvvetli nükleer pozitif boyanma gösterdikleri bildirilmiştir (25, 30). WT1 akciğer adenokarsinomları ve skuamöz karsinomlarında eksprese edilmediğinden, malign plevral mezotelyomanın bu tümörlerle ayırıcı tanısında oldukça yararlı bir belirleyicidir (6, 30). Ancak overin seröz karsinomlarda da % 83 ile % 100 oranında WT1 pozitifliği bulunduğundan, peritoneal mezotelyomanın seröz karsinomlardan ayırt edilmesinde faydalı olmayacağı bildirilmiştir (44, 45, 46). Daha az olmakla birlikte renal hücreli karsinom ve malign melanom metastazlarında da WT1 pozitifliği görülebildiğinden bahseden yayınlar bulunmaktadır (6, 44).

2.8.5. HBME1

HBME1 malign mezotelyomalı bir hastanın hücre dizisinden üretilen bir antikordur. Malign mezotelyoma olgularının büyük kısmında yaygın membranöz boyanma gösteren antikor, akciğer adenokarsinomlarında sitoplazmik boyanma oluşturur. Ancak sitoplazmik ve membranöz boyanma patternlerinin azımsanmayacak oranda üst üste binebildiğinin birçok yayında bildirilmesinden ötürü malign mezotelyoma ve akciğer adenokarsinomu ayırıcı tanısında güvenilir bir belirleyici olmadığı anlaşılmıştır. Yapılan bir çalışmada malign mezotelyoma olgularının % 82'si, plevradaki metastatik karsinomların % 48'sinde HBME1 ile pozitif boyanma saptanmıştır. Ayrıca bu belirleyicinin overin seröz karsinomlarında

da yüksek orada eksprese olduğunu bildirir çok sayıda yayın bulunmaktadır. Bu nedenle kadın hastalarda malign mezotelyoma ayırıcı tanısında dikkatli kullanmak gerekmektedir (6).

2.8.6. Tiroid Transkripsiyon Faktör-1 (TTF1)

Tiroid transkripsiyon faktör-1 (TTF1), Nkx2 gen ailesi üyesi olup fosforile homeodomain içeren 38 kd büyüklüğünde doku spesifik nükleer transkripsiyon proteinidir ve tiroglobulin ve tiroperoksidaz genlerinin tiroid spesifik transkripsiyon promotorudur. TTF1, gelismekte olan tiroid, akciğer, beyin ve hipofizin erken diferansiyasyon ve morfogenezinde önemli rol oynar. Erişkin akciğerinde öncelikle tip II alveolar pnömosit ve silleri olmayan bronsial hücrelerde tanımlanmıştır. TTF1, kromozom 14q13 de tek lokuslu bir gende bulunur ve akciğer dokusunda surfaktan proteinleri (A, B, C) ve "Clara" hücre sekretuar proteini gen ekspresyonunu regüle eder (47, 48, 49). TTF1 nükleer ekspresyonu, akciğer adenokarsinomu, büyük hücreli karsinoma, nöroendokrin karsinomada ve tiroid kanserlerinde yüksek oranlarda görülmekteyken, malign mezotelyoma TTF1 negatifdir. Akciğerin yassı hücreli karsinomunun da genellikle TTF1 negatif olduğu unutulmamalıdır. Sonuçta TTF1 akciğer adenokarsinomu ve malign mezotelyoma ayırıcı tanısında önemli bir belirleyicidir (6).

2.8.7. Karsinoembriyonik Antijen (CEA)

CEA ilk önce Gold ve Freeman tarafından tanımlanan bir onkofetal glikoproteindir (50). Mezotelyal hücreler normalde CEA sentezlemez, daha çok akciğer kaynaklı adenokarsinomlar tarafından yaygın olarak sentezlenir. Tanısal immünohistokimyanın yaygınlaşması ile birlikte, CEA mezotelyoma ile primer akciğer adenokarsinomu arasında ayırım yapma yeteneği açısından ilk çalışılan belirleyicilerden biri olmuştur (44). İlk çalışmalarda, nonspesifik çapraz-reaksiyon veren antijenlere bağlı olarak mezotelyomada yanlış pozitif sonuçlar verebilen

poliklonal CEA kullanılmıştır. Monoklonal CEA'nın kullanımı bunun diagnostik duyarlılığını ve özgüllüğünü arttırmıştır ve en güçlü ve yararlı antikorlardan biri olarak kabul edilmiştir (6, 44, 51).

2.8.8. Epitelyal Spesifik Antijen (MOC 31)

MOC-31, insan pankarsinom ile ilişkili epitelyal glikoprotein-2 (EGP-2) olarak da bilinen epitelyal hücre adezyon molekülünü (Ep-CAM) tanıyan monoklonal bir antikordur. Bu belirleyici, birçok karsinomda sentezlendiği ve epiteloid mezotelyomalarda nadiren ya da düzensiz olarak sentezlendiği için, günümüzde epiteloid mezotelyomalar ile primer akciğer adenokarsinomları arasında ayırım yapmak için kullanılan negatif mezotelyoma belirleyicilerinden biridir (6, 44). Neredeyse bütün primer akciğer adenokarsinomları ve overin seröz karsinomaları bu işaretleyici ile pozitiftir ve boyanma genelde güçlü ve diffüzdür. Bunun aksine, epiteloid mezotelyomaların sadece % 5-10'unda fokal pozitif reaksiyonlar rapor edilmiştir (6, 44).

2.8.9. GLUT1

GLUT1, eritrosit-tipi glukoz taşıyıcı proteini olup, 5 izoformu bulunan kolaylaştırıcı glukoz taşıyıcı ailesinin bir üyesidir. GLUT1 ayrıca hipoksiye hücresel cevapta rol oynadığı bilinen önemli bir hedef mediyatördür. GLUT1 ekspresyonu, eritrosit, testisin germ hücreleri, peirferik sinirlerde perinörium, kan-beyin beriyerindeki endotel hücreleri ve plasentada izlenir. Diğer birçok normal epitel dokusunda ve benign epitelyal tümörlerde saptanabilir düzeyde değildir; ancak malign epitelyal tümörlerin önemli bir kısmında pozitif olarak bildirilmektedir. Kolorektal, ovaryan, endometriyal, gastrik, pulmoner, ürotelyal tümörlerde; ayrıca karaciğer, meme, tiroid, baş-boyun ve ampulla vateri neoplazilerinde aberran GLUT1 ekspresyonunun bulunduğu ve bu ekspresyonun prekanseröz lezyonlarda neoplastik progresyonun ya da agresif biyolojik davranışın bir göstergesi olduğu

çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (52, 53). Bazı çalışmalar GLUT1 ekspresyonunun benign ve malign lezyonları ayırmada yardımcı olabileceğini bildirmiştir. Yasufumi Kato ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 48 malign mezotelyoma olgusunun tümünde değişen şiddetlerde GLUT1 pozitifliği gözlenirken, 40 reaktif mezotel örneğinde GLUT1 ile ekspresyon bulunmadığı saptanmıştır (54). Bu çalışmaya göre GLUT1 reaktif mezotel ile malign mezotelyoma ayırımı için yararlı gibi görünen ancak diğer malignitelerle ayrımda kullanılamayacak bir belirleyicidir.

2.8.10. EMA

EMA yüksek molekül ağırlıklı bir transmembranöz proteindir. Değişik hücre tipleri ile reaksiyon verebilir. Epitelyal differansiyasyonu gösterir (55). Plevrada, EMA malign mezotelyoma ile adenokarsinomlar ve reaktif mezotel proliferasyonlarının ayırımında kullanılır. Malign mezotelyomada membranöz, adenokarsinomada ise sitoplazmik boyanma patterni gösterir (56). Ancak boyanma patterninin üst üste binmesi ve yanlış değerlendirmelere yol açması nedeniyle, malignitelerden çok, reaktif mezotelyal proliferasyonla ayırıcı tanıda kullanılmaktadır. Bunu destekleyen birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda reaktif mezoteldeki EMA pozitifliği % 4 ile % 33 arasında değişirken, mezotelyomadaki oranlar % 58 ile % 100 arasında yer almaktadır (55, 57, 58, 59, 60).

2.8.11. BCL-2

Bcl-2 anti-apoptotik aktiviteye sahip, 26-kDa ağırlığında bir proteindir. Normalde ekspresyonu yüksek apoptotik hücre döngüsüne sahip dokularla sınırlıdır (61). Bcl-2' nin artmış ekspresyonunun meme, prostat, over ve akciğer karsinomlarında tedaviye direnci, dolyısıyla da kötü prognozu gösterdiği bildirilmiştir (62). Malign mezotelyomanın tedaviye sınırlı cevap vermesinin nedeninin de tümörün apoptozise direnci olduğu düşünülmektedir (63). Bu nedenle

sınırlı da olsa, literatürde mezotelyomada Bcl-2 ekspresyonunun araştırıldığı çalışmalar gözlenmiştir. Ancak bu çaluşmalardan çıkan sonuçlar da çok yüz güldürücü olmamıştır (56, 59, 64). Elde edilen bilgiler doğrultusunda Bcl-2' nin benign ve malign mezotelyal proliferasyonların ayırımında yararlı bir belirleyici olmadığı sonucuna varılmıştır.

2.8.12. ER

Östrojen reseptörü, steroid bağlayan, nükleer reseptörlerdendir. Memenin epitelyal hücrelerinde, uterusun epitelyal ve myometrial hücrelerinde eksprese edilir. Meme karsinomunda, prognoz ve hormonal tedaviye cevabı gösteren bir belirleyicidir. Meme karsinomları dışında, jinekolojik maligniteler, bazı deri eki tümörlerinde de ER' nin nükleer pozitifliği görülebilir. Malign mezotelyomada ise özellikle overin seröz karsinomları ile ayrımında kullanılır (65).

2.8.13. C-ERB B2

CerbB2 (HER2/neu) kromozom 17q21'de yer alan, 185 kD'luk, tirozin kinaz aktiviteli bir transmembran proteini kodlayan bir gendir (66). CerbB2'nin aşırı ekspresyonu, invaziv meme karsinomları gibi bazı tümörlerde, kötü bir prognostik parametre olarak kabul edilmekte, ileri evrede ise hedef bazlı tedavi seçiminde önem taşımaktadır (67, 68). CerbB2' nin malign mezotelyomadaki ekspresyonu ve prognostik önemi ile ilgili geniş serilerle yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Sınırlı hasta grubu ile yapılmış bu çalışmalardan bazıları membranöz c-erbB2 pozitifliğinin mezotelyomada da görülebildiğini göstermiş ve bunun prognostik bir anlamı olabileceğini savunmuştur (69). Diğer birçok yayın ise CerbB2' nin mezotelyomada fokal ya da sitoplazmik boyanma gösterdiğini, bunun da prognostik bir önem taşıyamayacağını ileri sürmüştür (70, 71)

2.8.14. P53

P53, hücre büyümesi, farklılaşması ve apoptozisde rolü olan bir nükleer fosfoproteindir. Neoplastik transformasyon, genellikle, bu tümör supresör genin bulunduğu 17. kromozomun kısa kolundaki mutasyonlarla ilişkilidir. İmmünhistokimyasal olarak da p53' ün mutasyona uğramış formları belirlenebilir (56). Mezotelyomalar ile reaktif mezotel proliferasyonları arasında p53 ekspresyon farklılıklarını araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda genelde benign proliferasyonlarda p53 ekspresyonu izlenmezken, neoplastik proliferasyonlarda % 25- 97 oranında değişen pozitiflikler saptanmıştır (58, 59, 72, 73, 74, 75).

2.8.15. Kİ67

Ki67 ekspresyonu hücre proliferasyonunun bir göstergesidir. Ki67 ekspresyonundaki artış, hücrelerdeki proliferatif aktivitenin artmış olduğunu gösterir (76). Malign mezotelyomalarda hücre proliferasyon hızının sağkalım oranlarıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir (77, 78). Ki67' nin benign ve malign mezotel proliferasyonları ayırımında kullanılması düşünülmüş ve bununla ilgili sınırlı da olsa çalışmalar yapılmıştır. Bazı çalışmalarda reaktif mezotel proliferasyonu ve malign mezotelyoma olgularının proliferasyon indeksleri arasında çok belirgin fark izlenirken (79, 80), Hasteh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise Ki67' nin ancak yüksek proliferasyon indeksi bulunduğunda ayırıcı tanıda yararlı olabileceğinin savunulmuştur (75).

2.8.16. Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR)

EGFR, tirozin kinaz reseptör ailesinin bir üyesidir. Bu hücre membran reseptörü, hücre çoğalması, differansiyasyonu, migrasyonu ve adezyonunun her aşamsında önemli bir role sahiptir (81). Tümörlerdeki EGFR ekspresyonunun, bu tümörlerin büyüme ve malign potens kazanmasına katkıda bulunduğu

düşünülmektedir (82). Bu nedenle birçok tümörde, tedavi rejimlerine EGFR inhibisyonuna yönelik seçici tirozin kinaz inhibitörleri sokulmuştur. Malign mezotelyomadaki EGFR ekspresyonunu ve muhtemel prognostik önemini araştıran çalışmalarda % 44 ile % 100 arasında değişik pozitif boyanma oranları gözlenmiş, EGFR' nin tek başına bağımsız bir prognostik faktör olamayacağı düşünülmüştür (83, 84).

2.8.17. Desmin

Desmin, düz ve iskelet kas differansiyasyonunu gösteren bir intermedier filamenttir (85). Ancak kas kökenli olmayan, primitif nöroektodermal tümörler, Wilms tümörü ve malign mezotelyoma gibi bazı tümörlerde de pozitifliği bildirilmiştir (72, 86, 87, 88, 89). Plevrada malign ve benign mezotelyal proliferasyonların ayrımında sözü geçen belirleyicilerdendir. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda da, reaktif mezotelyal proliferasyonlarda % 80- 86 gibi yüksek desmin pozitifliği izlenirken, malign mezotelyomada saptanan pozitiflik oranları % 10 ile % 56 arasında bulunmuştur (56, 72, 88). Bu değerler de desminin benign ve neoplastik mezoteli ayırt etmede kullanılabilineceğini göstermektedir.

2.8.18. Keratinler

Keratinler, hücre iskeletinin 3 komponentinden biri olan ara filamentleri oluşturan proteinlerdir. İnsanda 50 kadar fonksiyonel keratin geni mevcuttur. 20 ortak tipi ise, epitelyal differansiyasyona uğramış hücrelerde sentez edilir. Keratinler, yüksek molekül ağırlıklı (normal çok katlı epitel ve bunlardan farklılaşan tümörlerde eksprese edilir) ve düşük molekül ağırlıklı (normal basit epitel ve bunlardan farklılaşan tümörlerde eksprese edilir) keratinler olmak üzere iki büyük gruba ayrılır. Hücre malign transformasyona gitse bile, keratin ekspresyonunu korur. Bu nedenle tümörlerin epitelyal differansiyasyonu göstermekte kullanılan en güvenilir belirteçlerdir (90).

2.9. KLİNİK BULGULAR, PROGNOZ, EVRELEME, TEDAVİ YAKLAŞIMLARI

MPM' nin, klinik belirtileri spesifik değildir. Genellikle klinik belirtiler, tümörün lokal ilerlemesi ile bağlantılıdır. Hastalığın erken dönemlerinde, plevral effüzyon da varsa, dispne ilk belirgin semptomdur. Effüzyon boşaltılırsa, hasta rahatlar. Tümörün göğüs duvarına doğru büyümesi ve interkostal sinirleri tutması ile göğüs ağrısı saptanır. Tümör bazen perikarda invaze olarak perikardial effüzyona yol açabilir (91, 92).

MPM'de de tanı histopatolojik incelemeye dayanır. MPM'de doku tanısı güç olabilir. Balgam sitolojisi negatiftir. Bronkoskopide plevral efüzyon ve kalınlaşmalara bağlı olarak dış bası görülse de endobronşial lezyon saptanmaz. Doku temininde sitoloji, kapalı plevra iğne biyopsisi, torakoskopi, torakotomi gibi yöntemler kullanılır (91, 93).

MPM'de tümörün yaygınlığını değerlendirmek üzere ortaya atılmış bir kaç evrelendirme sistemi bulunmaktadır. MPM'nin evrelemesinde uzun prognoz ile ilişkisi yeterli olmayan Butchart'ın sistemi kullanılmıştır. Daha sonra prognoz ile daha iyi ilişki kurulan LJICC'nin (Union Internationale Contre la Cancer) TNM sistemi geliştirilmiştir. Son olarak en çok kabul gören, MPM tanı ve tedavisinde artan cerrahi işlemlerin öğrettiği yeni bilgilerden sonra IMIG (International Mesothelioma Interest Group) evreleme sistemi kulanılmıştır. Bu sistemin prognoz ile ilişkisi daha iyi olarak kabul edilmektedir (91, 92).

MPM'nin prognozu, genel olarak kötüdür. Yaşam süresi serilerde değişmekle birlikte 6-17 ay arasında, ortalama 12 ay altında verilmektedir. Sağ kalım üzerine olumlu etkisi olan faktörler: epiteloid tip, kadın olmak, erken evre, Karnofsky Performans İndeksi'nin yüksek olması, az (<% 5) kilo kaybı, genç (<50) yaş, düşük trombosit sayısı, PET scan de düşük SUV değeri olark ortaya çıkmaktadır. Kötü prognostik değerler ise: yüksek (>500 IU/L) serum LDH seviyesi, yüksek

(>400,000/mL) serum trombosit sayısı, göğüs ağrısı, erkek olmak, yüksek kan beyaz küre sayısı olarak belirlenmiştir (91, 92).

MPM cerrahi tedavi, kemoterapi ve radyoterapiye rağmen hala ölümcül seyreden bir hastalıktır. MPM tedavisinde cerrahi, kemoterapi, radyoterapi ve kombine tedavi seçenekleri denenmiştir. MPM'de kemoterapide tek ajan tedavilerde cevap oranı sıklıkla % 20'nin altındadır. Antrasiklinler, alkilleyici ajanlar, platinler diğerlerine göre daha etkin olarak bildirilmiştir. Kombine ajanlarla yapılan kemoterapilerde ise cevap oranları biraz daha yüksek (genel olarak % 20-30) bulunmuştur.

Cerrahi tedavinin amacı, olabildiği kadar tümörlü dokuyu rezeke etmek, hastanın semptomlarını gidermek veya azaltmaktır. MPM'de cerrahi için son derece iyi bir hasta seçimi önerilir, ancak % l-5' ine radikal cerrahi tedaviler önerilmektedir. MPM'da Plörektomi / Dekortikasyon (P/D), Ekstraplöral Pnömonektomi (EPP) gibi cerrahi yöntemler söz konusudur.

Tedavi amaçlı eksternal radyoterapinin geniş bir alana uygulama gereği vardır. Göğüs duvarına yapılacak bu radyoterapinin dozu oldukça yüksek olmalıdır, dolayısıyla yan etki oranı yüksek, toleransı zor, antitümöral duyarlılık da iyi değildir. Hastalık özelikle epitelyal tipte 17 aya kadar uzayan bir yaşam süresi gösterdiğinden, iyi bir destek tedavisi gereklidir.

Destek tedavisi: sıvının kontrolü, ağrı kontrolü ve beslenmeden ibarettir. Sıvı kontrolü genellikle plöredezisle yapılır. Plöredezisin amacı tekrarlayan intraplevral sıvı birikimini durdurmak ve bunun yaptığı nefes darlığını gidermek için kimyasal veya mekanik araçlar kullanılarak, visseral ve parietal plevra yapraklarının yapışmasını sağlamaktır. Plöredezis için en etkili ajanların başında, asbest içermeyen talk pudrası gelmektedir (91, 92, 93).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. OLGU SEÇİMİ VE MİKROARRAY (MA) BLOKLARININ HAZIRLANMASI

Bu çalışmada 1996-2010 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda ve Ankara'da iki özel laboratuarda raporlanmış malign plevral mezotelyoma olguları taranmış, 148 epiteloid, 51 bifazik (mikst), 26 sarkomatoid, 3' ü ise alt tipi belirlenemeyen toplam 228 olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Ayrıca kontrol grubu olarak 9 benign mezotel proliferasyonu, 19 akciğer adenokarsinomu, 10 invaziv meme karsinomu, 9 mide adenokarsinomu (4 tanesi taşlı yüzük tipinde olmak üzere), 5 kolon adenokarsinomu, 4 over seröz papiller karsinomu, 3 leiomyosarkom, 2 plevral soliter fibröz tümör, 1 fibrosarkom olmak üzere toplam 62 vaka kullanılmıştır. Ancak epiteloid malign mezotelyoma olgularından 23, bifazik (mikst) malign mezotelyoma olgularından 7, sarkomatoid malign mezotelyoma olgularından 2 tanesi parafin blokları elde edilemediğinden çalışmanın immünhistokimyasal inceleme aşamasına dahil edilmeyerek, 128 epiteloid, 44 bifazik (mikst), 24 sarkomatoid mezotelyoma ile çalışmanın bu aşaması gerçekleştirilmiştir (Tablo 3).

Seçilen olguların H.E kesitleri ışık mikroskobi ile yeniden incelenmiş, histopatolojik bulgular kaydedilmiş ve her vaka için çalışılmak istenilen ve uygun olan tümörlü alanlar cam kalemi ile işaretlenmiştir. Tümörlü alanları çizilmiş bu H.E boyalı kesitler ile olguların parafin blokları ile eşleştirilmiş, blokların üzerinde de işaretlemeler yapılmıştır.

Mikroarray işlemi için seçilen bu tümörlü bloklar "verici" blokları; normal parafin bloklardan daha yüksek ve enli hazırlanmış, 37 derecede eriyen plastik parafin (Tyco Heathcare Kendall Paraplast X-TRA) ile doldurulmuş bloklar ise "alıcı" blokları oluşturmuştur. Alıcı blok düzgün bir yüzey elde edilene kadar tıraşlanmış ve daha sonra "Beecher Instruments Mikroarrayer" ile alıcı blokta 1 mm çap ve 3-4 mm yükseklik gösteren kuyucuklar açılmıştır. Her bir kuyuya verici bloktan alınan tümörlü doku yerleştirildikten sonra, her bir doku silindiri arasında 0,5

mm mesafe kalacak şekilde, aynı sıra ile işleme devam edilmiştir. Olgular her bir sırada biri kontrol dokusu olmak üzere 13 doku silindiri bulunacak ve bir MA bloğunda da toplam 10 sıra olacak şekilde hazırlanmış haritalara göre yerleştirilmiştir. Tümör miktarı el verdiği sürece tüm vakalardan 3'er tümörlü doku silindiri hazırlanmıştır. Kontrol grubunu temsil eden vakalardan da birer doku silindiri hazırlanmış ve toplam 5 adet MA bloğu elde edilmiştir. Bu bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler alınmış, birer kesit H.E ile boyanmış; diğer kesitler ise immünhistokimyasal boyamalarda kullanılmıştır (Resim 1).

Tablo 3. Çalışmaya Dahil Edilen Olgu Grupları

Çalışma Grupları		**Toplam Sayı**	**İHK'ya dahil edilen sayı**
MALİGN PLEVRAL MEZOTELYOMA	Epiteloid	148	128
	Bifazik (mikst)	51	44
	Sarkomatoid	26	24
KONTROL GRUBU	Benign mezotel proliferasyonu	9	9
	Akciğer adenokarsinomu	19	19
	İnvaziv Duktal Karsinom	10	10
	Mide adenokarsinomu	9	9
	Kolon adenokarsinomu	5	5
	Overin seröz papiller karsinomu	4	4
	Leiomyosarkom	3	3
	Soliter fibröz tümör	2	2
	Fibrosarkom	1	1

3.2. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Epiteloid, bifazik (mikst), sarkomatoid malign plevral mezotelyomalar ve kontrol grubuna ait vakalara ait patoloji raporlarından ulaşılabilen isim, yaş, memleket, gelen materyallerin cinsi, anabilim dalına geliş tarihi, tanı verme sırasında varsa yapılan immünhistokimyasal inceleme sonuçları, histopatolojik tanı gibi tüm bilgiler kaydedilmiştir.

Malign mezotelyomaya ait tüm vakalar tekrar incelenerek, yeniden tanı verme ve alt tiplendirme işlemi yapılmıştır.

3.3. İMMÜNHİSTOKİMYASAL İNCELEME

3.3.1. Kullanılan Antikorların Özellikleri

Kullanılan antikorların klon isimleri, dilüsyonları ve ticari kaynakları Tablo 4' de belirtilmiştir.

Tablo 4. Çalışmada Kullanılan Antikorların İsimleri, Dilüsyonları ve Ticari Kaynakları

ANTİKOR	KLON	DİLÜSYON	TİCARİ KAYNAK
Kalretinin	poliklonal	1/100	Cell Marque
CK5/6	D5&16B4	1/25	Cell Marque
WT1	GF-H2	1/10	Thermo-scientific
HBME1	HBME1	1/50	GeneTex. İnc
D2-40	D2-40	1/200	Dako
HMWCK	AE3	1/200	Cell Marque
LMWCK	AE1	1/200	Cell Marque
EMA	E29	DİREKT	Scytek
GLUT1	117	1/200	Dako
TTF1	SPT24	1/100	Novocastra
CEA(m)	12-140-10	1/200	Novocastra
CEA(p)	poliklonal	1/200	Scytek
MOC31	MOC31	1/50	Neomarkers
ER	6F11	1/50	Novocastra
CerbB2	E2-4001+3B5	1/400	Neomarkers
BCL-2	124	1/100	Cell marque
DESMİN	DE-R-11	1/50	Novocastra
p53	DO-7	1/25	Novocastra
Ki67	MM1	1/100	Novocastra
EGFR	111.6	1/40	GeneTex

3.3.2. İmmünhistokimyasal Boyama

Ventana i-View DAB Detection kiti kullanılarak, uygun pozitif kontroller eşiliğinde, Kalretinin, CK5/6, HMWCK, LMWCK, monoklonal ve poliklonal CEA, BCL-2, Desmin, HBME1, D2-40, GLUT1, EMA, CerbB2, MOC31, WT1, ER, TTF1, Ki67, p53, EGFR boyamaları Ventana Benchmark İHK otomatik boyama makinesi ile yapılmıştır.

3.3.3. İmmünhistokimyasal Boyamaların Değerlendirilmesi

3.3.3.1. İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Boyanma Özellikleri

Kalretinin için nükleer ve sitoplazmik; CK5/6, HMWCK, LMWCK, BCL-2, Desmin, monoklonal ve poliklonal CEA için sitoplazmik; HBME1, D2-40, GLUT1, EMA, CerbB2, EGFR, MOC31 için sitoplazmik ve membranöz; WT1, ER, TTF1, Ki67 ve p53 için nükleer boyanma pozitiflik olarak kabul edilmiştir.

3.3.3.2 İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Boyanma Skorları

Kalretinin, CK5/6, HMWCK, LMWCK, monoklonal ve poliklonal CEA, BCL-2, Desmin, HBME1, D2-40, GLUT1, EMA, CerbB2, MOC31, WT1, ER, TTF1, EGFR ile elde edilen boyanmalar yaygınlık ve şiddetine göre semikantitatif olarak 0/1+/2+/3+ olarak skorlanmıştır. Ki67, p53 ile pozitif boyanan tümör hücrelerinin kor içerisindeki tüm tümör hücrelerine oranı yüzde olarak tesbit edilmiştir.

3.4. MA BLOKLARINDA DOKU SİLİNDİRLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İmmünhistokimyasal belirleyiciler değerlendirilirken her bir doku silindirinin tek tek boyanma şekli ve boyanma skoru kaydedilmiştir. İstatiksel inceleme

aşamasında her olgu için alınan 2 veya 3 doku silindirinden en yüksek boyanma skoruna sahip olan alınmıştır. Her vakadan 2 veya 3 adet alınan doku silindirlerinin birinin herhangi bir boyanma için teknik olarak uygun olmadığı durumlarda o kor değerlendirmeden çıkarılmıştır.

3.5. İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME

Örneklemlerin değerlendirilmesinden elde edilen sonuçlar bilgisayar ortamına aktarılarak sayısallaştırılmıştır. Gerekli hata kontrolleri ve düzeltmeler yapılmıştır. Hasta yaşlarının dağılımını göstermek amacı ile ortalama ± standart sapma kullanılmıştır. Kategorik değerler (tümör türü, materyal boyutu, tümör boya skorları vb) sayı ve yüzde ile gösterilmiştir. Kategorik verilerin kendi aralarındaki ilişkilerin ortaya konmasında marjinal tablolara, sayı ve yüzdelere başvurulmuştur. Gerekli yerlerde kategorik değişkenler arası ilişkiyi araştırmak amacı ile Ki-Kare, Ki-Kare en çok olabilirlik oranı (likelihood) değerleri incelenmiştir. Materyal boyutunun tümör tanısına etkisini ortaya koyabilmek amacı ile 2x2'lik tablolarda Odds Ratio (OR) ve % 95 güven aralıkları hesaplanmıştır. Sık kullanılan immünhistokimyasal belirleyicilerin malign mezotelyomayı diğer tümörlerden ayırmada gösterdikleri duyarlılık ve seçicilik değerleri belirlenmiştir. Belirleyicilerin tek başına kullanıldıklarında elde edilen "Duyarlılık" ve "Seçicilik" değerlerini daha yüksek oranlara çıkarabilmek amacı ile birden fazla belirleyicinin bir arada kullanıldığı modeller oluşturularak, bu modellerin de "Duyarlılık" ve "Seçicilik" değerleri belirlenmiştir. Tüm istatistiksel analiz ve hesaplamalar için MS-Excel 2003 ve SPSS for Win. Ver. 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL., USA) paket programları kullanılmıştır. İstatistiksel kararlarda $p \leq 0.05$ değeri anlamlı farklılığın göstergesi olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. GENEL BULGULAR

Çalışma, biri (% 0.4) cinsiyeti belirsiz, 83'ü (% 36.4) kadın ve 144'ü (% 63.2) erkek hastadan alınan toplam 228 malign mezotelyoma örneği üzerinde yürütülmüştür. Örneklerin 148'i (% 64.9) epiteloid mezotelyoma olgusu iken, sarkomatoid mezotelyoma tanısı alan olgu sayısı 26 (% 11.4) , bifazik mezotelyoma tanısı alan olgu sayısı 51 (% 22.4) olarak belirlenmiştir. 3 (% 1.3) olguda ise tip ayrımına gidilememiştir.

Hastaların en genci 20 yaşında iken, en yaşlı hasta 86 yaşındadır. Olguların tiplere göre yaş dağılımı Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5. Olguların Yaş (Yıl) Dağılımı

	n	En Az	En Çok	Ortalama	Std. Sapma
Cinsiyet*					
Kadın	83	20.0	79.0	54.4	11.5
Erkek	144	30.0	86.0	54.6	11.1
Grup					
Bifazik	51	20.0	72.0	53.1	10.9
Epiteloid	151	27.0	80.0	54.8	11.4
Sarkomatoid	26	34.0	86.0	56.0	10.8

** : Cinsiyeti bilinmeyen bir örnek değerlendirme dışı bırakılmıştır*

Kadınlarda en çok görülen histolojik tip % 61.4 ile epiteloid mezotelyoma iken, en az gözlenen mezotelyoma alt tipi ise % 12.1 ile sarkomatoid olarak öne çıkmaktadır (Tablo 6a). Benzer sıralama erkeklerde de söz konusudur. Mezotelyoma alt tip dağılımı cinsiyete göre anlamlı farklılık göstermemektedir (χ^2=1.739; p=0.419). Mezotelyoma alt tiplerinde cinsiyet dağılımı Tablo 6b'de verilmiştir.

Tablo 6a. Cinsiyete Göre Histolojik Tip Dağılımı

	CİNSİYET					
	Kadın		Erkek		TOPLAM	
TANI	n	%	n	%	n	%
Bifazik	22	26.5	28	19.4	**50**	**22.0**
Epiteloid	51	61.4	100	69.4	**151**	**66.5**
Sarkomatoid	10	12.1	16	11.2	**26**	**11.5**
TOPLAM	**83**	**100.0**	**144**	**100.0**	**227**	**100.0**

Tablo 6b. Histolojik Tiplerde Cinsiyet Dağılımı

	CİNSİYET					
	Kadın		Erkek		TOPLAM	
TANI	n	%	n	%	n	%
Bifazik	22	44.0	28	56.0	**50**	**100.0**
Epiteloid	51	33.8	100	66.2	**151**	**100.0**
Sarkomatoid	10	38.5	16	61.5	**26**	**100.0**
TOPLAM	**83**	**36.6**	**144**	**63.4**	**227**	**100.0**

Spesmen türüne bakıldığında; 191 (% 84.5) örneğin plevral biyopsi, 19 örneğin (% 8.4) rezeksiyon (plöropnömonektomi) ve 16 (% 7.1) örneğin ise dekortikasyon şeklinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 7). 2 spesmen ise kitle eksizyonu özelliğindedir.

Tablo 7. Histolojik Tiplere Göre Spesmen Türü

Histolojik Tip	Spesmen Türü							
	Biyopsi		Dekortikasyon		Rezeksiyon		Toplam	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Epiteloid	131	87.9	9	6.0	9	6.0	**149**	**100.0**
Sarkomatoid	23	88.5	2	7.7	1	3.8	**26**	**100.0**
Bifazik	37	72.5	5	9.8	9	17.6	**51**	**100.0**
Toplam	**191**	**84.5**	**16**	**7.1**	**19**	**8.4**	**226**	**100.0**

Örneğin büyüklüğü ile mezotelyoma alt tip tanısı arasında bir ilişki olup olmadığını belirleyebilmek amacı ile örnekler küçük (biyopsi) ve büyük (dekortikasyon ve rezeksiyon) materyaller olarak iki başlık altında toplanmıştır. Yapılan incelemede tümör türü belirlenemeyen 3 örnek değerlendirme dışında bırakılmıştır (Tablo 8).

Tablo 8. Materyal Boyutlarına Göre Histolojik Tip Dağılımı

Histolojik Tip	Materyal Boyutu					
	Küçük (biyopsi)		Büyük (rezeksiyon /dekortikasyon)		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Epiteloid	128	68.1	18	51.4	**146**	**65.5**
Sarkomatoid	23	12.2	3	8.6	**26**	**11.7**
Bifazik	37	19.7	14	40.0	**51**	**22.9**
Toplam	**188**	**100.0**	**35**	**100.0**	**223**	**100.0**

Tablo 8' e göre; küçük materyallerin (biyopsi) % 68.1'ine epiteloid, % 12.2'sine sarkomatoid ve % 19.7'sine bifazik mezotelyoma tanısı konmuştur. Büyük materyallerde (dekortikasyon + rezeksiyon) bu oranlar sırası ile % 51.4, % 8.6 ve % 40.0 olarak hesaplanmıştır. Materyal boyutu ile konulan tümör tanısı arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır (χ^2=6.917; p=0.031).

Farklılığa hangi alt tip tanısının yol açtığı incelendiğinde; epiteloid ve sarkomatoid mezotelyoma tanılarının her iki spesmen türünde de istatistiksel olarak benzer oranlarda (χ^2=0.013; p=0.909) konulduğu görülmüştür.

Sarkomatoid ve bifazik mezotelyoma tanılarının da her iki spesmen türünde istatistiksel olarak benzer oranlarda (χ^2=2.535; p=0.111) konulduğu görülmüştür.

Epiteloid ve bifazik mezotelyoma tanıları spesmen türüne göre incelendiğinde; biyopsi materyallerinde epiteloid mezotelyoma tanısı koyma oranının, bifazik mezotelyoma tanısı koyma oranına göre daha yüksek olduğu (Tablo 9) görülmektedir. Spesmen türüne göre konulan mezotelyoma alt tip tanısı oranları

arasındaki farklılık istatistiksel olarak da önemlidir (χ^2=6.353; p=0.012). Sadece materyal boyu dikkate alındığında (diğer her türlü etkenin etkisinin –yaş, cinsiyet vb- sabit olduğu düşünüldüğünde) dekortikasyon ya da rezeksiyon materyali ile bifazik mezotelyoma tanısı koyma olasılığı, biyopsi materyali ile bifazik mezotelyoma tanısı koymaya olasılığına göre OR=2.69 kat daha fazladır (OR % 95 güven aralıkları 1.22 – 5.92).

Tablo 9. Materyal Boyutlarına Göre Epiteloid ve Bifazik Mezotelyoma Dağılımı

Histolojik Tip	Materyal Boyutu				Toplam	
	Küçük		Büyük			
	n	%	n	%	n	%
Epiteloid	128	77.6	18	56.3	**146**	**84.9**
Bifazik	37	22.4	14	43.8	**51**	**25.9**
Toplam	**165**	**100.0**	**21**	**100.0**	**197**	**100.0**

Örnekler hastalardan alındıkları dönemde 11 farklı patolog tarafından değerlendirilmiştir. Yapılan bu ilk değerlendirme sonrasında 95'ine (% 41.7) epiteloid, 9'una (% 3.9) sarkomatoid ve 33'üne (% 14.5) bifazik mezotelyoma tanısı konurken; 91'inde (% 39.9) tip belirtilmemiştir.

Örneklerin çalışma kapsamındaki ikinci değerlendirmesi ise önceki değerlendirme sonuçlarını bilmeksizin aynı anda iki patolog tarafından (SDS, EA) yapılmıştır. Yapılan ikinci değerlendirmeye göre histolojik kesitleri mevcut olan 228 örneğin 3'ünün (% 1.3) türü belirlenemezken, 148'inin (% 64.9) epiteloid, 26'sının (% 11.4) sarkomatoid ve 51'inin (% 22.4) ise bifazik olduğu tespit edilmiştir. Önceki ve sonraki tanıların değerlendirme sonuçları çapraz tablo olarak Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. Örneklerin Birinci ve İkinci Değerlendirme Sonuçları

			İkinci Değerlendirme Sonucu				
			Epiteloid	**Sarkomatoid**	**Bifazik**	**Bilinmiyor**	**Toplam**
Birinci Değerlendirme Sonucu	**Epiteloid**	n	82	1	11	1	**95**
		%	86.3	1.1	11.6	1.1	**100.0**
	Sarkomatoid	n	0	9	0	0	**9**
		%	0.0	100.0	0.0	0.0	**100.0**
	Bifazik	n	4	6	23	0	**33**
		%	12.1	18.2	69.7	0.0	**100.0**
	Bilinmiyor	n	62	10	17	2	**91**
		%	68.1	11.0	18.7	2.2	**100.0**
	Toplam	**n**	**148**	**26**	**51**	**3**	**228**
		%	**64.9**	**11.4**	**22.4**	**1.3**	**100.0**

Birinci değerlendirme sonuncunda epiteloid mezotelyoma tanısı alan 95 örneğin ancak % 86.3'ü (n=82) ikinci değerlendirme sonucunda da epiteloid mezotelyoma tanısı almıştır. Epiteloid mezotelyoma tanısında uyumluluk oranı % 86.3' dür.

Birinci değerlendirmede sarkomatoid mezotelyoma tanısı alan 9 örneğin tamamı ikinci değerlendirmede de sarkomatoid mezotelyoma tanısı almıştır. Sarkomatoid mezotelyoma tanısınında uyumluluk oranı % 100.0 olarak belirlenmiştir.

Birinci değerlendirme sonuncunda bifazik mezotelyoma tanısı alan 33 örneğin ancak % 69.7'sine (n=23) ikinci değerlendirme sonucunda da bifazik mezotelyoma tanısı konulmuştur. Bifazik mezotelyoma tanısında uyumluluk oranının % 69.7 ile epiteloid ve sarkomatoid mezotelyoma tanısına göre daha düşük olduğu söylenebilir.

Birinci değerlendirmede tiplendirilmeyen 91 örneğin 62'si (% 68.1) ikinci değerlendirme sonucunda epiteloid, 10'u (% 11.0) sarkomatoid ve 17'si (% 18.7) de bifazik mezotelyoma tanısı alırken, 2'si (% 2.2) ikinci değerlendirme sonucunda da tiplendirilememiştir.

4.2. MİKROSKOPİK BULGULAR

İkinci histolojik değerlendirme sırasında izlenen ve not edilen mikroskopik özelliklere bakıldığında, tüm mezotelyoma olgularının % 18.2 oranında plevral plak gözlenmiştir. Plevral plakların epiteloid ve bifazik mezotelyomada yüksek oranda (% 19.6), sarkomatoid mezotelyomada ise daha düşük oranda (% 7.7) gözlendiği hesaplanmıştır (Tablo 11). Histolojik tip tanılarına göre plevral plak gözlenme oranları istatistiksel olarak benzer olarak bulunmuştur (χ^2=2.187; p=0.335).

Tablo 11. Alt Tiplere Göre Plevral Plak

	Plevral Plak					
	Gözlenen		Gözlenmeyen		TOPLAM	
TANI	**n**	**%**	**N**	**%**	**n**	**%**
Epiteloid	29	19.6	119	80.4	**148**	**100.0**
Sarkomatoid	2	7.7	24	92.3	**26**	**100.0**
Bifazik	10	19.6	41	80.4	**51**	**100.0**
TOPLAM	**41**	**18.2**	**184**	**81.8**	**225**	**100.0**

3 olguda önceki plörodezis uygulamaları ile uyumlu olabilecek yabancı cisim reaksiyonu saptanmıştır (Resim 2).

1'i epiteloid, diğerleri bifazik mezotelyomada olmak üzere toplam 3 adet olguda histopatolojik olarak lenf nodülü metastazı tesbit edilmiştir (Resim 3). Bifazik 2 olguda saptanan metastazlardan biri hem epiteloid hem sarkomatoid alanları içerirken, diğer lenf nodülü metastazının diffüz epiteloid morfolojiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Epiteloid mezotelyoma ve bifazik mezotelyomanın epiteloid alanlarına bakıldığında, en sık görülen varyantın % 61 oranıyla tübülopapiller varyant olduğu, bunu % 18 oranıyla diffüz (solid) patternin ve % 9 oranıyla asiner patternin izlediği saptanmıştır. Kalan % 12 olguda histolojik pattern belirlenememiştir.

Sarkomatoid malign mezotelyoma olarak sınıflandırılan 26 vakanın 2'sinde dezmoplastik mezotelyoma ile uyumlu morfoloji tesbit edilmiştir (Resim 4).

4.3. MALİGN MEZOTELYOMA ALT TİPLERİNE GÖRE İMMÜNHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Çalışmada her olgudan, immünhistokimyasal inceleme yapmak amacı ile 3 farklı bölgeden 3 kor alınması amaçlanmış, ancak bazı örneklerden üç kor elde edilemediğinden, çalışma elde edilebilen tek ya da iki kor ile sürdürülmüştür. Üç ya da 2 kor elde edilebilen olgularda immünhistokimyasal değerlendirme için, en yüksek boyanma şiddeti saptanan korun skoru kullanılmıştır. Örneğin x numaralı örneğin 3 farklı bölgesinden alınan korlarda herhangi bir immünhistokimyasal belirleyici için skorlar sırası ile 1+, 1+ ve 3+ ise bu örnek için 3+ skoru istatistiksel değerlendirmeye alınmıştır. Ayrıca ikinci olarak materyallerden alınan korların tümü dikkate alınarak istatistiksel değerlendirme de yapılmıştır. Örneklemlerden elde edilen sonuçlar mezotelyoma tiplerine göre; Epiteloid, Sarkomatoid ve Bifazik başlıkları altında ayrı ayrı incelenmiştir.

4.3.1. Epiteloid Mezotelyoma Olgularında İmmünhistokimyasal Bulgular

Epiteloid mezotelyomada kullanılan mezotelyal belirleyicilerin (Kalretinin, CK5/6, WT1, D2-40, HBME1) ve keratinlerin boyanma performansları incelenmiştir. Bunların boyanma oranları Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 12 incelediğinde, mezotelyoma belirleyicileri arasında epiteloid mezotelyomada en düşük pozitiflik oranının % 67.3 ile D2-40' da olduğu, en yüksek pozitiflik oranının ise % 97.3 ile CK5/6 ile elde edildiği görülmektedir.

Boyanma şiddeti açısından bakıldığında ise; 3+ boyanma şiddeti oranlarına göre belirleyiciler büyükten küçüğe doğru HBME1, CK5/6, Kalretinin, WT1 ve D2-

40 olarak sıralanmaktadırlar. Yüksek pozitiflik oranına sahip belirleyicilerin, boyanma şiddetinde de daha yüksek pozitif değerler göstermesi; buna karşılık düşük pozitiflik oranına sahip belirleyicilerin daha düşük boyanma şiddeti göstermesi dikkat çekici bir bulgudur.

Pozitif boyanma şiddetleri incelendiğinde ise, en düşük pozitif boyanma şiddeti ortancasının 2+ ile WT1 ve D2-40' da olduğu, diğer belirleyicilerin şiddet ortancasının ise 3+ olduğu bulunmuştur.

Materyallerden alınan tüm korlar ayrı ayrı değerlendirmeye alındığında bazı materyallerden 1, bazı materyallerden 2 ve bazı materyallerden ise 3 örnek almanın mümkün olması nedeni ile olgular farklı sayıda korlar ile temsil edilmiştir. Materyallerden alınan korların tümünde immünhistokimyasal belirleyicilerin gösterdiği performans Tablo 13'de gösterilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen diğer immünhistokimyasal belirleyicilerin boyanma oranları Tablo 14' de verilmiştir.

Tablo 12. Epiteloid Mezotelyoma Olgularında İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları (Gözlenen En Yüksek Şiddete Göre)

Belirleyici	Olgu Sayısı			Değerlendirilemeyen †		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitif ΨΨ		Ortanca Şiddet §
	Toplam	Kayıp*	İncelenen	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Kalretinin	151	24	127	16	10.6	10	9.0	15	13.5	34	30.6	52	46.8	**101**	**91.0**	**3**
CK5/6	151	24	127	15	9.9	3	2.7	14	12.5	32	28.6	63	56.3	**109**	**97.3**	**3**
HMWCK	151	24	127	13	8.6	3	2.6	7	6.1	13	11.4	91	79.8	**111**	**97.4**	**3**
LMWCK	151	24	127	13	8.6	2	1.8	5	4.4	17	14.9	90	78.9	**112**	**98.2**	**3**
WT1	151	24	127	13	8.6	9	7.9	9	7.9	46	40.4	50	43.9	**105**	**92.1**	**2**
D2-40	151	24	127	20	13.2	35	32.7	23	21.5	23	21.5	26	24.3	**72**	**67.3**	**2**
HBME1	151	24	127	18	11.9	6	5.5	11	10.1	26	23.9	66	60.6	**103**	**94.5**	**3**

Kayıp* : *Bu örnekler parafin bloklarının mevcut olmaması nedeni ile değerlendirilememiştir. İkinci değerlendirme sonucunda herhangi bir alt tipe sokulamayan 3 örnek de bu gruba alınmıştır.*

Değerlendirilemeyen† : *Bu örnekler dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır.*

ΣPozitif ΨΨ : *Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen örneklere oranı.*

Ortanca Şiddet§ : *Skorların [(-), 1+, 2+, 3+] ortanca değeri*

Tablo 13. Epiteloid Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Tüm Korlar Değerlendirildiğinde İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Belirleyici	Alınan Kor Sayısı	Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᴪ	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Kalretinin	305	56	18.4	35	14.1	46	18.5	71	28.5	97	39.0	**214**	**85.9**
CK 5/6	305	60	19.7	16	6.5	48	19.6	67	27.3	114	46.5	**229**	**93.5**
HMWCK	305	58	19.1	9	3.6	21	8.5	50	20.2	167	67.6	**238**	**96.4**
LMWCK	305	56	18.4	9	3.6	17	6.8	53	21.3	170	68.3	**240**	**96.4**
WT1	305	53	17.4	37	14.7	36	14.3	100	39.7	79	31.3	**215**	**85.3**
D 2/40	305	65	21.3	97	40.4	47	19.6	49	20.4	47	19.6	**143**	**59.6**
HBME1	305	60	19.7	30	12.2	31	12.7	65	26.5	119	48.6	**215**	**87.8**

Değerlendirilemeyen†: *Bu korlar, dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır.*

ΣPozitifᴪ : *Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen (Alınan Kor Sayısı – Değerlendirilemeyen) örneklere oranı.*

Tablo 14a. Epiteloid Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Tüm Korlar Değerlendirildiğinde Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Performansları

Belirleyici	Alınan Kor Sayısı	Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᴪ	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TTF1	305	48	15.7	257	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
CEA(m)	305	44	14.4	261	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
CEA(p)	305	45	14.8	260	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
MOC31	305	49	16.1	240	93.7	12	4.7	4	1.6	-	-	**16**	**6.3**
EMA	305	52	22.8	34	19.3	63	35.8	48	27.3	31	17.6	**204**	**80.7**
GLUT1	305	52	22.8	79	44.9	74	42.0	22	12.5	1	0.6	**139**	**55.1**
BCL-2	305	58	19.0	236	95.5	9	3.6	1	0.4	1	0.4	**11**	**4.5**
ER	305	50	16.4	256	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
CerbB2	305	41	13.4	183	69.3	71	26.9	10	3.8	-	-	**81**	**30.7**
Desmin	305	52	17.0	251	99.2	2	0.8	-	-	-	-	**2**	**0.8**
EGFR	305	50	16.4	248	97.2	4	1.6	3	1.2	-	-	**7**	**2.8**

Değerlendirilemeyen† ***:*** *Bu örnekler, dökülme,uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır.*

ΣPozitif ᴪ ***:*** *Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen (Alınan Kor Sayısı – Değerlendirilemeyen) örneklere oranı.*

Tablo 14b. Epiteloid Mezotelyomada Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları (Gözlenen En Yüksek Şiddete Göre)

Belirleyici	Örnek Sayısı			Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᴪ		Ortanca Şiddet §
	Toplam	Kayıp*	İncelenen	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
TTF-1	151	24	127	13	8.6	114	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
CEA(m)	151	24	127	13	8.6	114	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
CEA(p)	151	24	127	13	8.6	114	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
MOC31	151	24	127	14	9.3	97	85.8	12	10.6	4	3.6	-	-	**16**	**14.2**	**(–)**
EMA	151	24	127	22	14.6	22	21.0	36	34.3	26	24.7	21	20.0	**83**	**79.0**	**2.0**
GLUT1	151	24	127	19	12.6	44	40.7	50	46.3	13	12.0	1	0.9	**64**	**59.3**	**1.0**
BCL-2	151	24	127	15	9.9	101	90.2	9	8.0	1	0.9	1	0.9	**11**	**9.8**	**(–)**
ER	151	24	127	13	8.6	111	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
CerbB2	151	24	127	10	6.6	57	48.7	50	42.7	10	8.6	-	-	**60**	**51.3**	**1.0**
Desmin	151	24	127	14	9.3	111	98.2	2	1.8	-	-	-	-	**2**	**1.8**	**(–)**
EGFR	151	24	127	14	9.3	108	95.5	3	2.7	2	1.8	-	-	**5**	**4.5**	**(–)**

Kayıp* : *Bu örnekler parafin bloklarının mevcut olmaması nedeni ile değerlendirilememiştir.*

Değerlendirilemeyen†: *Bu örnekler dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır.*

ΣPozitifᴪ : *Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen örneklere oranı.*

Ortanca Şiddet§ : *Skorların [(-), 1+, 2+, 3+] ortanca değeri*

P53 ve Ki67 belirleyicilerinin epiteloid mezotelyoma olgularındaki boyanma oranları Tablo 15' de gösterilmiştir.

Tablo 15. Epiteloid Mezotelyoma P53, Ki67 Boyanma Oranları (% , Tüm Korlar)

Belirleyici	Değerlendirilen	En az	En Çok	Ortalama	Std.Sapma
P53	236	0.0	90.0	24.7	23.3
Ki67	224	0.0	40.0	8.1	7.3

4.3.2. Sarkomatoid Mezotelyoma Olgularında İmmünhistokimyasal Bulgular

Sarkomatoid mezotelyomada kullanılan mezotelyal belirleyicilerin (Kalretinin, CK5/6, WT1, D2-40, HBME1) ve keratinlerin boyanma performansları incelenmiştir. Bunların boyanma oranları Tablo 16'de gösterilmiştir.

Tablo 16 incelediğinde: sarkomatoid mezotelyomada en düşük pozitiflik oranın % 15.0 ile D2-40' da olduğu, en yüksek pozitiflik oranının ise % 38.1 ile WT1 de görüldüğü izlenmektedir.

Boyanma şiddetleri açısından bakıldığında ise; hiçbir immünhistokimyasal belirleyicinin sarkomatoid mezotelyomada 3+ şiddet ortancasına sahip olmadığı görülmektedir. Sadece HMWCK ve LMWCK, incelenen immünhistokimyasal belirleyiciler içerisinde sarkomatoid mezotelyomada pozitif şiddet ortancasına sahip belirleyiciler olarak dikkat çekmektedir. Diğer tüm immünhistokimyasal belirleyiciler sarkomatoid mezotelyomada negatif (-) boyanma şiddet ortancasına sahiptir.

Materyallerden alınan tüm korlarda immünhistokimyasal belirleyicilerin sarkomatoid mezotelyoma olgularında gösterdiği performans Tablo 17' de gösterilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen diğer immünhistokimyasal belirleyicilerin sarkomatoid mezotelyoma olgularındaki performansları Tablo 18' de verilmiştir.

Tablo 16. Sarkomatoid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları (Gözlenen En Yüksek Şiddete Göre)

Belirleyici	Örnek Sayısı			Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᴪ		Ortanca Şiddet §
	Toplam	Kayıp*	İncelenen	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Kalretinin	26	2	24	5	20.8	13	68.4	5	26.3	-	-	1	5.3	**6**	**31.6**	**(–)**
CK5/6	26	2	24	1	4.4	18	78.3	3	13.0	2	8.7	-	-	**5**	**21.7**	**(–)**
HMWCK	26	2	24	4	16.7	2	10.0	2	10.0	10	50.0	6	30.0	**18**	**90.0**	**2**
LMWCK	26	2	24	5	20.8	3	15.8	3	15.8	8	42.1	5	26.3	**16**	**84.2**	**2**
WT1	26	2	24	3	12.5	13	61.9	6	28.6	2	9.5	-	-	**8**	**38.1**	**(–)**
D2-40	26	2	24	4	16.7	17	85.0	2	10.0	1	5.0	-	-	**3**	**15.0**	**(–)**
HBME1	26	2	24	6	25.0	13	72.2	2	11.1	2	11.1	1	5.6	**5**	**27.8**	**(–)**

Kayıp* : *Bu örnekler parafin bloklarının mevcut olmaması nedeni ile değerlendirilememiştir.*

Değerlendirilemeyen†: *Bu örnekler dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır.*

ΣPozitifᴪ : *Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen (İncelenen – Bilinmiyor) örneklere oranı.*

Ortanca Şiddet§ : *Skorların [(-), 1+, 2+, 3+] ortanca değeri, şiddet ortancası, (-):Şiddet ortancası negatif*

Tablo 17. Sarkomatoid Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Tüm Korlar Değerlendirildiğinde İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Belirleyici	Alınan Kor Sayısı	Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᴪ	
		n	%	n	%	n	%	N	%	n	%	n	%
Kalretinin	43	11	25.6	25	78.1	5	15.6	1	3.1	1	3.1	**7**	**21.9**
CK 5/6	43	11	25.6	26	81.3	3	9.4	3	9.4	-	-	**6**	**18.8**
HMWCK	43	10	23.3	3	9.1	8	24.2	14	42.4	8	24.2	**30**	**90.9**
LMWCK	43	12	27.9	5	16.1	7	22.6	13	41.9	6	19.4	**26**	**83.9**
WT1	43	10	23.3	24	72.7	7	21.2	2	6.1	-	-	**9**	**27.3**
D 2/40	43	12	27.9	27	87.1	2	6.5	1	3.2	-	-	**3**	**9.7**
HBME1	43	12	27.9	25	80.6	2	6.5	2	6.5	2	6.5	**6**	**19.4**

Değerlendirilemeyen† *: Bu örnekler dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır.*

ΣPozitifᴪ *: Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen (Alınan Kor Sayısı – Değerlendirilemeyen) örneklere oranı.*

Tablo 18a. Sarkomatoid Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Tüm Korlar Değerlendirildiğinde Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Performansları

Belirleyici	Alınan Kor Sayısı	Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᴪ	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TTF1	43	8	18.6	35	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
CEA(m)	43	10	23.3	33	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
CEA(p)	43	10	23.3	33	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
MOC31	43	9	20.9	33	97.1	1	2.9	-	-	-	-	**1**	**2.9**
EMA	43	12	27.9	18	58.1	7	22.6	4	12.9	2	6.5	**13**	**41.9**
GLUT1	43	13	30.2	18	60.0	5	16.7	6	20.0	1	3.3	**12**	**40.0**
BCL-2	43	12	27.9	21	67.7	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
ER	43	10	23.3	33	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
CerbB2	43	12	27.9	21	67.7	8	25.8	2	6.5	-	-	**10**	**32.3**
Desmin	43	13	30.2	29	96.7	1	3.3	-	-	-	-	**1**	**3.3**
EGFR	43	10	23.3	32	97.0	1	3.0	-	-	-	-	**1**	**3.0**

Değerlendirilemeyen†: *Bu örnekler dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır. % alınan kor sayısına oranını ifade etmektedir.*

ΣPozitif $^{\Psi}$ ***:*** *Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen (Alınan Kor Sayısı – Değerlendirilemeyen) örneklere oranı.*

Tablo 18b. Sarkomatoid Mezotelyomada Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları (Gözlenen En Yüksek Şiddete Göre)

Belirleyici	Örnek Sayısı			Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᴪ		Ortanca Şiddet §
	Toplam	Kayıp*	İncelenen	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
TTF-1	26	2	24	4	15.4	20	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
CEA(m)	26	2	24	4	15.4	20	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
CEA(p)	26	2	24	4	15.4	20	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
MOC31	26	2	24	3	11.5	20	95.2	1	4.8	-	-	-	-	**1**	**4.8**	**(–)**
EMA	26	2	24	4	15.4	8	40.0	7	35.0	4	20	1	5	**12**	**60.0**	**1.0**
GLUT1	26	2	24	5	19.2	9	47.4	5	26.3	4	21.0	1	5.3	**10**	**52.6**	**1.0**
BCL-2	26	2	24	6	23.1	16	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
ER	26	2	24	4	15.4	20	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
CerbB2	26	2	24	3	11.5	11	52.4	8	38.1	2	9.5	-	-	**10**	**47.6**	**1.0**
Desmin	26	2	24	4	15.4	19	95.0	1	5.0	-	-	-	-	**1**	**5.0**	**(–)**
EGFR	26	2	24	2	7.7	21	95.5	1	4.5	-	-	-	-	**1**	**4.5**	**(–)**

Kayıp* : *Bu örnekler parafin bloklarının mevcut olmaması nedeni ile değerlendirilememiştir.*

Değerlendirilemeyen†: *Bu örnekler dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır.*

ΣPozitifᴪ : *Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen (İncelenen – Bilinmiyor) örneklere oranı.*

Ortanca Şiddet§ : *Skorların [(-), 1+, 2+, 3+] ortanca değeri, şiddet ortancası, (-):Şiddet ortancası negatif*

P53 ve Ki67' nin sarkomatoid mezotelyomadaki boyanma oranları Tablo 18'de gösterilmiştir.

Tablo 19. Sarkomatoid Mezotelyomada P53, Ki67 Boyanma Oranları (% , Tüm Korlar)

Belirleyici	Değerlendirilen	En az	En Çok	Ortalama	Std.Sapma
P53	24	0.0	60.0	14.0	15.0
Ki67	23	0.0	60.0	12.8	14.5

4.3.3. Bifazik Mezotelyoma Olgularında İmmünhistokimyasal Bulgular

Bifazik mezotelyomada kullanılan mezotelyal belirleyicilerin (Kalretinin, CK5/6, WT1, D2-40, HBME1) ve keratinlerin boyanma performansları incelenmiştir. Bunların boyanma oranları Tablo 20' de gösterilmiştir.

Tablo 20 incelediğinde; bifazik mezotelyoma olgularında en düşük pozitiflik oranın % 23.5 ile D2-40' da olduğu, D2-40'dan sonra en düşük pozitiflik oranın ise % 68.6 ile WT1 ile elde edildiği görülmektedir. En yüksek pozitiflik oranı ise HMWCK ve LMWCK' dan sonra % 80.6 oranı ile CK5/6 ile elde edilmiştir.

Boyanma şiddeti açısından bakıldığında ise; HMWCK ve LMWCK en yüksek boyanma şiddeti ortancasına (3+) sahip immünhistokimyasal belirleyiciler olarak öne çıkmaktadırlar. Kalretinin, CK5/6 ve HBME1, 2+ şiddet ortancasına sahiptir. D2-40 boyanma şiddet ortancası ise negatif (-) olarak belirlenmiştir.

Değerlendirme sonucunda bifazik mezotelyoma olduğu tespit edilen örneklerde, değerlendirilebilen korlarda, epiteloid ve sarkomatoid alanlarda immünhistokimyasal belirleyicilerin gösterdikleri performanslar ayrı ayrı incelenmiş, epiteloid ve sarkomatoid alanların birlikte görüldüğü korlar ise ayrı değerlendirilmiştir. Elde edilen pozitiflik yüzdeleri ve şiddetleri ile birlikte, sırası ile Tablo 21 ve Tablo 22'de gösterilmiştir.

Tablo 22’ ye göre; bifazik mezotelyomada epiteloid alanları en yüksek pozitiflik oranı ile tespit eden immünhistokimyasal belirleyici % 100.0 ile Kalretinin iken, HBME1 % 65.7 ile en düşük boyanma oranına sahiptir.

Sarkomatoid alanlar açısından bakıldığında ise en yüksek pozitiflik oranı % 100.0 ile HBME1’ de olmasına karşın, HBME1 ile boyanan sadece 3 korda, sarkomatoid alanların ayırt edilmesi nedeni ile, HBME1, bu konuda yorum yapmak için yeterli bulunmamıştır. Bu nedenle HBME1 dışındaki immünhistokimyasal belirleyiciler içerisinde en yüksek pozitiflik oranı % 96.7 ile HMWCK ve % 95.2 ile LMWCK’ da gözlenmiştir. Bu 2 belirleyiciyi % 65.8 ile WT1 takip etmektedir. Epiteloid alanlarda yüksek boyanma yüzdesine sahip kalretinin ve CK5/6’ nın, sarkomatoid alanlarda pozitiflik oranlarının sırası ile % 40 ve % 40.9 olduğu dikkati çekmiştir. Kalretinin, CK5/6, D2-40 ve HBME1’ in boyanma şiddet ortancalarının negatif (-) çıkması dikkat çeken bir sonuçtur.

Çalışma kapsamında incelenen diğer immünhistokimyasal belirleyicilerin performansları Tablo 23’ de verilmiştir.

Tablo 20. Bifazik Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları (Gözlenen En Yüksek Şiddete Göre)

Belirleyici	Örnek Sayısı			Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᴪ		Ortanca Şiddet §
	Toplam	Kayıp*	İncelenen	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Kalretinin	51	11	40	2	5.0	8	21.1	5	13.2	13	34.2	12	31.6	**30**	**78.9**	**2**
CK5/6	51	11	40	4	10.0	7	19.4	8	22.2	9	25.0	12	33.3	**29**	**80.6**	**2**
HMWCK	51	11	40	2	5.0	-	-	2	5.3	8	21.1	28	73.7	**38**	**100.0**	**3**
LMWCK	51	11	40	2	5.0	1	2.6	3	7.9	4	10.5	30	78.9	**37**	**97.4**	**3**
WT1	51	14	37	2	5.4	11	31.4	11	31.4	8	22.9	5	14.3	**24**	**68.6**	**1**
D2-40	51	14	37	3	5.9	26	76.5	7	20.6	1	2.9	-	-	**8**	**23.5**	**(–)**
HBME1	51	11	40	1	2.5	10	25.6	4	10.3	11	28.2	14	35.9	**29**	**74.4**	**2**

Kayıp* : *Bu örnekler parafin bloklarının mevcut olmaması nedeni ile değerlendirilememiştir. İkinci değerlendirme sonucunda herhangi bir alt tipe sokulamayan 3 örnek de bu gruba alınmıştır.*

Değerlendirilemeyen†: *Bu örnekler dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır.*

ΣPozitifᴪ : *Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen (İncelenen – Bilinmiyor) örneklere oran.*

Ortanca Şiddet§ : *Skorların [(-), 1+, 2+, 3+] ortanca değeri, şiddet ortancası, (-):Şiddet ortancası negatif*

Tablo 21. Bifazik Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Epiteloid ve Sarkomatoid Alanların Birlikte Görüldüğü Korlarda İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları

Belirleyici	İncelenen Kor Sayısı	Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᴪ	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Kalretinin	72	6	8.3	18	27.3	10	15.2	20	30.3	18	27.3	**48**	**72.7**
CK5/6	80	8	10.0	15	20.8	18	25.0	19	26.4	20	27.8	**57**	**79.2**
HMWCK	83	8	9.6	2	2.7	9	12.0	27	36.0	37	49.3	**73**	**97.3**
LMWCK	92	9	9.8	3	3.6	11	13.3	23	27.7	46	55.4	**80**	**96.4**
WT1	37	2	5.4	11	31.4	11	31.4	8	22.9	5	14.3	**24**	**68.6**
D2-40	37	3	8.1	26	76.5	7	20.6	1	2.9	-	-	**8**	**23.5**
HBME1	85	8	9.4	23	29.9	8	10.4	24	31.2	22	28.6	**54**	**70.1**

İncelenen Kor Sayısı* : *Her materyalde farklı sayıda korda epiteloid ve sarkomatoid alanlar birarada görülmüştür.*

Değerlendirilemeyen† : *Bu örnekler dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır. % alınan kor sayısına oranını ifade etmektedir.*

ΣPozitifᴪ : *Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen (Alınan Kor Sayısı – Değerlendirilemeyen) örneklere oranı*

Tablo 22. Bifazik Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Tüm Korlar Değerlendirildiğinde İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Epiteloid ve Sarkomatoid Alanları Belirleme Performansları

Belirleyici	İncelenen*	Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitif$^{\Psi}$		Ortanca Şiddet§
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Epiteloid alanlar												
Kalretinin	26	-	-	5	19.2	13	50.0	8	30.8	**26**	**100.0**	**2**
CK5/6	28	3	10.7	7	25.0	6	21.4	12	42.9	**25**	**89.3**	**2**
HMWCK	18	1	5.6	-	-	2	11.1	15	83.3	**17**	**94.4**	**3**
LMWCK	14	-	-	-	-	-	-	14	100.0	**14**	**100.0**	**3**
WT1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**-**
D2-40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**-**
HBME1	35	12	34.3	10	28.6	7	20.0	6	17.1	**23**	**65.7**	**1**
Sarkomatoid alanlar												
Kalretinin	25	15	60.0	5	20.0	3	12.0	2	8.0	**10**	**40.0**	**(-)**
CK5/6	22	13	59.1	7	31.8	2	9.1	-	-	**9**	**40.9**	**(-)**
HMWCK	30	1	3.3	9	30.0	12	40.0	8	26.7	**29**	**96.7**	**2**
LMWCK	21	1	4.8	6	28.6	9	42.8	5	23.8	**20**	**95.2**	**2**
WT1	76	26	34.2	21	27.6	21	27.6	8	10.6	**50**	**65.8**	**1**
D2-40	74	49	66.2	21	28.4	4	5.4	-	-	**25**	**33.8**	**(-)**
HBME1	3	-	-	2	66.7	1	33.3	-	-	**3**	**100.0**	**(-)**

İncelenen* *: Alınan toplam kordan sonuç gözlenebilen korlarin sayısı.*

ΣPozitif$^{\Psi}$ *: Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve incelenen örneklere oranı.*

Ortanca Şiddet§ *: Skorların [(-), 1+, 2+, 3+] ortanca değeri, şiddet ortancası, (-):Şiddet ortancası negatif*

Tablo 23a. Bifazik Mezotelyomada Materyallerden Elde Edilen Tüm Korlar Değerlendirildiğinde Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Performansları

Belirleyici	Alınan Kor Sayısı	Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᵠ	
		n	%	n	%	n	%	N	%	n	%	n	%
TTF1	120	11	9.2	109	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
CEA(m)	120	13	10.8	107	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
CEA(p)	120	14	11.7	106	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
MOC31	120	14	11.7	105	99.1	1	0.9	-	-	-	-	**1**	**0.9**
EMA	120	17	14.2	21	20.4	37	35.9	33	32.0	12	11.7	**82**	**79.6**
GLUT1	120	17	14.2	54	52.4	28	27.2	20	19.4	1	1.0	**49**	**47.6**
BCL-2	120	14	11.7	105	99.1	1	0.9	-	-	-	-	**1**	**0.9**
ER	120	14	11.7	106	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**
CerbB2	120	20	16.7	68	68.0	31	31.0	1	1.0	-	-	**32**	**32.0**
Desmin	120	27	22.5	86	92.5	6	6.5	1	1.1	-	-	**7**	**7.5**
EGFR	120	14	11.7	97	91.5	4	3.8	2	1.9	3	2.8	**9**	**8.5**

Değerlendirilemeyen† *: Bu örnekler dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır. % alınan kor sayısına oranını ifade etmektedir.*

ΣPozitifᵠ***:*** *Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen (Alınan Kor Sayısı – Değerlendirilemeyen) örneklere oranı.*

Tablo 23b. Bifazik Mezotelyomada Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları (Gözlenen En Yüksek Şiddete Göre)

Belirleyici	Örnek Sayısı			Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᴪ		Ortanca Şiddet §
	Toplam	Kayıp*	İncelenen	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
TTF-1	51	8	43	-	-	43	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
CEA(m)	51	14	37	9	17.6	28	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
CEA(p)	51	7	44	2	3.9	42	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
MOC31	51	7	44	1	2.0	42	97.7	1	2.3	-	-	-	-	**1**	**2.3**	**(–)**
EMA	51	6	45	1	2.0	4	9.1	16	36.4	15	34.1	9	20.5	**40**	**90.9**	**2.0**
GLUT1	51	7	44	2	3.9	14	33.3	14	33.3	13	31.0	1	2.4	**28**	**66.7**	**1.0**
BCL-2	51	7	44	1	2.0	42	97.7	1		-	-	-	-	**1**	**2.3**	**(–)**
ER	51	7	44	1	2.0	43	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
CerbB2	51	7	44	1	2.0	18	41.9	24	55.8	1	2.3	-	-	**25**	**58.1**	**1.0**
Desmin	51	7	44	2	3.9	35	83.3	6	14.3	1	2.4	-	-	**7**	**16.7**	**(–)**
EGFR	51	7	44	1	2.0	36	83.7	3	7.0	1	2.3	3	7.0	**7**	**16.3**	**(–)**

Kayıp* : *Bu örnekler parafin bloklarının mevcut olmaması nedeni ile değerlendirilememiştir.*

Değerlendirilemeyen†: *Bu örnekler dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır.*

ΣPozitifᴪ : *Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen (İncelenen – Bilinmiyor) örneklere oran.*

Ortanca Şiddet§ : *Skorların [(-), 1+, 2+, 3+] ortanca değeri, şiddet ortancası, (-):Şiddet ortancası negatif*

P53 ve Ki67' nin bifazik mezotelyomadaki boyanma oranları Tablo 23' de gösterilmiştir.

Tablo 24. Bifazik Mezotelyomada P53 ve Ki67 Boyanma Oranları (% , Tüm Korlar)

Belirleyici	Değerlendirilen	En az	En Çok	Ortalama	Std.Sapma
P53	103	0.0	80.0	19.1	16.2
Ki67	91	0.0	30.0	9.5	8.7

4.3.4. Epiteloid Morfolojiye Sahip Diğer Tümör Türlerinde İmmünhistokimyasal Bulgular

Çalışma kapsamında kullanılan immünhistokimyasal belirleyicilerin, epiteloid morfolojiye sahip diğer tümör türlerindeki performanslarını belirleyebilmek amacı ile, akciğer adenokarsinomu, meme karsinomu, mide ve kolon adenokarsinomu, overin seröz karsinomundan oluşan toplam 47 örnek üzerinde immünhistokimyasal belirleyicilerin performansları incelendi. Malign mezotelyomada pozitif olduğu bilinen 7 farklı belirleyicinin performansı Tablo 25' de gösterilmiştir.

Tablo 25 incelediğinde; epiteloid morfolojiye sahip diğer tümör türlerinde en düşük pozitiflik oranın % 0.0 ile Kalretinin ve % 2.1 ile D2-40' da olduğu, en yüksek pozitiflik oranının ise, beklendiği gibi % 100.0 ile HMWCK ve % 97.9 ile LMWCK tarafından elde edildiği görülmektedir.

Boyanma şiddetleri açısından bakıldığında ise; 3+ şiddet ortancasına göre immünhistokimyasal belirleyicileri büyükten küçüğe doğru LMWCK, HMWCK, HBME1 ve WT1 olarak sıralanmaktadırlar. Kalretininin mezotelyoma dışında diğer tümör türlerinde pozitif sonuç göstermemesi dikkat çekici bir bulgudur.

Tablo 25. Diğer Tümörlerde İmmünhistokimyasal Belirleyici Performansları (Gözlenen En Yüksek Şiddete Göre)

	Örnek Sayısı			Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᴪ		Ortanca Şiddet §
Belirleyici	Toplam	Kayıp*	İncelenen	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Kalretinin	47	0	47	0	0.0	47	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**	**(–)**
CK 5/6	47	0	47	0	0.0	40	85.1	5	10.6	2	4.3	-	-	**7**	**14.9**	**(–)**
HMWCK	47	0	47	0	0.0	-	-	1	2.1	12	25.5	34	72.4	**47**	**100.0**	**3**
LMWCK	47	0	47	0	0.0	1	2.1	1	2.1	5	10.6	39	83.1	**46**	**97.9**	**3**
WT1	47	0	47	0	0.0	43	91.5	-	-	1	2.1	3	6.4	**4**	**8.5**	**(–)**
D 2/40	47	0	47	0	0.0	46	97.9	1	2.1	-	-	-	-	**1**	**2.1**	**(–)**
HBME1	47	0	47	0	0.0	33	70.2	5	10.6	2	4.3	7	14.9	**14**	**29.8**	**(–)**

Değerlendirilemeyen†: *Bu örnekler dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır.*

ΣPozitifᴪ ***:*** *Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen (İncelenen – Bilinmiyor) örneklere oranı.*

Ortanca Şiddet§ ***:*** *Skorların [(-), 1+, 2+, 3+] ortanca değeri, şiddet ortancası, (-):Şiddet ortancası negatif*

Tablo 26. Diğer Tümör Türleri Değerlendirildiğinde Diğer İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Performansları

Belirleyici	Örnek Sayısı	Değerlendirilemeyen†		Negatif		1+		2+		3+		Σ Pozitifᴪ	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TTF1	47	-	-	30	63.8	-	-	3	6.4	14	29.8	**17**	**36.2**
CEA(m)	47	-	-	20	42.6	7	14.9	4	8.5	16	34.0	**27**	**57.4**
CEA(p)	47	1	2.1	11	23.9	6	13.1	7	15.2	22	47.8	**35**	**76.1**
MOC31	47	1	2.1	13	28.3	9	19.5	7	15.2	17	37.0	**33**	**71.7**
EMA	47	2	4.3	1	2.2	6	13.3	9	20.0	29	64.5	**44**	**97.8**
GLUT1	47	-	-	28	59.6	12	25.5	7	14.9	-	-	**19**	**40.4**
BCL-2	47	-	-	39	83.0	3	6.4	5	10.6	-	-	**8**	**17.0**
ER	47	1	2.1	35	76.1	2	4.3	5	10.9	4	8.7	**11**	**23.9**
CerbB2	47	3	6.4	15	34.1	19	43.2	7	15.9	3	6.8	**29**	**65.9**
Desmin	47	1	2.1	46	100.0	-	-	-	-	-	-	**-**	**-**

Değerlendirilemeyen† *: Bu örnekler dökülme, uygun tümör alanının bulunmaması gibi nedenlerle değerlendirmeye alınmamıştır.*

ΣPozitifᴪ *: Pozitif (1+, 2+, 3+) sonuçların toplamı ve değerlendirilebilen (Örnek sayısı– Bilinmiyor) örneklere oranı.*

P53 ve Ki67 belirleyicilerinin diğer tümör türlerindeki boyanma oranları Tablo 26'da gösterilmiştir.

Tablo 27. Diğer Tümör Türlerinde P53 ve Ki67 Boyanma Oranları (%)

Belirleyici	Değerlendirilen	En az	En Çok	Ortalama	Std.Sapma
P53	46	0.0	90.0	31.0	33.8
Ki67	39	0.0	50.0	11.0	13.4

4.4. İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRLEYİCİLERİN DUYARLILIK VE SEÇİCİLİKLERİ

Çalışma kapsamında en sık kullanılan 7 farklı belirleyicinin malign mezotelyomayı diğer tümörlerden ayırmadaki duyarlılık ve seçicilik performansları incelenmiştir. Duyarlılık ve seçicilik hesaplamaları için altın standart test olarak patoloji kesin tanıları kullanılmıştır. İncelenen örneklerin tamamı malign mezotelyoma olduğundan, aynı immünhistokimyasal belirleyicilerin uygulandığı diğer tümör türlerinden oluşan 47 korluk örneklem kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Örnek olarak malign mezotelyomada kalretinin tümör boyasının duyarlılık ve seçicilik değerlerini belirleyebilmek amacı ile pozitif ve negatif boyama sonuçları değerlendirilmiştir. Değerlendirilemeyen örnekler bu hesaplamanın dışında bırakılmıştır. Örnek belirleyicimizin duyarlılık ve seçicilik değerlerini belirleyebilmek için hazırlanan çapraz tablo aşağıda görüldüğü gibi oluşturulmuştur (Tablo 28).

Tablo 28. Kalretininin İçin Örnek Duyarlılık ve Seçicilik Hesap Değerleri

		Malign Mezotelyoma (MM)		
		Pozitif	Negatif	**Toplam**
Kalretinin	Pozitif	214	0	**214**
	Negatif	35	47	**82**
	Toplam	**249**	**47**	**296**

$$Duyarlılık = \frac{MM\ ve\ Kalretinin\ \ pozitif}{MM\ \ pozitif} * 100 = \frac{214}{249} * 100 = 85.9$$

$$Seçicilik = \frac{MM\ ve\ Kalretinin\ negatif}{MM\ negatif} * 100 = \frac{47}{47} * 100 = 100.0$$

$$PPV = \frac{MM\ ve\ Kalretinin\ pozitif}{Kalretinin\ pozitif} * 100 = \frac{214}{214} * 100 = 100.0$$

$$NPV = \frac{MM\ ve\ Kalretinin\ negatif}{Kalretinin\ \ negatif} * 100 = \frac{47}{82} * 100 = 57.3$$

$$Doğruluk\ Oranı = \frac{Doğru\ pozitif + Doğru\ \ negatif}{Genel\ Toplam} * 100 = \frac{214 + 47}{296} * 100 = 88.2$$

Tablo 28' deki kalretininin pozitif sonuç verdiği 214 kor malign mezotelyoma olgularıdır. Kalretininin yanlış pozitif sonuç verdiği kor olmamıştır. Malign mezotelyoma özelliğindeki 249 korun 35'i ise kalretinin ile boyanmamıştır. Bu durumda kalretinin duyarlılığı % 85.9 iken seçiciliği % 100.0 olarak hesaplanabilir.

4.4.1. Epiteloid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Duyarlılık ve Seçicilikleri

Bölüm 4.4'de anlatılan hesaplama yöntemi sık kullanılan 7 belirleyici (HMWCK, LMWCK, Kalretinin, CK5/6, WT1, D2-40, HBME1) için uygulanmış ve elde edilen duyarlılık ve seçicilik değerleri Tablo 29a' da verilmiştir.

Tablo 29a. Epiteloid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Duyarlılık, Seçicilik ve Diğer Değerleri

Belirleyici	Duyarlılık	Seçicilik	PPV	NPV	Doğruluk
Kalretinin	85.9	100.0	100.0	57.3	88.2
CK 5/6	93.5	85.1	97.0	71.4	92.1
HMWCK	96.4	0.0	83.5	0.0	81.0
LMWCK	96.4	2.2	84.2	10.0	81.7
WT1	85.3	91.5	98.2	53.8	86.3
D 2/40	59.6	97.9	99.3	32.2	65.9
HBME1	87.8	70.2	93.9	52.4	84.9

PPV: *Pozitif beklenen değer* ***NPV:*** *Negatif beklenen değer*

Doğruluk: *Genel doğruluk oranı, testin doğru pozitif ve doğru negatif değerlerinin tüm gözlemlere oranı*

Tablo 29a incelendiğinde; epiteloid mezotelyomada en yüksek duyarlılık değerleri % 96.4 ile HMWCK ve LMWCK' ya aittir. En yüksek seçicilik değeri ise % 100.0 ile kalretinin ve % 97.9 ile D2-40 belirleyicisinden elde edilmiştir. En yüksek doğruluk oranlarını ise % 92.1 ile CK5/6 ve % 88.2 ile kalretinin göstermiştir.

Epiteloid mezotelyomada en düşük duyarlılık % 59.6 ile D2-40'a aitken, en düşük seçicilik ise % 0.0 ile HMWCK ve % 2.2 ile LMWCK tarafından verilmektedir.

Epiteloid mezotelyomada kullandığımız iki belirleyiciyi birarada kullanmanın getirebileceği kazanımları görebilmek amacı ile duyarlılığı ve seçiciliği en yüksek ve

en düşük olan tümör boyalarından çeşitli kombinasyonlarla modeller oluşturuldu. Bu şekilde elde edilebilecek duyarlılık, seçicilik değerleri Tablo 29b'da gösterilmiştir.

Tablo 29b. Epiteloid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Birlikte Kullanımı ile Elde Edilen Duyarlılık ve Seçicilik Değerleri

Belirleyici Kombinasyonları		Duyarlılık	Seçicilik	PPV	NPV	Doğruluk
HMWCK	**LMWCK**	100.0	2.2	83.9	100.0	84.0
LMWCK	**Kalretinin**	89.4	100.0	100.0	65.2	91.1
CK 5/6	**WT1**	89.9	71.4	99.0	18.5	89.3
CK 5/6	**Kalretinin**	90.3	100.0	100.0	25.0	90.6

PPV: *Pozitif beklenen değer* ***NPV:*** *Negatif beklenen değer*

Doğruluk: *Genel doğruluk oranı, testin doğru pozitif ve doğru negatif değerlerinin tüm gözlemlere oranı*

4.4.2. Sarkomatoid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Duyarlılık ve Seçicilikleri

Mezotelyal belirleyicilerin (HMWCK, LMWCK, Kalretinin, CK5/6, WT1, D2-40, HBME1) duyarlılık ve seçiciliklerini hesaplama işlemleri sarkomatoid mezotelyoma için de gerçekleştirilmiştir (Tablo 30a).

Tablo 30a. Sarkomatoid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Duyarlılık, Seçicilik ve Diğer Değerleri

Belirleyici	Duyarlılık	Seçicilik	PPV	NPV	Doğruluk
Kalretinin	21.9	100.0	100.0	65.3	68.4
CK 5/6	18.8	85.1	46.2	60.6	58.2
HMWCK	90.9	0.0	39.0	0.0	37.5
LMWCK	83.9	2.2	36.6	16.7	35.1
WT1	27.3	91.5	69.2	64.2	65.0
D 2/40	12.9	97.9	80.0	63.0	64.1
HBME1	19.4	70.2	30.0	56.9	50.0

PPV: *Pozitif beklenen değer* ***NPV:*** *Negatif beklenen değer*

Doğruluk: *Genel doğruluk oranı, testin doğru pozitif ve doğru negatif değerlerinin tüm gözlemlere oranı*

Tablo 30a incelendiğinde; sarkomatoid mezotelyomada en yüksek duyarlılık değerleri % 90.9 ve % 83.9 ile HMWCK ve LMWCK' ya aittir. En yüksek seçicilik değeri ise % 100.0 ile kalretinin ve % 97.9 ile D2-40 belirleyicisinden elde edilmiştir. En yüksek doğruluk oranları ise % 68.4 ile kalretinin ve % 65.0 ile WT1 tarafından gerçekleştirilmiştir.

Epiteloid mezotelyomada kullandığımız iki immünhistokimyasal belirleyiciyi birlikte kullanma sonucu oluşan duyarlılık ve seçicilik değerleri sarkomatoid mezotelyoma için de belirlenmiştir (Tablo 30b).

Tablo 30b. Sarkomatoid Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Birlikte Kullanımı ile Elde Edilen Duyarlılık ve Seçicilik Değerleri

Belirleyici Kombinasyonları		Duyarlılık	Seçicilik	PPV	NPV	Doğruluk
HMWCK	**LMWCK**	89.3	0.0	35.7	0.0	34.2
Kalretinin	**LMWCK**	85.7	100	100.0	0.0	85.7
CK 5/6	**WT1**	83.3	71.4	71.4	83.3	76.9
CK 5/6	**Kalretinin**	66.7	100.0	100.0	77.8	84.6

PPV: *Pozitif beklenen değer* ***NPV:*** *Negatif beklenen değer*

Doğruluk: *Genel doğruluk oranı, testin doğru pozitif ve doğru negatif değerlerinin tüm gözlemlere oranı*

4.4.3. Bifazik Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Duyarlılık ve Seçicilikleri

Epiteloid ve sarkomatoid mezotelyomada immünhistokimyasal belirleyiciler için yapılan duyarlılık ve seçicilik hesaplamaları bifazik mezotelyoma için de gerçekleştirilmiştir (Tablo 31a).

Tablo 31a. Bifazik Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Duyarlılık, Seçicilik ve Diğer Değerleri

Belirleyici	Duyarlılık	Seçicilik	PPV	NPV	Doğruluk
Kalretinin	72.7	100.0	100.0	72.3	84.1
CK 5/6	79.2	85.1	89.1	72.7	81.5
HMWCK	97.3	0.0	60.8	0.0	59.8
LMWCK	96.4	2.2	64.0	25.0	62.8
WT1	68.6	91.5	85.7	79.6	81.7
D 2/40	23.5	97.9	88.9	63.9	66.7
HBME1	70.1	70.2	79.4	58.9	70.2

PPV: *Pozitif beklenen değer* ***NPV:*** *Negatif beklenen değer*

Doğruluk: *Genel doğruluk oranı, testin doğru pozitif ve doğru negatif değerlerinin tüm gözlemlere oranı*

Tablo 31a incelendiğinde; bifazik mezotelyomada en yüksek duyarlılık değerleri % 97.3 ve % 96.4 ile HMWCK ve LMWCK' ya aittir. En yüksek seçicilik değeri ise % 100.0 ile kalretinin ve % 97.9 ile D2-40 ile elde edilmiştir. En yüksek doğruluk oranları ise % 84.1 ile kalretinin ve % 81.5 ile CK5/6 'ya aittir.

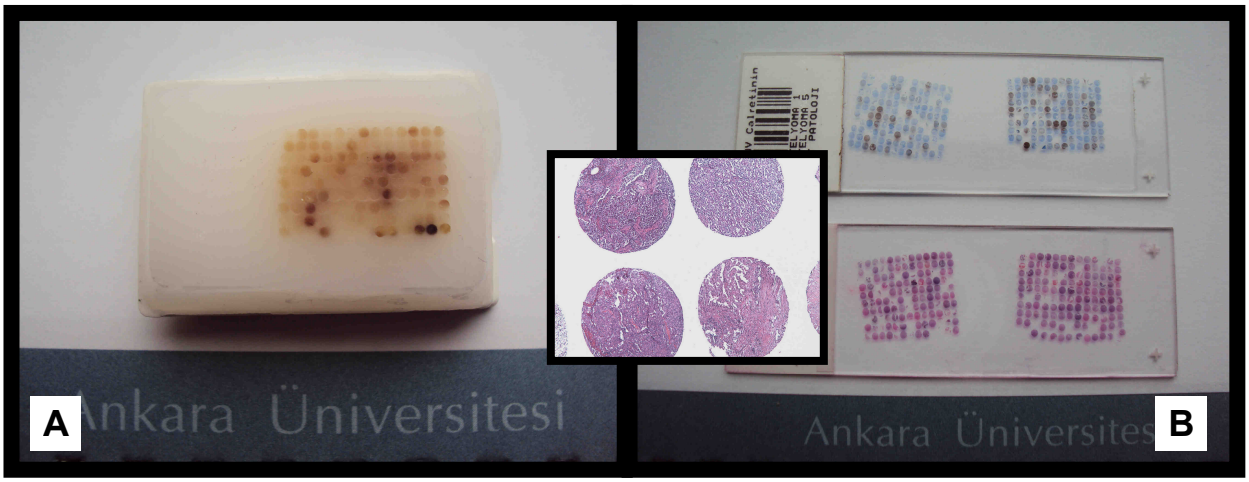
İki belirleyiciyi birlikte kullanma sonucu oluşan duyarlılık ve seçicilik değerleri bifazik mezotelyoma için Tablo 31b' de verilmiştir.

Tablo 31b. Bifazik Mezotelyomada İmmünhistokimyasal Belirleyicilerin Birlikte Kullanımı ile Elde Edilen Duyarlılık ve Seçicilik Değerleri

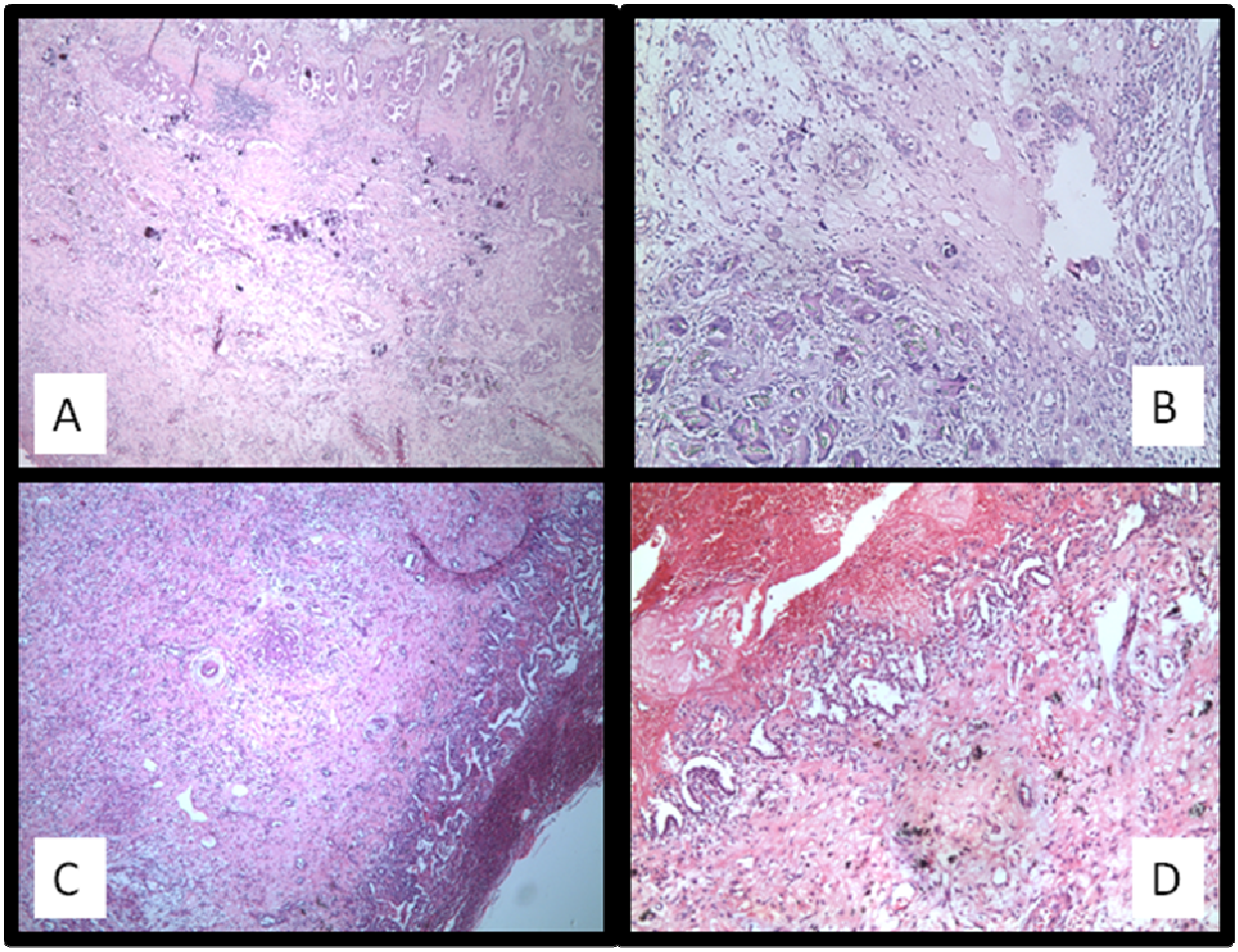
Belirleyici Kombinasyonları		Duyarlılık	Seçicilik	PPV	NPV	Doğruluk
HMWCK	**LMWCK**	98.6	2.2	61.5	50.0	61.3
LMWCK	**Kalretinin**	75.0	100.0	100.0	73.8	85.3
CK 5/6	**WT1**	81.0	71.4	89.5	55.6	78.6
CK 5/6	**Kalretinin**	89.1	100.0	100.0	58.3	90.6

PPV: *Pozitif beklenen değer* ***NPV:*** *Negatif beklenen değer*

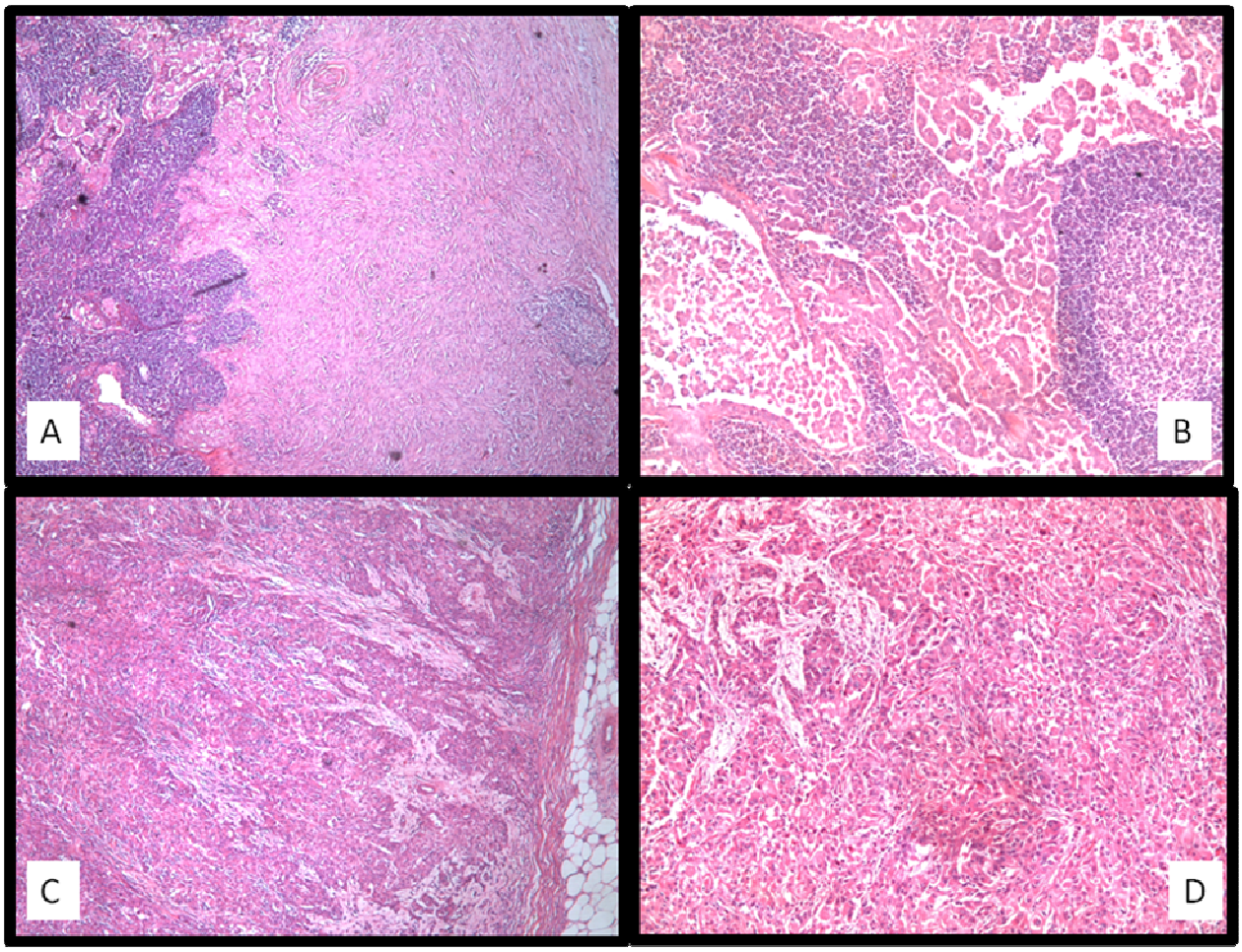
Doğruluk: *Genel doğruluk oranı, testin doğru pozitif ve doğru negatif değerlerinin tüm gözlemlere oranı*



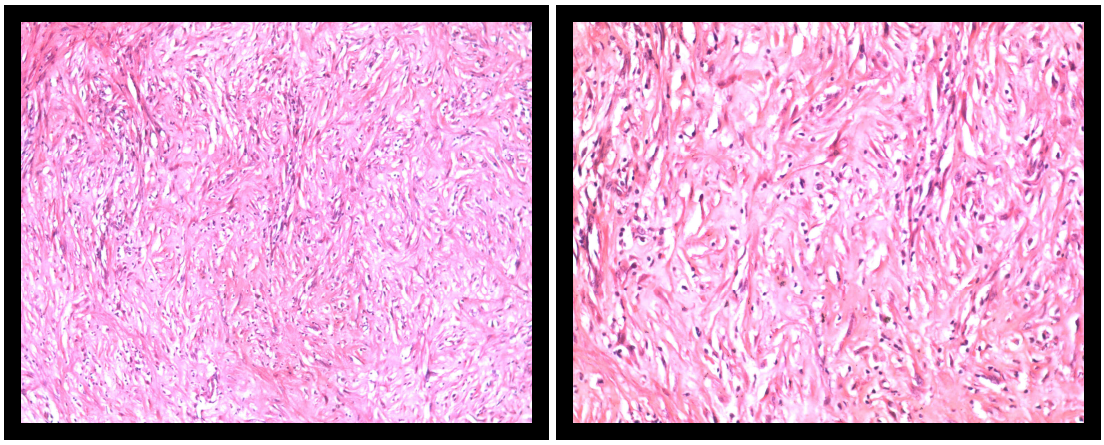
Resim 1. *A*-MA bloğu, *B*-H&E ve İHK boyalı camlar, *Küçük Resim*-H&E kesitler



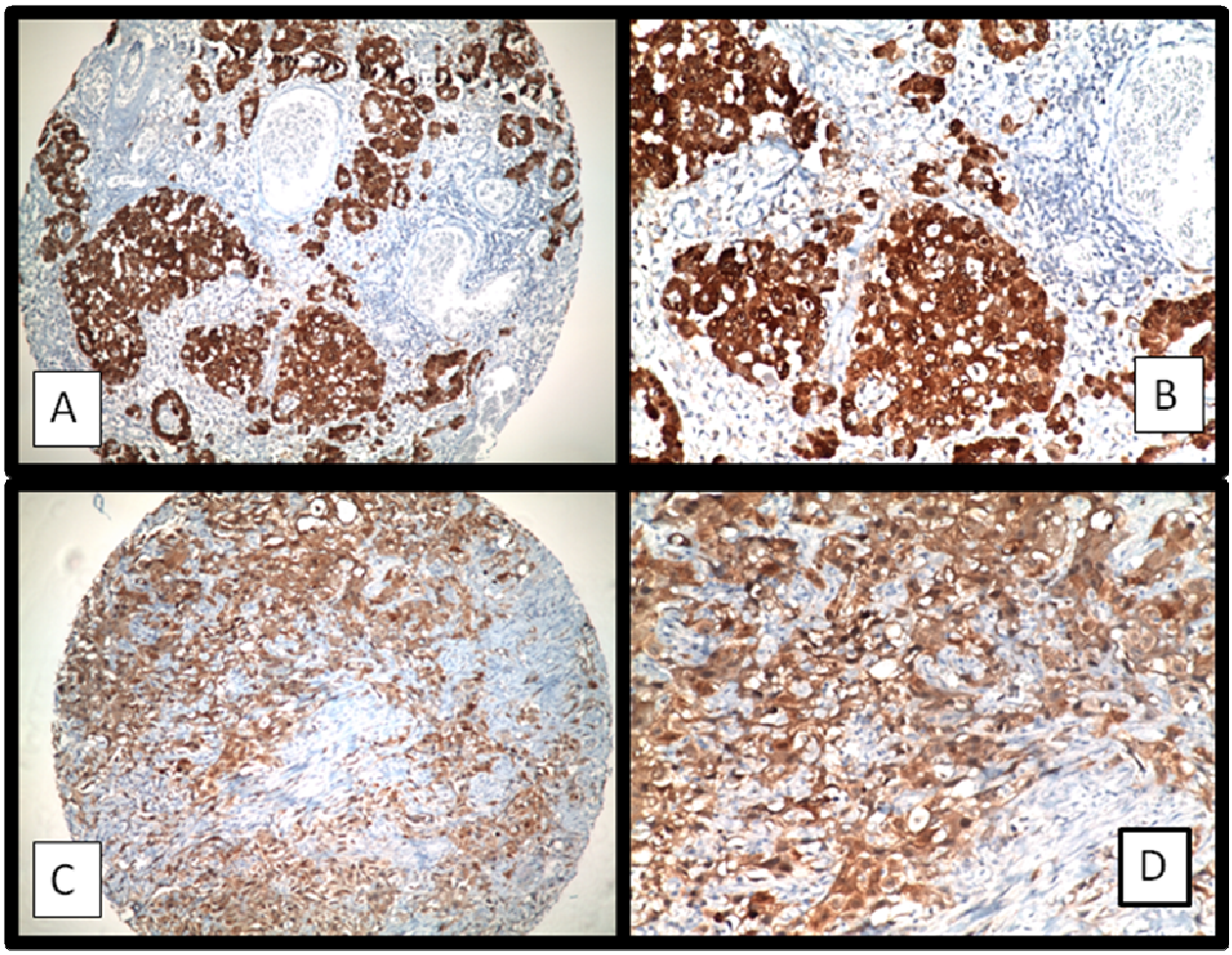
Resim 2. Plörodezis uygulamalarına bağlı yabancı cisim reaksiyonu *A,B*-P.29409.05; *C,D*- 24568.02



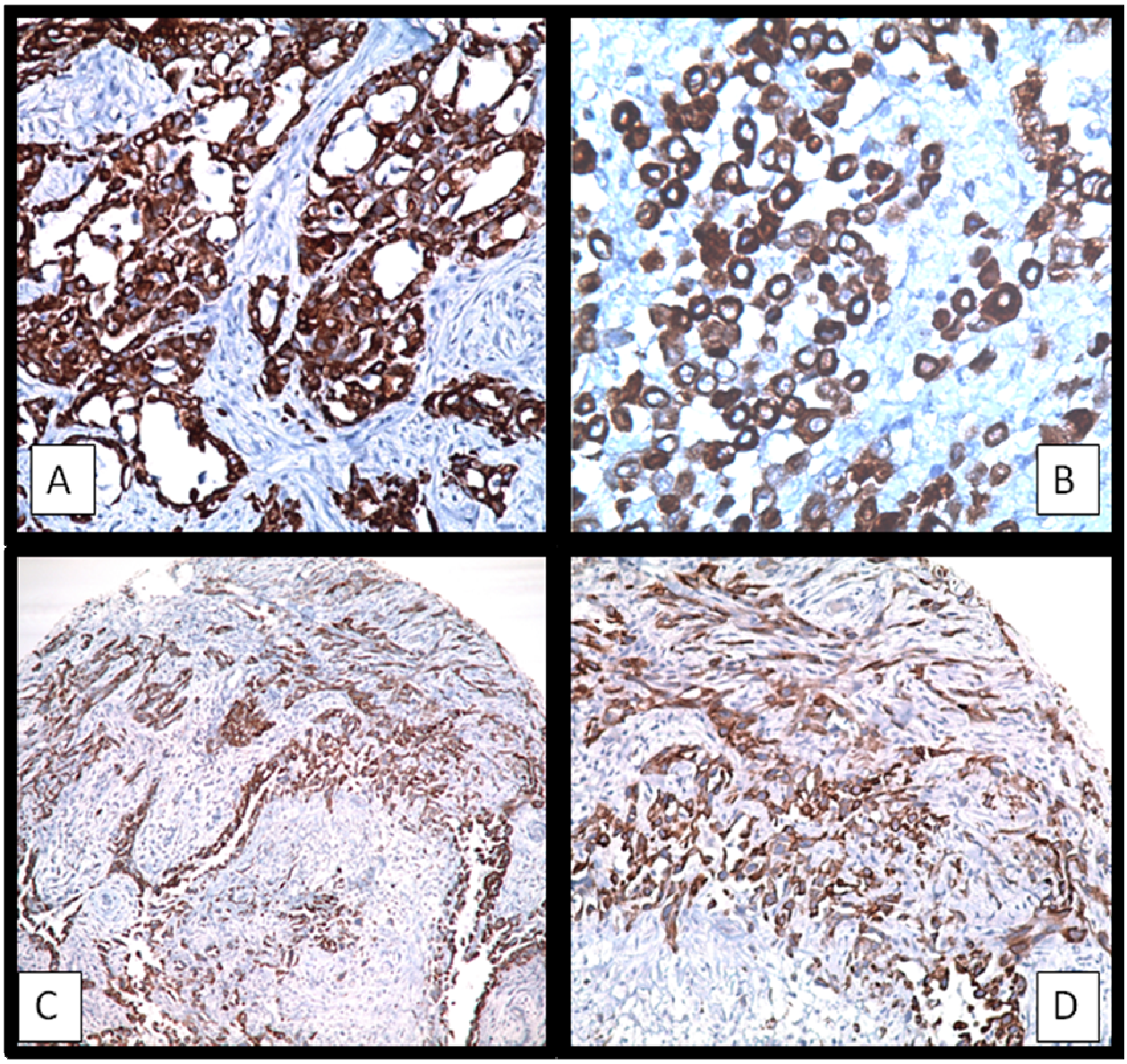
Resim 3. *A,B*- Bifazik malign mezotelyoma olgusunda lenf nodülü metastazının epiteloid (A) ve sarkomatoid (B) alanları (31491.00); *C,D*- Bifazik malign mezotelyoma olgusunda sadece epiteloid alanlardan oluşan lenf nodülü metastazı (BB0816)



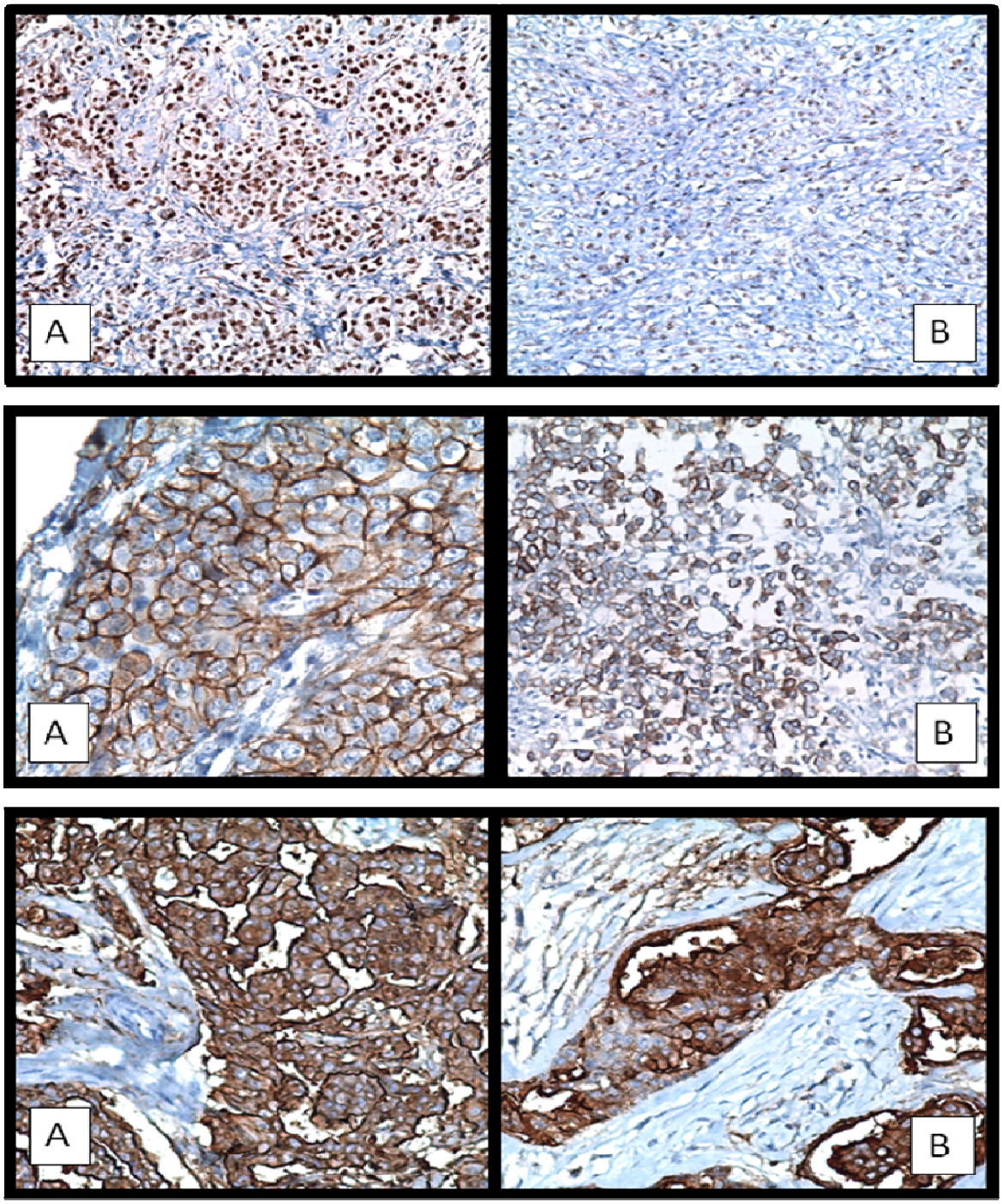
Resim 4. Dezmoplastik mezotelyoma (P.21834.01)



Resim 5. Mezotelyoma olgularında kalretinin ekspresyonları. *A,B*- Epiteloid mezotelyoma (P.26513.05); *C,D*- Epiteloid mezotelyoma (P.29718.05)



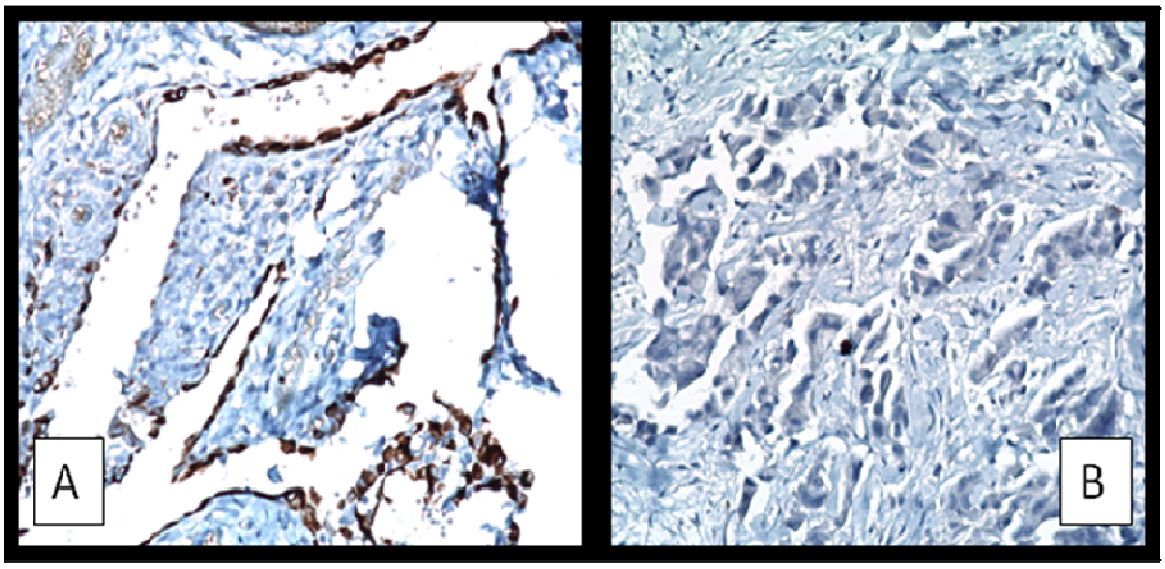
Resim 6. Mezotelyoma olgularında CK5/6 ekspresyonları. *A*, Epiteloid mezotelyoma (21695.01); *B*, Epiteloid mezotelyoma (14034.98); *C,D*-Bifazik mezotelyoma (17655.97);



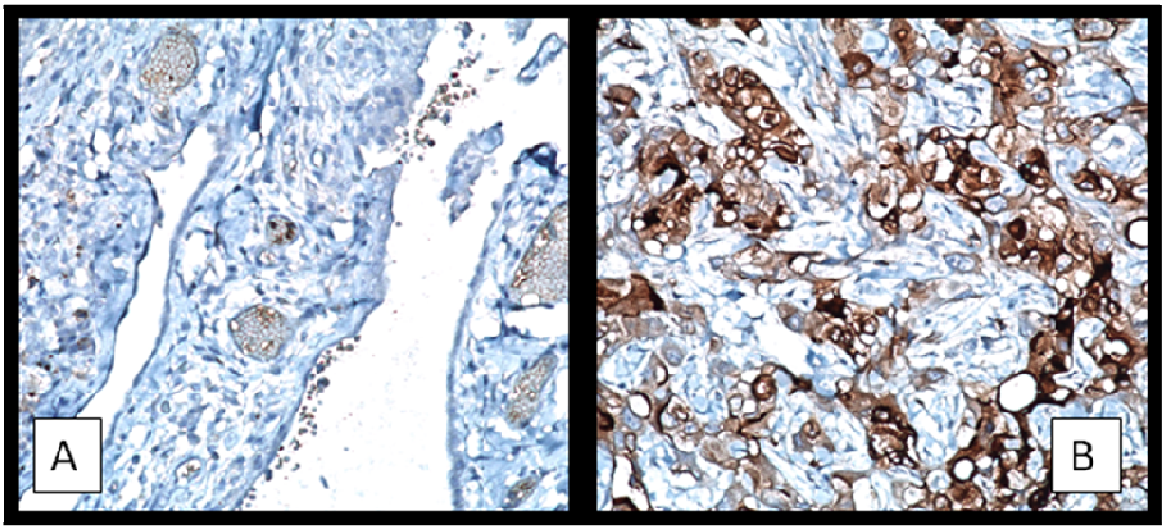
Resim 7. Mezotelyoma olgularında WT1 ekspresyonları. *A*- Epiteloid mezotelyoma (28325.00); *B*- Sarkomatoid mezotelyoma (18385.99)

Resim 8. Mezotelyoma olgularında D2-40 ekspresyonları. *A*- Epiteloid mezotelyoma (28325.00); *B*- Epiteloid mezotelyoma (26601.01)

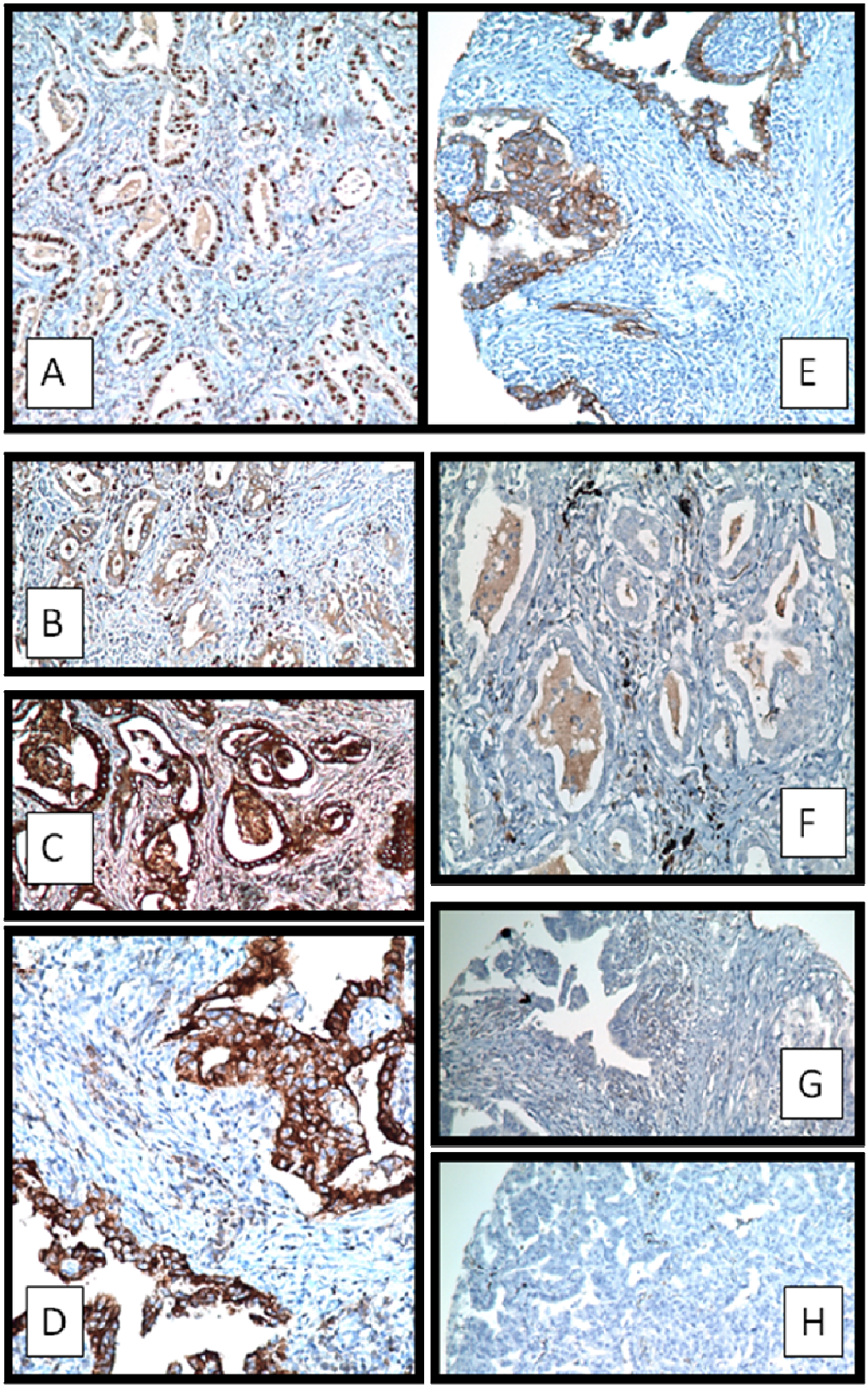
Resim 9. Mezotelyoma olgularında HBME1 ekspresyonları. *A*- Epiteloid mezotelyoma (25603.00); *B*- Bifazik mezotelyoma (P.26409.05)



Resim 10. Desmin *A*- Reaktif mezotel proliferasyonu (P.19652.08); *B*- Epiteloid mezotelyoma (21695.01)



Resim 11. EMA *A*- Reaktif mezotel proliferasyonu (P.19652.08); *B*- Epiteloid mezotelyoma (32203.03)



Resim 12. Akciğer adenokarsinomu (P.03314.08) immünprofili. *A*- TTF1; *B*- CEA (p); *C*- CEA (m); *D*- EMA; *E*- MOC31; *F*- WT1; *G*- CK5/6; *H*- Kalretinin

5. TARTIŞMA

Plevra'da en sık metastatik tümörler görülmekle birlikte, endüstrileşmiş ülkelerde asbestin kullanımına paralellik göstermektir (2). Malign mezotelyoma batı ülkelerinde sıklıkla meslek hastalığı olarak görülürken, Türkiye'de genellikle asbest ve erionitin çevresel maruziyetine bağlı olarak ortaya çıkmakta ve dolayısıyla önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır (94). Ülkemiz endemik asbest maruziyetinin en yüksek oranda görüldüğü ülkedir (3). Ülkemizin güneydoğu bölgesinde, özellikle Diyarbakır, Elazığ ve Şanlıurfa civarında bu maruziyet görülmektedir. Bu bölgelerde serpentin, amfibol ve talk maruziyeti söz konusudur. Asbest içeren materyal evlerde zemin ve duvar boyamasında kullanılmakta olup bu işlem her yıl tekrarlanmaktadır. Böylece bölge halkında sürekli bir asbest maruziyeti söz konusudur. Ayrıca Kapadokya bölgesindeki volkanik küllerde erionit bulunmaktadır. Erionitin karsinojenik aktivitesi krisotil ve krokidolite göre çok daha fazladır (94).

Malign mezotelyomanın yaş ortalaması genel olarak 60 ile 72 yaşları arasında bildirilmektedir (95, 96, 97, 98, 99). Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise bu ortalama 50- 62 yaşları arasında değişmekte ve malign mezotelyomanın görüldüğü yaş aralıkları 26 ile 90 yaş olarak belirtilmektedir (100, 101). Yine ülkemizde yapılan bir çalışmada Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Medikal Onkoloji Bölümlerinde son 20 yıldır takip edilen malign mezotelyoma olgularının yaş ortalaması 50.6 olarak tesbit edilmiş, hastaların en gencinin 19 yaşında olduğu bildirilmiştir (102). Bizim çalışma grubumuzda en genç yaş 20, en ileri yaş 86 olarak tesbit edilmiş, ortalama yaş 54 olarak bulunmuştur. Cinsiyetler ve histolojik alt tipler arasında malign mezotelyomanın görüldüğü yaş ortalaması açısından anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Gerek yaş ortalaması, gerekse yaş aralıkları açısından, çalışmamızda tesbit ettiğimiz rakamlar ülkemizde saptanan ve bildirilen malign mezotelyoma olgularıyla benzer özelikte olup, dünya literatürüne göre düşük değerlerdedir. Bunun nedeninin de erken yaşta başlayan, mesleki olmayan, asbest ya da erionit maruziyeti olduğu düşünülmektedir.

Cinsiyet oranlarına bakıldığında değişik serilerde erkek / kadın oranının ortalama 4 / 1 olduğu gösterilmiş (95, 96, 97, 98), hatta Japonya' da 65 vakayı içeren bir çalışmada olguların sadece 5' inin kadın olduğu bildirilmiştir (99). Türkiye' deki malign mezotelyoma olgularını kapsayan çalışmalarda da yine erkek baskınlığı gözlenmekle birlikte, erkek / kadın oranlarının birbirine yaklaştığı bildirilmiştir (101, 102). 100 olguyu içeren bir çalışmada ise hastaların 51' i kadın, 49' unun erkek olduğu gösterilmiştir (100). Bizim serimizdeki 228 hastanın % 36.4'ü kadın, % 63.2'si erkektir. Erkek/kadın oranı 1.73/1 olarak tesbit edilmiştir. Bu oran epiteloid, bifazik ve sarkomatoid mezotelyomalarda da belirgin farklılık göstermemektedir. Çalışma grubumuzda 30 yaş ve altı 4 vaka (3 kadın, 1 erkek) bulunmaktadır. Literatürdeki bulgular da buna benzerdir. Kadınların gerek tanı, gerekse cerrahi tedavi sırasında, erkeklere göre daha genç yaşta oldukları tesbit edilmiştir. Bazı yayınlara göre kadın olmanın iyi prognostik faktörlerden biri olarak gösterilmesinin sebebi de bu olabilir (103, 104).

Malign mezotelyomalar içinde yaklaşık % 50 oranla en sık karşılaşılan tip epiteloid mezotelyomadır (14, 20). Epiteloid mezotelyomayı, yaklaşık % 30 oranla bifazik, % 15-20 oranıyla da sarkomatoid mezotelyoma izler (14). Çalışma grubumuzdaki 228 vakanın 148'i (% 64.9) epiteloid, 51'i (% 22.4) bifazik, 26'sı (% 11.4) ise sarkomatoid mezotelyoma niteliğindedir. Pinton ve arkadaşlarının İtalya'da yaptığı bir çalışmada epiteloid mezotelyomanın oranını % 73.1, bifazik mezotelyomanın oranını % 17.9 ve sarkomatoid alt tipin oranınını ise % 9 olarak tesbit etmiştir (103). Boston' da yapılan başka bir çalışmada bu oranlar sırasıyla % 63, % 33 ve % 3 olarak bildirilmiştir (105). Tanrıkulu ve arkadaşlarının Diyarbakır' da tedavi ve takip edilen ve % 80' inde asbest maruziyeti bulunduğu bilinen 363 malign mezotelyoma olgusunu dahil ettikleri çalışmada, olguların % 71.2' si epiteloid, % 15.9' u bifazik, % 4.9' u sarkomatoid mezotelyoma olarak tanı almış, % 7.9' unda alt tip ayrımına gidilememiştir (102). Eskişehir kaynaklı 100 olguluk bir seride ise asbest maruziyeti hastaların 85'inde bildirilmiş; epiteloid mezotelyoma oranı % 48, bifazik mezotelyoma oranı % 18, sarkomatoid mezotelyoma oranı ise % 11 olarak saptanmıştır (100). Gülmez ve arkadaşlarının İç Anadolu' da saptanan malign mezotelyoma olgularını değerlendiren çalışmasında, hastaların % 50' sinde erionit maruziyeti saptanmıştır. Olguların % 89.5' i epiteloid, % 5.9' u sarkomatoid

ve % 4.4' ü bifazik mezotelyoma olarak tanı almıştır (106). Bu değerlerden görüldüğü gibi batı ülkeleri ve ülkemizde malign mezotelyomanın histolojik alt tip dağılımı arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Asbest ve erionit maruziyetinin malign mezotelyoma insidansını arttırdığı bilinmektedir (3, 4), ancak mevcut oranlar maruziyet öyküsünün histolojik alt tip dağılımını belirgin olarak etkilemediğini göstermektedir. Malign mezotelyoma alt tip tanısını etkileyebilecek başka bir özellik de materyalin tipi, başka bir deyişle materyalin boyutudur. Çalışmamızda, bifazik mezotelyoma oranının, bölümüze biyopsi olarak gönderilen materyallerde % 19.7 iken, plöropnömonektomi ve dekortikasyon materyallerinde bu oranın % 40' a yükseldiği tesbit edilmiştir. Literatürde sadece plevral biyopsilerden oluşan ya da büyük oranda plevral biyopsi içeren serilerde bifazik mezotelyoma oranı % 15.9, % 17.9 gibi değerlerde iken (100, 103); sadece dekortikasyon ve plöropnömonektomi materyallerinden oluşan bir çalışma grubunda bu oranın % 21.4' e (97), büyük oranda dekortikasyon ve plöropnömonektomi materyali içeren başka bir çalışmada % 34.4' e çıktığı gözlenmiştir (107). Andrion ve arkadaşlarının, malign mezotelyomanın alt tiplendirmesinde patologlar arası uyumsuzluğu etkileyen özellikleri araştıran çalışmasında, biyopsi materyallerinde % 22 olarak tesbit edilen bifazik histolojik alt tip oranının büyük cerrahi materyallerde % 41' e çıktığı gösterilmiştir (108). Bu oran bizim çalışmamızda elde etiğimiz sonuçla uyumlu niteliktedir. Bifazik malign mezotelyoma, epiteloid ve sarkomatoid alanları birlikte içeren bir histolojik alt tipdir. Tanının konulabilmesi için, her iki komponentin de tümörün en az % 10'nu oluşturması gerekmektedir (14). Tümörün daha fazla sayıda örneklenmesi ile bifazik malign mezotelyoma oranı da artış gösterir (15). Gerek bizim çalışmamızda elde ettiğimiz oranlar, gerekse literatürde bildirilen değerler bu bilgiyi doğrulamaktadır. Materyalin boyutu, dolayısı ile alınan örnek sayısı arttıkça bifazik malign mezotelyoma tanısını verme oranı da artış göstermektedir.

Dezmoplastik malign mezotelyoma tüm malign mezotelyomaların yaklaşık % 5' ini oluşturmaktadır (21). Sarkomatoid mezotelyoma klasifikasyonu içinde de yer almasına karşın WHO 2004 klasifikasyonunda ayrı bir grup olarak ele alınmıştır (15, 20). Dezmoplastik malign mezotelyoma, storiform ya da "patterni olmayan pattern" şeklinde organizasyon gösteren, atipik hücrelerle birbirinden ayrılan ve tümörün en az % 50'sini oluşturan yoğun kollajen demetleri ile karakterizedir (14, 20). Bizim

serimizde 26 olgudan oluşan sarkomatoid mezotelyoma grubu içerisinde 2 vakanın morfolojisi dezmoplastik mezotelyoma ile uyumlu nitelikler taşımaktadır. Her iki vakada da benzer özellikler saptanmıştır. Bu özellikler yoğun kollajen demetleri içinde dağınık olarak izlenen, elonge, hiperkromatik nükleuslu, atipisi çok da göze çarpmayan hücrelerden ibarettir. Her iki vaka da bölümüze plevra biyopsisi şeklinde gönderilmiş ve sarkomatoid mezotelyoma şeklinde raporlanmıştır. Klebe ve arkadaşlarının 326 sarkomatoid mezotelyoma olgusuyla yaptığı bir çalışmada dezmoplastik mezotelyoma sarkomatoid mezotelyoma klasifikasyonu içinde ele alınmıştır. Tümörün en az % 50' sini kollajenöz stroma oluşturuyorsa, o tümöre "Dezmoplastik Mezotelyoma" denmiş, eğer % 10 ile % 50 arasında kolajen lif içeriyorsa "Dezmoplastik Alanlar İçeren Sarkomatoid Mezotelyoma" grubu içerisine dahil edilmiştir. 110 vaka (% 34) dezmoplastik alanlar içeren sarkomatoid mezotelyoma olarak tanımlanırken, 70 vaka (% 21) dezmoplastik mezotelyoma olarak isimlendirilmiştir. Bu olguların çoğu operasyon materyali ya da otopsi spesmeni özelliğindedir (109). Yine büyük oranda otopsi örneklerinden oluşan 31 sarkomatoid mezotelyoma olgusunun dahil edildiğini başka bir çalışmada sadece 6 olgu dezmoplastik mezotelyoma olarak tanımlanmıştır (34). Bueno ve arkadaşlarının plöropnömonektomi materyallerinden oluşan çalışmasında 305 malign mezotelyoma vakasının sadece biri dezmoplastik mezotelyoma olarak sınıflandırılmıştır(105). Çalışmalardan da görüldüğü gibi dezmoplastik mezotelyoma tanısı büyük oranda rezeksiyon materyallerinde verilebilmektedir. Çünkü küçük materyallerde dezmoplastik ve sarkomatoid mezotelyoma ayırıcı tanısı yapmak çok güçtür. Aslında sağkalımlar açısından bakıldığında, sarkomatoid ve dezmoplastik mezotelyoma arasında fark bulunmamaktadır. Her ikisi de epiteloid mezotelyomaya göre kötü prognoza, agresif gidişe ve düşük sağkalım oranlarına sahiptir (109, 110).

Epiteloid mezotelyoma, diffüz malign mezotelyoma içerisinde yaklaşık % 50 oranla en sık karşılaşılan tipdir. Epiteloid mezotelyomanın birçok histolojik varyantı bulunmaktadır. En sık görülen histolojik varyantlar; tubülopapiller, adenomatoid (mikroglandüler), solid iyi diferansiye ve asiner (glandüler) varyantlardır. Şeffaf hücreli, desiduoid, küçük hücreli, taşlı yüzük hücreli (lipidden zengin) ve adenoid kistik varyantlar ise nadir olarak görülürler (14, 20). Bizim serimizde olguların

büyük bir kısmı tübülopapiller varyant iken, bunu solid iyi diferansiye ve asiner varyantlar izlemektedir. Diğer varyantlar bizim çalışma grubumuzda gözlenmemiştir.

Mezotelyomanın göğüs duvarı ve kas tabakasına yayılımı nerdeyse karakteristik bir bulgudur. Alveoler boşluklara infiltre olarak organize pnömoni, interstisyel pnömoni ve bronkioloalveoler karsinom benzeri bir görünüm oluşturabilir. Malign mezotelyoma nadiren lenf nodu tutulumu ile prezente olur (14). Eğer bir mezotelyoma hastasında tanı anında lenf nodu tutulumu saptanmışsa, bu kötü prognozu gösterir (110). Metastazlar intra ya da ekstra plevral lenfatik zincirde görülebilir. Literatürde nodal metastaz oranları % 25 ile % 57 arasında değişmektedir (110, 111, 112, 113). Rahman ve arkadaşlarının, plevral mezotelyomada lenf nodu metastazı görülme sıklığı ve histolojik tiplere göre oranlarını araştıran çalışmasında, 53 olgunun 18' inde (% 34) klinik olarak mediastinal lenf nodu tutulumunun bulunduğu saptanmıştır. Bu olguların 8' i bifazik ya da sarkomatoid, 10' u epiteloid mezotelyomadır. Çalışmaya dahil edilen bifazik ve sarkomatoid olguların % 42' sinde, epiteloid mezotelyomaların ise % 29.4' ünde metastaz izlenmiştir (114). Bu çalışmada sarkomatoid ve bifazik malign mezotelyoma olgularındaki yüksek metastaz oranı dikkat çekicidir. Bizim çalışmamızda 3 vakada histolojik olarak mediastinal lenf nodu tutulumu izlenmiştir. Bu vakalardan biri epiteloid mezotelyoma iken, diğer ikisi bifazik mezotelyoma olgusudur. Bifazik mezotelyoma olgusuna ait metastatik lenf nodu kesitlerinde, bir vakada diffüz epiteloid morfoloji gözlenirken, diğer vakada hem epiteloid, hem de sarkomatoid alanlar bir arada saptanmıştır. Bizim vakalarımız arasında izlenen metastaz oranı literatüre göre oldukça düşük görünmektedir. Ancak diğer serilerde metastaz kararı klinik verilere göre verilmiş olduğundan ve bizim serimizde ise histolojik dökümantasyonu bulunan vakalar dikkate alındığından bu durum beklenebilecek bir sonuçtur. Lenf nodülü metastazlarının lokalizasyonu ile ilgili veriler irdelendiğinde, Perrot ve arkadaşlarının 25' i lenf nodu metastazı gösteren 50 hasta üzerinden yürüttüğü çalışmada metastatik lenf nodlarından sadece 4' ünün plevral zarf içindeki (intrapulmoner, hiler ve peribronşial) lenf nodları olduğu görülmektedir. Geri kalan 21 lenf nodülü ekstraplevral yerleşimlidir. Ekstraplevral metastazların en sık subkarinal, paratrakeal ve anterior mediastinal lenf nodlarına olduğu, 2 vakada paraözofageal, 1 vakada ise internal mammarian lenf nodunda metastazın bulunduğu

saptanmıştır (110). Bizim çalışmamızda görülen 3 lenf nodu metastazı da hiler ve peribronşial yerleşimlidir.

Asbest maruziyeti nedeniyle gelişen en sık plevral değişiklikler plevral kalsifikasyon ve diffüz plevral kalınlaşmaya eşlik eden ya da tek başına izlenen plevral plaklardır. Plevral plaklar, maruziyet belirleyicisi olarak kabul edilse de, asbeste maruz kalan kişilerde görülen fonksiyonel değişikliklere katkıda bulunur (115). Asbeste maruz kalan yapı işçilerinde akciğer grafilerinde % 20-60 plevral patoloji gözlenir, bu da akciğer grafisinin sensitivitesinin düşüklüğünü göstermektedir (116). Parietal plevrayı tutan sınırlı plaklar genelllikle simetrik, bilateral ve çoğunlukla 5-6.kot posterolateral yerleşimlidirler. Sıklıkla diafragmatik plevra da etkilenir. Bu lezyonlar sınırlı kalır. Eğer daha diffüz bir plevral kalınlaşma varsa mezotelyoma ya da diffüz plevral kalınlaşma düşünülmelidir. Histolojik olarak plevral plaklar hyalinize, asellüler, avasküler kitlelerdir ve nadiren asbest cisimciği içerirler. Kalsifiye olma eğilimi gösterirler ve bu nedenle grafide nodüler gölgelerle karıştırılırlar (117). HRCT plakların değerlendirilmesinde grafiden daha sensitif olduğundan eski asbest maruziyetini belirlemekte yararlıdır. Çünkü bu plaklar maruziyet için patognomoniktir. Ayrıca HRCT, plakları ekstraplevral yağ yastıkçıklarından da ayırır. Asbestozis plevral plak olmadan, plevral plak da asbestozis olmadan oluşabilir. Ancak otopsi bulguları, grafi normal olsa da plevral değişiklikler görüldüğünde sıklıkla asbestozisin histolojik bulgularının olduğunu desteklemektedir. Plevral plaklar nadiren malign transformasyona gider (118). Polat ve arkadaşlarının bilgisayarlı tomografinin diffüz plevral hastalıkların ayırıcı tanısındaki yerini araştıran çalışmasında, 20'si malign mezotelyoma olan 146 olgunun BT bulguları incelenmiştir. Mezotelyoma olgularının % 15' inde plevral plak izlenmiştir. Plevral plak mezotelyoma dışında daha düşük oranda (% 5) tüberküloz plörezili olgularda ve çalışmaya dahil edilen 2 fibrotoraks olgusunda gözlenmiştir. Çalışmada plevral plak varlığının, interlober fissür tutulumu ile birlikte plevral metastazlarla malign mezotelyomanın ayrımında belirleyici bir bulgu olduğu bildirilmiştir (118). Leung ve arkadaşlarının çalışmasında mezotelyomalı olguların % 27' sinde (119), Yılmaz ve arkadaşlarının çalışmasında % 11' inde (120), Ernam ve arkadaşlarının çalışmasında ise % 15' inde plevral plak saptanmıştır (116). Bizim çalışmamızda % 18.2 oranında histolojik olarak plevral plak gözlenmiştir.

Histolojik tiplere göre bakıldığında ise epiteloid ve bifazik mezotelyomada plevral plak görülme oranının eşit ve % 19.6 olduğu, sarkomatoid mezotelyomada ise plevral plağın % 7.7 oranında görüldüğü saptanmıştır.

Mezotelyoma hem patologlar, hem de klinisyenler için tanı ve tedavi yönetimi açısından önemli bir problem oluşturmaya devam eden agresif bir neoplazidir. Histolojik bulguların yanında, klinik bilgiler, asbest / erionit maruziyet hikayesi, tanıda yardımcı olabilecek diğer bulgulardır. Ancak, malign mezotelyoma hakkında yazılmış onca yayına ve mezotelyomanın histomorfolojik özelliklerinin defalarca tariflenmesine karşın, hala kesin tanıya sadece ışık mikroskopik bulgularla gitmek mümkün olmamaktadır (121). Burada yardımcı yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yöntemlerden rutinde en çok kullanılanı immünhistokimyadır. Günümüzde mezotelyoma için ortaya konmuş spesifik bir immünhistokimyasal belirleyici bulunmamaktadır. Ayırıcı tanı amaçlı bir immünhistokimyasal panel kullanılmalıdır. Bu panel mezotelyomada ekspresyonu beklenen "pozitif" belirleyiciler ile, mezotelyomada ekspresyonunu beklemediğimiz, diğer malignitelerde pozitiflikleri bulunan "negatif" belirleyicileri içermelidir.

"Pozitif" mezotelyoma belirleyicisi olarak ilk kullanılmaya başlanan immünhistokimyasal belirteçlerden biri kalretinindir. Doglioni ve arkadaşları 36' sı epiteloid, 5' i bifazik ve 3' ü sarkomatoid, toplam 44 mezotelyoma olgusu ile yaptıkları çalışmada kalretinin ile % 100 oranında pozitiflik saptamıştır. Olguların yarısından çoğunda neoplastik hücrelerin % 75 ve fazlasında spesifik boyanma izlenirken, biri sarkomatoid olmak üzere sadece 2 tümörün % 50' den az hücresinde boyanma saptanmıştır. Bifazik tümörlerin ikisinde ise, epiteloid alanlarında yaygın kalretinin pozitifliği izlenirken, sarkomatoid alanlarında, tümör hücrelerinin % 50'sinden az boyanma gösterdiği dikkati çekmiştir. Buna karşın, 298 adenokarsinom olgusunun sadece 28' inde kalretinin pozitifliği saptanmış, bu pozitifliğin ise fokal olduğu belirtilmiştir (31). Ancak Riera ve arkadaşları kalretininin akciğer adenokarsinomları ile malign mezotelyomayı ayırmada çok da güvenilir olmadığını iddia etmişlerdir. Çalışmalarında 57 malign mezotelyoma olgusunun, yarısından da azında (24' ünde) yaygın kalretinin boyanması gözlenmiştir (122). Bu farklılığın nedenini araştırmak için Ordonez ve arkadaşları iki farklı ticari kaynağın kalretinin antikorunu kullanmış, birinde sonuç Riera ve arkadaşlarının sonucuna benzer şekilde

düşükken, diğer ticari kaynağa ait antikorla tüm mezotelyoma olgularında yaygın boyanma saptanmıştır. Ordonez bu dramatik sonuca dayanarak, boyanma oranını antikorların farklılıklarının da etkilediğini belirtmiştir (123). Bu tarihten sonra yapılan çalışmalarda % 87- 100 arasında değişen pozitiflik oranları saptanmıştır (33, 25, 124, 125, 126) . Abutaily ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 11 epiteloid mezotelyomanın tümünde kalretinin ekspresyonu izlenirken, 7 sarkomatoid mezotelyomanın 2' sinde (% 29) kalretinin pozitifliği saptanmıştır (127). Benzer bir sonuç da Mimura ve arkadaşları tarafından elde edilmiştir. 66 vakalık serilerinde sadece 4 sarkomatoid mezotelyoma bulunmaktadır. Bu sarkomatoid mezotelyoma olgularının ise sadece 1' inde kalretinin pozitifliği saptanmıştır (97). Lucas ve arkadaşlarının 16 epiteloid, 10 sarkomatoid ve 10 bifazik mezotelyoma üzerinden yaptığı çalışmada, epiteloid mezotelyoma olgularında kalretinin ile % 100 oranında bir pozitiflik saptanmıştır. Bifazik mezotelyoma olgularının epiteloid alanlarında % 90 gibi yüksek bir kalretinin pozitifliği gözlenirken, sarkomatoid alanlarında kalretinin ile boyanma yüzdesi % 60' a düşmüştür. Sarkomatoid mezotelyoma olgularında ise kalretinin % 70 oranında pozitiflik göstermiştir. Kontrol grubu olarak kullandıkları 24 yüksek gradeli sarkom olgusunun % 17, 10 akciğerin sarkomatoid karsinom olgusunun ise % 60' ında kalretinin pozitifliği gözlenmiştir (35). Yine sarkomatoid mezotelyomalardaki immünprofili araştıran başka bir çalışmada da epiteloid mezotelyomalarda % 93, bifazik mezotalyomanın epiteloid alanlarında % 90, sarkomatoid alanlarında % 58, sarkomatoid mezotelyomalarda ise % 54 oranında kalretinin pozitifliği gözlenmiştir (128). Attanoos ve arkadaşlarının 31 saf sarkomatoid karsinomu içeren çalışmasında, olguların sadece 12' sinde (% 39) kalretinin pozitifliği izlenirken, 30 iğsi hücreli neoplaziden oluşan kontrol grubunda kalretinin pozitifliği gözlenmemiştir (34). Bu çalışmalardan da görülmektedir ki, kalretinin pozitiflik oranları epiteloid mezotelyomalardan, sarkomatoid mezotelyomaya doğru belirgin bir düşüş göstermektedir. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar da literatür bilgileriyle uyumlu niteliktedir. Çalışmamıza dahil edilen ve incelenebilen 111 epiteloid mezotelyoma olgusunun 101' inde (% 91) kalretinin pozitifliği gözlenirken, 19 sarkomatoid mezotelyoma olgusununun 6' sında (% 31.6) pozitiflik saptanmıştır. Bifazik mezotelyomalarda bu oran % 78.9 olarak belirlenmiş olmasında karşın, epiteloid ve sarkomatoid alanlar ayrı ayrı değerlendirildiğinde, epiteloid alanlarda % 100 oranında bir kalretinin pozitifliği izlenirken, sarkomatoid alanlarda bu oranın % 40' a düştüğü dikkat çekmiştir. Kalretinin ile boyanma şiddetlerine bakıldığında, epiteloid mezotelyomada ortanca

değeri 3+ iken sarkomatoidlerde negatife düşüş göstermektedir. Bu değerler de daha önceki çalışmalara benzer niteliktedir. Bizim akciğer adenokarsinomu, mide ve kolon adenokarsinomları, invaziv meme karsinomları ve overin seröz papiller karsinomlarını içeren 42 olguluk kontrol grubumuzda kalretinin ile hiç pozitiflik izlenmemiştir. Bu da ayırıcı tanıda kalretininin güvenilirliğini göstermektedir ve yapılan çalışmalardaki sonuçlar da bizim çalışmamızla aynı doğrultudadır.

Tablo 32. Kalretinin ile Yapılmış Çalışmaların Sonuçları

YAYINLAR	MM (n)	ALT TİP (n)	+ (n)	+ (%)	KONTROL (n)	+ n (%)
Doglioni-1996	44	E: 36	36	100	294	28 (9.5)
		B: 5	5	100		
		S: 3	3	100		
Riera-1997	57	E: 57	24	42.1	201	13 (6.1)
Ordonez-1998	38		38	100	200	25 (12.5)
Attanoos-2000	31	S: 31	12	39	30	0
Cury-2000	61	E: 61	47/51	92	63	23 (39)
Carella-2001	46	E: 32	40	87	20	2 (10)
		B: 10				
		S: 4				
Abutaily-2002	41	E: 11	11	100	35	2 (6)
		B: 23	20	87		
		S: 7	2	29		
Lucas-2003	36	E: 16	16	100	34	10 (41)
		B: 10	E: 9	90		
			S: 6	60		
		S: 10	7	70		
Ordonez-2003	60	E: 60	60	100	50	4 (8)
Hinterberger-2007	341	E: 112	104	93	-	-
		B: 183	E:148	90		
			S:70	58		
		S: 46	25	54		
Mimura-2007	66	E: 48	43	89,6	66	3 (4,5)
		B: 14	14	100		
		S: 4	1	25		
Seyhan-2007	61		53	86	48	9 (18)
Sandeck-2010	49	E: 40	49	100	-	-
		B: 8				
		S: 1				
Mevcut çalışma	**168**	**E: 111**	**101**	**91**	**47**	**0**
		B: 38	**30**	**78.9**		
		S: 19	**6**	**31,6**		

Başka bir mezotelyal belirleyici de CK5/6' dır. Ordonez ve arkadaşlarının 1998' de CK5/6' nın malign mezotelyoma ve plevradaki metastatik adenokarsinomlardaki boyanma profilini araştıran çalışmasında, 40 mezotelyoma olgusunun tümünde yaygın kuvvetli pozitiflik gözlenmiştir. Akciğer adenokarsinomu olgularında hiç pozitiflik izlenmezken, akciğerin yassı hücreli karsinomları % 100 oranında CK5/6 pozitifliği göstermiştir. Bunların dışında overin seröz papiller karsinomu tanısı almış 10 olgudan 8' inde % 30 tümör hücresinden azında CK5/6 pozitifliği saptanmıştır (129). Literatürde CK5/6 ile ilgili çalışmalarda da mezotelyoma olgularındaki pozitiflik oranları % 92, % 78 gibi yüksek değerlerdedir. Bu yüksek oranlara karşın akciğer adenokarsinomlarında boyanma izlenmemiş, ya da % 14 gibi düşük bir oranda ve fokal olarak izlenmiştir (33, 124). Abutaily ve arkadaşlarının çalışmasında epiteloid mezotelyomalarda CK5/6 pozitifliği % 92 oranında izlenirken, bu oran bifazik mezotelyomada % 62' ye, sarkomatoid mezotelyomada ise % 14' e düştüğü saptanmıştır (127). Yine bu oranlara benzer sonuçlar Lucas ve arkadaşlarının çalışmasında izlenmiştir. Bu çalışmada epiteloid mezotelyomada % 100 oranda CK5/6 pozitifliği saptanmıştır. Bifazik mezotelyomalara bakıldığında, epiteloid alanlarda % 29, sarkomatoid alanlarda ise % 14 oranında pozitiflik gözlenmiştir. Çalışma kapsamındaki sarkomatoid mezotelyomaların ise tümü negatif bulunmuştur (35). Chu ve arkadaşlarının 509 epitelyal tümörde CK5/6 profilini araştırdıkları çalışmaya 17' si bifazik, 12' si sarkomatoid, toplam 29 mezotelyoma olgusu dahil edilmiştir. Bifazik mezotelyomaların 13' ünün epiteloid alanlarında pozitiflik izlenirken, sadece 3 sarkomatoid mezotelyoma olgusunda pozitif boyanma saptanmıştır. Bunun yanında derinin yassı hücreli ve bazal hücreli karsinomlarında ve yine çalışma gruplarının içinde yer alan timoma olgularında % 100 oranında CK5/6 pozitifliği saptanmıştır (36). Sadece sarkomatoid mezotelyoma ve iğsi hücreli diğer neoplazileri içeren bir çalışmada, mezotelyoma olgularının % 29' unda pozitiflik izlenmiş, diğer iğsi hücreli neoplazilerin biri hariç tümü negatif bulunmuştur (34). Bizim çalışmamızdaki değerler de buna paraleldir. Epiteloid mezotelyoma olgularında % 97.3 gibi oldukça yüksek bir CK5/6 pozitifliği gözlenirken, sarkomatoid mezotelyomada bu oranın belirgin olarak düştüğü, % 21 olduğu dikkati çekmiştir. Aynı farklılık bifazik mezotelyoma olgularında da söz konusudur. Bifazik mezotelyomada % 80 oranında

pozitiflik saptanmış, epiteloid alanlarda bu oranın % 89.3' e çıktığı, sarkomatoid alanlarda ise % 40.9' a düşüş gösterdiği dikkat çekmiştir. Mezotelyoma dışı tümörlere bakıldığında, akciğer adenokarsinomlarından 2, invaziv meme karsinomu olgularından 3, overin seröz papiller karsinomlarından 2' sinde en fazla 2+ şiddetinde pozitiflik gözlenmiş, ayırıcı tanıda yer alabilecek, epitelyal morfolojiye sahip bu tümörlerde CK5/6' nın toplamda % 14.9 oranında bir pozitifliğe sahip olduğu görülmüştür.

Tablo 33. CK5/6 ile Yapılmış Çalışmaların Sonuçları

YAYINLAR	MM (n)	ALT TİP (n)	+ (n)	+ (%)	KONTROL (n)	+ n (%)
Ordonez-1998	40	E: 40	40	100	155	38 (24.5)
Attanoos-2000	31	S: 31	9	29	30	1 (3)
Cury-2000	61	E: 61	56	92	63	9 (14)
Carella-2001	46	E: 32	40	87	20	0
		B: 10				
		S: 4				
Abutaily-2002	41	E: 11	10	92	35	2 (6)
		B: 23	14	62		
		S: 7	1	14		
Lucas-2003	36	E: 16	16	100	34	1 (3)
		B: 10	E: 3	29		
			S: 1	14		
		S: 10	7	0		
Ordonez-2003	60	E: 60	60	100	50	1 (2)
Mevcut çalışma	**171**	**E: 112**	**109**	**97.3**	**47**	**7 (14.9)**
		B: 36	**29**	**80.6**		
		S: 23	**5**	**21.7**		

WT1, kalretinin ve CK5/6' ya göre daha yeni bir mezotelyoma belirleyicisidir. Bu belirleyicinin nükleer pozitifliği bazı yayınlarda % 95 ve hatta % 100' e kadar ulaşmaktadır (25, 130, 131). Bu nedenle de malign mezotelyoma için

oluşturulan immünhistokimyasal panelde bulunması gereken belirleyicilerden biri olmuştur. Foster ve arkadaşlarının 67 mezotelyoma olgusu ve 51 akciğer adenokarsinomu ile yaptıkları bir çalışmada, mezotelyoma olgularının % 75' inde nükleer pozitiflik izlenmiştir. Akciğer adenokarsinomlarında nükleer WT1 pozitifliği izlenmezken, sitoplazmik boyanma % 86 gibi yüksek bir oranla karşımıza çıkmaktadır. Mezotelyoma olgularında ise sitoplazmik boyanma oranı % 12 olarak değerlendirilmiştir (132). Yani Foster ve arkadaşlarına göre akciğer adenokarsinomları ile malign mezotelyoma arasında WT1 açısından, boyanma oranından çok, boyanma pattern farklılığı dikkati çekmektedir. Oates ve arkadaşları da aynı fikri savunmuştur. Çalışmaya dahil edilen mezotelyoma olgularının % 64' ünde nükleer, % 14' ünde sitoplazmik WT1 ekspresyonu saptanırken, akciğer adenokarsinomu olgularının % 20' sinde nükleer, % 73' ünde sitoplazmik boyanma gözlenmiştir. Bu çalışmada WT1 açısından dezavantaj olarak sayılabilecek bir özellik mevcuttur. 42 mezotelyoma materyalinin 17' si otopsi özelliğindedir ve otopsi materyallerinde WT1 çalışmamaktadır. Bu sayı da eklendiğinde mezotelyoma olgularındaki pozitiflik yanıltıcı olarak % 38' e inmektedir (44). Bizim çalışmamıza bakıldığında, elde edilen değerler hem literatürle, hem de kalretinin ve CK5/6 ile elde ettiğimiz değerlere benzer özelliktedir. WT- 1 ile epiteloid mezotelyomaların % 92.1' i pozitif, nükleer boyanma göstermekteyken, boyanma şiddetinin ortanca değerinin kalretinin ve CK5/6' ya göre düştüğü, 2+ olduğu saptanmıştır. Bifazik mezotelyomada % 68.6, sarkomatoid mezotelyomada ise % 38.1 gibi düşük pozitiflik yüzdeleri ve sırasıyla 1+ ve (-) gibi boyanma şiddet ortanca değerleri karşımıza çıkmıştır. WT1 ile de epiteloid mezotelyomadan, sarkomatoid mezotelyomaya geçildiğinde gerek pozitif boyanma oranları, gerekse boyanma şiddetleri azalmaktadır. Mezotelyoma dışı tümörlere bakıldığında sadece 4 tümörde nükleer poziflik bulunduğu gözlenmiştir. Bunların dördü de overin seröz papiller karsinomu tanısı almış vakalardır. Bu çalışmada sitoplazmik boyanma hiçbir grupta izlenmemiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar, WT1' in overe ait malignitelerle ayırım dışında, malign mezotelyoma için yararlı bir belirleyici olduğunu göstermektedir.

Tablo 34. WT1 ile Yapılmış Çalışmaların Sonuçları

YAYINLAR	MM (n)	ALT TİP (n)	+ (n)	+ (%)	KONTROL (n)	+ n (%)
Amin-1995	21		20	95	20	0
Ordonez-2000	50	E: 50	36	72	135	25 (18.5)
Oates-2000	42	E: 26	10	38	40	8 (20)
		B: 6	2	33		
		S: 10	6	60		
Foster-2001	67	E: 58	42	72	51	0
		B: 3	3	100		
		S: 6	5	83		
Ordonez-2003	60	E: 60	56	93	50	0
Pu-2007	18		18	100	25	0
Mevcut çalışma	**170**	**E: 114**	**105**	**92.1**	**47**	**4 (8.5)**
		B: 35	**24**	**68.6**		
		S: 21	**8**	**38.1**		

D2–40, yeni geliştirilmiş, fetal germ (kök) hücrelerinde ve germ hücre tümörlerindeki 40-kd antijeni ile tepkimeye giren monoklonal bir antikordur (38). Bu antikorun tanıdığı antijen, seçici olarak lenfatik endotelde sentezlendiği için, hem lenfatik kaynaklı tümörlerin teşhisinde hem de tümörlerin lenfatik invazyonunun belirlenmesinde yararlı olduğu gösterilmiştir (39, 40). Son araştırmalar, antikorun epiteloid mezotelyomalarda da sentezlenmesinden dolayı primer akciğer adenokarsinomları ve malign mezotelyoma arasında ayırım yapmada yararlı olabileceğini göstermiştir (37, 41, 42). Chu ve arkadaşları 2005 yılında, D2-40'ın bir mezotelyoma belirleyicisi olarak önemini araştırmışlardır. Bu çalışmada, 16 bifazik mezotelyomanın 15'inin epiteloid bileşenlerinde (%94) ve 33 epiteloid mezotelyomanın 33'ünde (%100) güçlü membranöz reaktivite rapor edilmiştir. (41). Aynı dönemde yapılan başka bir çalışmada D2-40'ın epiteloid mezotelyomada % 86 oranında pozitiflik gösterdiği gözlenmiş, bifazik mezotelyoma olgularında ise tüm

epiteloid alanlarda D2-40 ile boyanma gözlenirken, sarkomatoid alanların tümüyle negatif olduğu saptanmıştır. Çalışmada yer alan 6 sarkomatoid mezotelyoma olgusunda da pozitiflik izlenmemiştir. Çalışmaya dahil edilen akciğer ve akciğer dışı adenokarsinom olgularında boyanma bulunmadığı saptanmış; 6 bifazik sinovyal sarkomun 4' ünün epitelyal alanlarında, 5 anjiyosarkom olgusunun 2' sinde (muhtemel lenfatik differansiyasyonu gösterir şekilde) ve adenomatoid tümörlerde D2-40 ile pozitifliğin bulunduğu belirtilmiştir (37). Hinterberger' in 341 mezotelyoma olgusu içeren çalışmasında epiteloid mezotelyomalarda pozitiflik oranının % 75 olduğu, sarkomatoid alanlarda ise bu oranın % 24' e kadar düştüğü saptanmıştır (128). Benzer bir sonuç da Mimura ve arkadaşlarının çalışmasında gözlenmiştir. Mimura, epiteloid mezotelyomalarda D2-40 boyanma oranını % 89.6 olarak saptarken, sarkomatoid mezotelyomalarda bu oranı % 50 olarak bildirmiştir. Bifazik mezotelyoma olgularındaki boyanmanın ise epiteloid alanlarda daha belirgin ve yüksek oranda olduğunu belirtmiştir (97). Ülkemizde yapılan, 37 mezotelyoma olgusunun dahil edildiği bir çalışmada, oranlar biraz daha düşük olmakla birlikte, epiteloid ve sarkomatoid mezotelyoma arasındaki boyanma farklılığının belirgin olduğu bir kez daha gösterilmiştir. Deniz ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada epiteloid mezotelyomada D2-40 pozitifliği % 64.3, bifazik mezotelyomada % 14.3 iken, sarkomatoid mezotelyoma olguları tamamen negatif bulunmuştur. Çalışma kapsamındaki adenokarsinom olgularında D2-40 ekspresyonu izlenmezken, reaktif mezotel örneklerinin % 54.8 oranında D2-40 pozitifliği gösterdiği saptanmıştır (101). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Epiteloid mezotelyomalarda % 67.3 oranında olan D2-40 pozitifliği, bifazik mezotelyomada % 23.5, sarkomatoid mezotelyomada ise % 9' a düşmüştür. Boyanma şiddetine bakıldığında ise epiteloid mezotelyomalarda ortanca değerin 2+ olduğu, bifazik ve sarkomatoid mezotelyomalarda ise bu değerin negatifleştiği gözlenmiştir. Kalretinin, CK5/6 ve WT1' e göre belirgin olarak düşük bir pozitiflik oranı göstermekle birlikte, yine tüm mezotelyoma beliryecileri ile benzer olarak, D2-40 da epiteloid mezotelyomayı daha kuvvetle işaret etmektedir. Mezotelyoma dışındaki, epitelyal morfolojiye sahip diğer tümörlerden sadece birinde, zayıf, fokal, sitoplazmik boyanma gözlenmiştir. Bu da akciğer adenokarsinomu olgusudur. Bu oran da literatürle benzer niteliktedir. Çalışma grumuzdaki sınırlı sayıdaki reaktif mezotel

örneklerinde, değerlendirilebilen tüm doku silindirlerinde D2-40 ile membranöz boyanma gözlenmiş, ancak şiddetinin 2+' yi aşmadığı gözlenmiştir.

Tablo 35. D2-40 ile Yapılmış Çalışmaların Sonuçları

YAYINLAR	MM (n)	ALT TİP (n)	+ (n)	+ (%)	KONTROL (n)	+ n (%)
Chu-2005	33	E: 33	33	100	-	-
		B: 16	15	94		
Ordonez-2005	40	E: 29	25	86	133	8 (6)
		B: 5	4	80		
		S: 6	0	0		
Hinterberger-2006	341	E: 112	84	75	-	-
		B: 183	E: 96	59		
			S: 39	32		
		S: 46	6	60		
Mimura-2007	66	E: 48	43	89.6	66	3 (4.5)
		B: 14	11	78.6		
		S: 4	2	50		
Deniz-2009	37	E: 28	18	64.3	36 (malign) /	0 (0) /
		B: 7	1	14.3	31 (benign)	17 (54.6)
		S: 2	0	0		
Mevcut çalışma	**161**	**E: 107**	**72**	**67.3**	**47**	**1 (2.1)**
		B: 34	**8**	**23.5**		
		S: 20	**3**	**9.7**		

HBME1 malign mezotelyomalı bir hastanın hücre dizisinden üretilen bir antikordur. Mezotelyomada membranöz boyanması beklenirken, akciğer adenokarsinomlarında sitoplazmik boyanma gözlenir. Ancak bu iki boyanma patterni azımsanmayacak kadar üst üste binebildiğinden, malign mezotelyomanın adenokarsinomlardan ayırıcı tanısında kullanılmasının artık çok da yararlı olmadığı düşünülmektedir. HBME1 ile yapılan ilk çalışmalardan biri Kennedy ve arkadaşlarının yaptığı, 57 mezotelyoma, 17 reaktif mezotel, 23 metastatik karsinom, overin 10 seröz karsinomu, 10 müsinöz kistadenokarsinomu, 10 renal hücreli karsinomunu kapsayan çalışmadır. HBME1 ile mezotelyoma olgularının % 93' ünde pozitiflik izlenmiş, bu pozitifliğin hemen tümüyle epiteloid alanlarda sınırlı olduğu tesbit edilmiştir. Reaktif mezotel örneklerinde % 82, metastatik karsinomlarda % 48,

overin seröz karsinomlarında % 100, müsinöz kistadenokarsinomlarında % 30, renal hücreli karsinomlarda ise % 10 oranında pozitiflik gösterdiği saptanmıştır (133). Bu dönemden sonra da yapılan değişik çalışmalarda, HBME1 ile mezotelyomanın yanısıra diğer tümörlerde de pozitiflik bulunduğu gösterilmiştir. Bunlardan biri de Oates ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadır. Bu çalışmada mezotelyoma olgularının % 52' sinde, büyük oranda epiteloid alanlarda, HBME1 pozitifliği gözlenmiştir. Buna karşın, 40 akciğer adenokarsinomu olgusunun 29' u da HBME1 pozitif olarak gözlenmiştir. Çalışma grubunda yer alan 6 reaktif mezotel örneğinin 5' i HBME1 ile pozitifliği göstermektedir (44). Ordonez' in sadece epiteloid mezotelyomalarla yaptığı çalışmada elde edilen pozitiflik oranı % 85 iken, akciğer adenokarsinomlarında da % 68 gibi yüksek bir oran elde dilmiştir (25). Bizim çalışmamızda, epiteloid mezotelyomalarda elde ettiğimiz sonuç, aslında literatürdeki değerlerin biraz üstündedir. Epiteloid mezotelyomaların % 94.5' i HBME1 ile pozitif boyanmıştır. Boyanma şiddetinin ortanca değeri 3+' dir. Pozitiflik, bifazik mezotelyomalarda % 74.4, sarkomatoid mezotelyomalarda % 27.8 olarak tesbit edilmiştir. Mezotelyoma dışı tümörlerde ise, kalretinin, CK5/6, D2-40, WT1 arasında en çok boyanma gösteren belirleyici 14 vaka ve % 29.8 oranıyla HBME1' dir. Overin seröz karsinom olgularının tümü ve akciğer adenokarsinomlarının 6' sında pozitiflik saptanmıştır. Mezotelyomadaki HBME1 boyanma patterni ile diğer tümörlerdeki boyanma patterni arasında belirgin bir fark izlenmemiştir. Bu da bize, HBME1' in özellikle overe ait tümörlerle olmak üzere, mezotelyoma ayırıcı tanısında çok da yönlendirici olmayacağını göstermektedir. Reaktif mezotel proliferasyon örneklerimize baktığımızda, tümünün HBME1 pozitifliği gösterdiği saptanmıştır.

Tablo 36. HBME1 ile Yapılmış Çalışmaların Sonuçları

YAYINLAR	MM (n)	ALT TİP (n)	+ (n)	+ (%)	KONTROL (n)	+ n (%)
Kennedy-1997	57	E: 47	53	93	53 (malign) / 17(benign)	25 (47) / 14 (82)
		B:3				
		S: 7				
Oates-2000	42	E: 26	22	84	40(malign) / 6 (benign)	29 (72.5) / 5 (83)
		B: 6	5	83		
		S: 10	5	50		
Ordonez-2003	60	E: 60	51	85	50	34 (68)
Mevcut çalışma	**166**	**E: 109**	**103**	**94.5**	**47**	**14 (29.8)**
		B: 39	**29**	**74.4**		
		S: 18	**5**	**27.8**		

Malign mezotelyomanın ayırıcı tanısında, maligniteler dışında önemli bir yer kaplayan, büyük zorluk yaratan bir diğer grup da "benign / reaktif mezotel proliferasyonları" dır. Genel olarak malignite lehine yorumlanan, yüksek sellülarite, belirgin sitolojik ve nükleer atipi, sık mitoz gibi kriterlerin, plevrada benign / malign ayırımında kullanımı sınırlıdır. Aynı sınırlılık ve zorluk, buradaki ayırımda imünhistokimyanın kullanılmasında da yaşanmaktadır. Literatürde, benign mezotel ile malign mezotelyomanın ayırımında adı geçen belirteçler: desmin, EMA, p53, Bcl-2, Ki67 ve GLUT1' dir.

Desmin, düz ve iskelet kas differansiyasyonunu gösteren bir intermedier filamenttir (85). Ancak kas kökenli olmayan, primitif nöroektodermal tümörler, Wilms tümörü ve malign mezotelyoma gibi bazı tümörlerde de pozitifliği bildirilmiştir (72, 86, 87, 88, 89). Desmin ekspresyonunun mezotelyomada da görülebileceğini ilk ortaya koyan Mayall ve arkadaşlarının 45 mezotelyoma olgusuyla yaptıkları çalışmadır. Mayall 10 mezotelyoma olgusunda desmin ile pozitiflik saptamıştır (72). Mayall'ı takiben, Scoones ve arkadaşları çalışmaya reaktif mezotel örneklerini de dahil etmişler ve mezotelyoma olgularının % 11' inde

pozitiflik saptarken, reaktif mezotelde % 80 oranında bir desmin ekpresyonu tesbit etmişlerdir (89). Scoones' un elde ettiği bu sonuç da, desminin plevrada benign ve malign ayırımında kullanılabileceğini düşündürmüştür. Hurlimann' ın yine reaktif mezotel ve mezotelyomadaki desmin ekspresyonunu karşılaştıran çalışmasında, 10 reaktif mezotel örneğinin 8' i (% 80), 16 mezotelyoma olgusunun ise 9' u (% 56) desmin pozitif bulunmuştur (88). Son dönemlerde yapılan iki çalışma da bu sonuçları desteklemektedir. Attanoos ve arkadaşları mezotelyoma olgularında desmin pozitifliğini % 10, reaktif mezotel hiperplazilerinde ise % 85 olarak bildirmişlerdir. Attanoos, desminin, benign ve malign mezotel proliferasyonlarını ayırmada en yararlı belirteçlerden biri olduğunu belirtmiştir (56). Sitolojik effüzyonlarda, benign ve malign mezotel proliferasyonlarının ayırımında immünhistokimyanın yerini araştıran başka bir çalışmada da desmin, reaktif mezotel örneklerinde % 84 oranında pozitif boyanma gösterirken, mezotelyomada % 6 oranında pozitiflik bildirilmiştir. Bu çalışma da desminin reaktif ya da malign bir mezotelyal proliferasyonun ayırımında tek başına yeterli olmayacağını, ancak en yararlı belirteçlerden biri olduğunu savunmaktadır (75). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar da literatürle uyumludur. 9 reaktif mezotel örneğinin 4' ünde desmin pozitifliği gözlenmiştir. Bu oran % 44' tür. Saptadığımız pozitifliklerin şiddettinin ortanca değeri ise 2+' dir. Çalışmamızdaki epiteloid mezotelyoma olgularından sadece 2' sinde 1+ şiddetinde; bifazik mezotelyoma olgularının 7' sinde, biri dışında 1+ şiddetinde; sarkomatoid mezotelyoma olgularından sadece 1' inde 1+ şiddetinde sitoplazmik boyanma gözlenmiştir. Desmin pozitif olgular tüm mezotelyoma olgularının % 5' ini oluşturmaktadır. En yüksek oran % 7.5 ile bifazik mezotelyoma olgularında izlenmiştir. Histolojik tipe göre bakıldığında da daha önceki çalışmalarla benzer bir sonuç karşımıza çıkmaktadır. Scoones' un bildirdiği mezotelyomadaki % 11 desmin pozitifliği oranı, sadece bifazik ve sarkomatoid tiplere bakıldığında % 32 gibi yüksek bir değere çıkmaktadır (89). Aynı sonuç Mayall ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da mevcuttur. Mayall, desmin pozitifliğini sadece bifazik mezotelyoma olgularında izlemiş ve oranını da bifazik mezotelyomalar ele alındığında % 53 olarak bildirmiştir (72). Bu çalışmalardan ve bizim sonuçlarımızdan benzer bir mesaj çıkmaktadır. Desmin, benign ve malign mezotel proliferasyonlarını ayırımda

kullanılabilecek bir belirteçdir. Ama tek başına yeterli değildir. Özellikle bifazik mezotelyoma ile reaktif mezotel proliferasyonu ayırımında güçlük yaratabilir.

Benign ve malign mezotel proliferasyonları arasındaki ayırımda kullanılan başka bir belirleyici de EMA' dır. EMA yüksek moleküler ağırlıklı transmembranöz bir glikoproteindir. Hücrelerin epitelyal differansiyasyonunu gösterir (29). EMA' nın malign mezotelyomada membranöz boyanma gösterdiği; buna karşılık akciğer adenokarsinomunda boyanmanın sitoplazmik olduğu ve reaktif mezotel proliferasyonunun ise EMA negatif olduğu bildirilmiş ve bu üç antitenin ayırıcı tanısında EMA'nın yararlı bir belirleyici olduğu öne sürülmüştür. Neoplastik ve neoplastik olmayan mezotelin ayırımı ile ilgili yapılan çalışmalardan çıkan sonuçlar da bunu göstermektedir. Değişik yayınlarda reaktif mezoteldeki EMA pozitifliği % 4 - % 33 arasında değişirken, mezotelyomadaki oranlar % 58 ile % 100 arasında yer almaktadır (55, 57, 58, 59, 60). En biribirine yakın değerler Roberts ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gözlenmiştir. Bu çalışmada reaktif mezotel grubu 11, malign mezotelyoma grubu ise 112 olgudan oluşmaktadır. Reaktif mezotel olgularının 6' sı (% 55), mezotelyoma olgularının 76' sı (% 68) EMA pozitif olarak saptanmıştır (74). Bu çalışmada oranların yakınlığı benign grubun sayısının düşüklüğünden kaynaklanan tesadüfi bir sonuç olabilir. Attanoos ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada malign 60 mezotelyoma olgusunun 48' inde (% 80), 40 reaktif mezotel örneğinin ise 8' inde (% 20) EMA pozitifliği izlenmiştir. Mezotelyoma olgularında izlenen pozitifliğin hemen tümünün yaygın ve mebranöz özellikte olduğu bildirilmiş, EMA' nın desmin ile birlikte benign ve malign mezotel ayırımında kullanılacak en önemli belirleyici olduğu belirtilmiştir (56). Hasteh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise mezotelyoma olgularında % 100 oranında, az bir kısmına sitoplazmik boyanmanın da eşlik ettiği, yaygın membranöz EMA pozitifliği gözlenmiştir. Buna karşın reaktif mezotelde sadece % 9.4 oranında membranöz boyanma izlenmiş, % 23' ünde ise fokal, sitoplazmik boyanma saptanmıştır. Hasteh, EMA negatifliği ve desmin pozitifliğinin reaktif mezotel örneklerinde % 86 gibi oldukça yüksek bir oranda izlenirken, mezotelyomalarda böyle bir birlikteliğin olmadığını belirtmiş, desmin ve EMA ikilisinin, reaktif ve malign mezotel proliferasyonlarının ayırımında oldukça etkili olduğunu savunmuştur (75) . Bizim çalışmamızda EMA pozitifliği epiteloid mezotelyomalarda % 80.7, bifazik mezotelyomalarda % 79.6, sarkomatoid

mezotelyomalarda ise % 41.9 olarak bulunmuştur. Reaktif mezotel örneklerinde ise pozitiflik saptanmamıştır. Bu değerler literatürle uyumlu niteliktedir. Boyanma patternlerine bakıldığında ise, yayınlarda belirtildiği kadar kesin bir patternin bulunmadığı görülmüştür. Mezotelyoma olgularında, sitoplazmik, sitoplazmik ve membranöz ya da membranöz boyanma patternleri arasında çok da belirgin bir farklılık bulunmamaktadır. Boyanma şiddetleri ise çok sınırlı olguda 3+ şeklinde değerlendirilmiş, genelde şiddetin 2+' de kaldığı, sarkomatoid mezotelyomada ise ortanca değerin 1+' e düştüğü gözlenmiştir.

GLUT1, eritrosit-tipi glukoz taşıyıcı proteini olup, 5 izoformu bulunan kolaylaştırıcı glukoz taşıyıcı ailesinin bir üyesidir. GLUT1 ayrıca hipoksiye hücresel cevapta rol oynamaktadır (54). Bazı çalışmalar GLUT1' in malignite belirleyicisi olduğunu ve tümör hücrelerinin enerji ihtiyacını karşılamak amacıyla GLUT1 ekspresyonunu arttığını savunmuştur (75). Kato ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 48 mezotelyoma olgusunun tümünde GLUT1 pozitifliği gözlenmiştir. Bu oranın bifazik mezotelyoma olgularının epiteloid ve sarkomatoid alanları arasında farklılık gösterdiği ve sırasıyla, % 90.9, % 63.6 olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada reaktif mezotel proliferasyonu örneklerinde hiç pozitiflik izlenmezken, akciğer adenokarsinomlarında % 96.5 oranında GLUT1 pozitifliği gözlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda GLUT1' in mezotelyomayı reaktif mezotel proliferasyonundan ayırabileceğini, ancak diğer malignitelerden ayıramayacağını savunulmuştur (54). Hasteh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise önceki sonuçlardan farklı olarak, 15 mezotelyoma olgusunun 7' sinde (% 46), 43 reaktif mezotel örneğinin ise 5' inde (% 11.6) GLUT1 pozitifliği saptanmıştır. Bu çalışmada, yaygın ve kuvvetli GLUT1 pozitifliğinin mezotelyomayı düşündürebileceğini, ancak negatifliğinin mezotelyomayı dışlayamayacağını öne sürülmüştür (75). Bizim çalışmamızda epiteloid mezotelyomalarda % 55.1, bifazik mezotelyomalarda % 47.6, sarkomatoid mezotelyomalarda % 40 oranında GLUT1 pozitifliği izlenmiş, reaktif mezotel örneklerimizin tümünün GLUT1 ile negatif olduğu saptanmıştır. Mezotelyoma dışı malignitelerdeki GLUT1 pozitifliği oranı ise % 40' dır. Bizim sonuçlarımız da, Hasteh ve arkadaşlarının elde ettiği sonuçlarla benzer özelliktedir.

Bcl-2, anti-apoptotik bir proteindir. Dokulardaki DNA hasarı tamir edilemediğinde, p53, Bcl-2 ailesine ait proteinleri düzenleyerek apoptozu tetikler. Bcl-2 ekspresyonunun artmasının bazı tümörlerde, tedaviye direnci, dolayısı ile kötü prognozu gösterdiği belirtilmektedir (134). Malign mezotelyomanın tedaviye sınırlı cevap vermesinin nedeninin de tümörün apoptozise direnci olduğu öne sürülmektedir (63). Bu nedenle sınırlı da olsa, literatürde mezotelyomada Bcl-2 ekspresyonunun araştırıldığı çalışmalar gözlenmiştir. 1990lar' da yapılan iki çalışmada mezotelyomada % 0 ve % 5 oranlarında Bcl-2 pozitifliği gözlenmiş, reaktif mezotel örneklerinin tümü negatif bulunmuştur (59, 64). Attanoos ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada. hem reaktif mezotel örnekleri, hem de mezotelyoma olguları tümüyle Bcl-2 negatif bulunmuştur (56). O' Kane ve arkadaşlarının mezotelyoma olgularındaki apoptotik protein ekspresyonlarını araştırdıkları çalışmasında, 15' i sarkomatoid, 39' u epiteloid, toplam 54 mezotelyoma olgusunda, Bcl-2 ile % 40 oranında pozitiflik saptanmıştır. Bu oran, epiteloid mezotelyomalarda % 43, sarkomatoid mezotelyomalarda % 33 olarak belirlenmiştir. Bcl-2 ekpresyonunun histolojik tip ve sağkalımla ilişkisinin olmadığı bildirilmiştir (134). Biz çalışmamızda epiteloid mezotelyomada % 4.5, bifazik mezotelyomada % 0.9 oranında pozitiflik saptanmış, sarkomatoid mezotelyoma olgularında Bcl-2 negatif bulunmuştur. Reaktif mezotel proliferasyonu olgularında hiç pozitiflik izlenmezken, diğer tümörlerde % 17 oranında pozitiflik gözlenmiştir. Pozitiflik gösteren mezotelyoma dışı tümörlerin büyük kısmı invaziv duktal meme karsinomudur. Bizim çalışmamızdan çıkan sonuç da Bcl-2' nin benign ve malign ayrımında ya da mezotelyomanın diğer malignitelerden ayırt edilmesinde kullanılamayacağını göstermektedir.

p53, hücre büyümesi, farklılaşması ve apoptozisde rolü olan bir nükleer fosfoproteindir. Neoplastik transformasyon, genellikle, bu tümör supresör genin bulunduğu 17. kromozomunun kısa kolundaki mutasyonlarla ilişkilidir (56). Mezotelyomalar ile reaktif mezotel proliferasyonları arasında p53 ekspresyon farklılıklarını araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda genelde benign proliferasyonlarda p53 ekspresyonu izlenmezken, neoplastik proliferasyonlarda % 25- 97 oranında değişen pozitiflikler saptanmıştır (58, 59, 72, 73, 74, 75). Attanos ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bunlara benzer sonuçlar elde edilmiştir. 60 mezotelyoma olgusunun 27' sinde (% 45) p53 pozitifliği saptanmış,

reaktif mezotel örneklerinde pozitiflik gözlenmemiştir. Mezotelyoma olgularının 20' sinde % 25' den az tümör hücresinde p53 ekspresyonu gözlenmiş, sadece 3' ünde tümör hücrelerinin % 75' inden fazlasında p53 nükleer pozitifliği saptanmıştır. Attanoos ve arkadaşları, p53' ün benign ve malign mezotel proliferasyonlarının ayrımında, gerekli olursa, ikinci oluşturulacak immünhistokimyasal panelde yer alabilecek bir belirleyici olduğunu savunmuştur (56). Bizim çalışmamızda epiteloid mezotelyomalar arasında 5, bifazik mezotelyomalar arasında 1, sarkomatoid mezotelyomalar arasında ise 2 olguda p53 ekpresyonu gözlenmemiş, geri kalan tüm olgularda, tümör hücrelerinin en az % 5, en çok % 90' ında p53 ekspresyonunun bulunduğu gözlenmiştir. p53 ekspresyonunun histolojik tipler arasında da anlamlı farklılığı bulunmamaktadır. Benign mezotel proliferasyonu grubunda ise 9 olgunun 6' sında p53 pozitifliği gözlenmiş, bu pozitifliğin tümör hücrelerinin en az % 1' ini, en çok % 30' unu ilgilendirdiği saptanmıştır.

Reaktif ve malign mezotel proliferasyonlarının ayırımında araştırılan başka bir belirleyici de Ki67' dir. Ki67, G0 fazı hariç hücre siklusunun tüm dönemlerinde ekprese edilir (80). Çakır ve arkadaşlarının 66 mezotelyoma ve 22 reaktif mezotel proliferasyonunda, Ki67 indeksini araştıran çalışmasında, mezotelyomalarda Ki67 indeksi ortalama % 15.8, mezotel proliferasyonlarında % 2.5 olarak belirlenmiştir. Histolojik tiplere bakıldığında, bifazik mezotelyoma, % 19.4 ile en yüksek Ki67 indeksine sahiptir. Çakır ve arkadaşları bu oranlarla benign ve malign proliferasyonların ayırımında Ki67' nin güvenilir bir belirleyici olduğunu öne sürmüşlerdir (79). Taheri ve arkadaşlarının ulaştığı sonuçlar da Çakır ve arkadaşları ile aynı doğrultudadır. Mezotelyoma olgularında Ki67 indeksi ortalaması % 24.6 olarak tesbit edilmiştir. Reaktif mezotel proliferasyonlarında ise Ki67 indeksi ortalama olarak % 6.23 olarak bildirilmiştir (80). Her iki çalışma da Ki67 ile ilgili iddialı sonuçlar elde etmesine rağmen, Hasteh ve arkadaşları, Ki67' nin bu ayırımda yararlı olmadığı savunmuştur. % 40' dan yüksek Ki67 indeksine sahip mezotelyoma olgusunun oranı % 16 iken, reaktif mezotel örneklerinin % 9' unda yüksek proliferasyon indeksi saptanmıştır. % 20- 40 arasındaki proliferasyon indeksleri açısından bakıldığında ise, iki grubun oranlarının birbirine yaklaştığı, mezotelyomalarda % 41, reaktif mezotel örneklerinde ise % 34 olduğu gözlenmiştir. % 20' nin altındaki proliferasyon indekslerinin ise reaktif mezotel örneklerinde daha

yüksek bir oranda görüldüğü saptanmıştır. Hasteh ve arkadaşları, Ki67' nin yüksek proliferasyon indeksli mezotelyoma olgularında, reaktif mezotelden ayırımda duyarlılığının yüksek olduğu, ancak seçiciliğinin düşük olduğunu belirtmişlerdir. Proliferasyon indeksi düştükçe, duyarlılık ve seçiciliğin de düştüğü gözlenmiştir. Bu nedenle Ki67' nin, bu iki grubu ayırmada yetersiz bir belirleyici olduğu iddia edilmiştir (75). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar da Hasteh ve arkadaşlarının çalışması ile benzer niteliktedir. Reaktif mezotel proliferasyonlarındaki Ki67 indeksi ortalama olarak % 6.5' tur. Bu olgularda en yüksek proliferasyon indeksi ise % 20 olarak tesbit edilmiştir. Mezotelyomalara bakıldığında, epiteloid mezotelyomalarda ortalama olarak proliferasyon indeksi % 8.1, bifazik mezotelyomalarda % 9.5, sarkomatoid mezotelyomalarda ise % 12.8 olarak bulunmuştur. En yüksek saptanan proliferasyon indeksi % 60' dır ve bir sarkomatoid mezotelyoma olgusunda gözlenmiştir. Malign mezotelyomada daha yüksek proliferasyon indeksi izlenebilirken, bu oran düştükçe Ki67' nin güvenilirliği de azalmaktadır.

C-erbB2 (HER2/neu) kromozom 17q21'de yer alan, 185 kD'luk, tirozin kinaz aktiviteli bir transmembran proteini kodlayan bir gendir (66). C-erbB2'nin aşırı ekspresyonu, invaziv meme karsinomları gibi bazı tümörlerde, kötü bir prognostik parametre olarak kabul edilmekte, ileri evrede ise hedef bazlı tedavi seçiminde önem taşımaktadır (67, 68). C-erbB2' nin malign mezotelyomadaki ekspresyonu ve prognostik önemi ile ilgili geniş serilerle yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Bu konuda yapılmış ilk çalışmada membranöz c-erbB2 pozitifliğinin düşük oranlarda mezotelyomada da görülebildiğini belirtmiş ve bunun prognostik bir anlamı olabileceğini savunmuştur (69). Bunun sonrasında yapılan çalışmalardan birinde Thirkettle ve arkadaşları 29 olguluk mezotelyoma serisinde % 97 gibi yüksek bir oranda c-erb B2 poztifliği bildirmiş, hatta % 76 oranında membranöz boyanmanın bulunduğunu göstermiştir. Bu ekspresyonun DNA amplifikasyonu ile değil, m RNA' nın aşırı üretimi ile oluştuğu bildirilmiştir. Thirkettle ve arkadaşları, c-erbB2' nin mezotelyomada önemi olabileceğini düşünmüştür (135). Bunu takip eden başka bir çalışmada ise, 37 mezotelyoma olgusu kullanılmıştır. Bu olgularda izlenen c-erbB2 ekspresyonunun istisnasız sitoplazmik özellikte olduğunu bildirilmiş, böyle bir ekspresyonun DNA amplifikasyonunu ya da artmış m RNA düzeyleri ile ilişkili

olamayacağı, c-erbB2' nin mezotelyomada herhangi bir önem taşımadığı sonucuna varılmıştır (136). Bizim çalışmamızda da epiteloid mezotelyoma olgularının % 30.7, sarkomatoid mezotelyoma olgularının % 32.3, bifazik mezotelyoma olgularının ise % 32' sinde c-erbB2 ekspresyonu gözlenmiş, ancak bu ekspresyonun tamamen sitoplazmik olduğu dikkati çekmiştir. Bu da Horvai ve arkadaşlarının ulaştığı sonuç ile aynı doğrultudadır.

EGFR, tirozin kinaz reseptör ailesinin bir üyesidir. Bu hücre membran reseptörü, hücre çoğalması, differansiyasyonu, migrasyonu ve adezyonunun her aşamasında önemli bir role sahiptir (81). Tümörlerdeki EGFR ekspresyonunun, bu tümörlerin büyüme ve malign potansiyel kazanmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (82). Bu nedenle birçok tümörde, tedavi rejimlerine EGFR inhibisyonuna yönelik seçici tirozin kinaz inhibitörleri sokulmuştur. Malign mezotelyomadaki EGFR ekspresyonunu ve muhtemel prognostik önemini araştıran çalışmalardan birinde 168 mezotelyoma olgusunun 74' ünde (% 44), özellikle de epiteloid alt tipte, EGFR pozitifliği gözlenmiş, bu pozitifliğin 10 olguda membranöz, 26 olguda sitoplazmik, 36 olguda sitoplazmik membranöz özellikte olduğu saptanmıştır. Ancak bu çalışmada EGFR' nin tek başına prognostik bir faktör olmasından çok, başka prognostik faktörler ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (83). Bu çalışmanın öncesinde EGRF ile daha yüksek pozitiflik oranları elde edilmiştir. Dazzi ve arkadaşlarının 1990' da yaptığı çalışmada EGFR ekspresyonu mezotelyoma olgularının % 68' inde ve yine özellikle epiteloid mezotelyomada izlenmiş (137), Ramael' in 1991 yılında yaptığı çalışmada ise bu oran % 100' e çıkmıştır (84). Bizim çalışmamızda ise EGFR ekspresyonu en fazla % 8.5 oranıyla bifazik mezotelyomada, % 3 ve % 2.8 oranları ile de sarkomatoid ve epiteloid mezotelyomada görülmüştür. Histolojik alt tiplere bakıldığında, literatürde görülen epiteloid baskınlığı bizde görülmemektedir. Hastaların sağkalım süreleri hakkında bilgimiz olmadığından da prognoza etkisi açısından yorum yapılamamıştır. Doku mikroarray teknolojisi çok sayıda dokuyu aynı blokta değerlendirebilmeyi sağlayan yeni bir yöntemdir. Yeni dönemlerde arşiv bloklarının kullanılarak yapıldığı retrospektif çalışmalarda kullanımı artmıştır (138). Doku mikroarray yöntemi literatürde ilk olarak 1998 ve 2001 yılları arasında Kannonen, Kallioniemi ve arkadaşlarının yaptığı çeşitli tümör tiplerinde teknik ve immünhistokimyasal

özellikleri araştırdıkları çalışmalarla literatürde görülmeye başlamıştır (139). Bu tümör tipleri meme, deri, prostat, kolorektal, mesane, böbrek, akciğer, mide, over, karaciğer, testis, adrenal ve endometriuma ait karsinomlardır (139, 140, 141). Bu dönemden itibaren de özellikle prostat (142, 143) ve meme (138) tümörlerinde ve değişik genetik bazlı çalışmalarda (141, 140, 144) bu yöntem kullanılmıştır. Doku mikroarray bloklarında klasik parafin bloklara uygulanabilen her yöntem uygulanabilmektedir. Blok üzerindeki her doku aynı sıcaklık, aynı inkübasyon zamanı, aynı yıkama koşullarına maruz kalır. Böylece bu küçük teknik değişikliklerden oluşabilen değerlendirme farklılıkları minimale inmiş olur. Doku mikroarray' in başka bir avantajı ise çok küçük miktarda bir malzeme ile büyük bir grubun analiz edilebilmesidir. Bu yöntemin en önemli kısıtlılığı ise doku miktarıdır. Bazı yazarlar bu yöntemle hazırlanmış bloklardaki doku silindirlerinin çok küçük olduğunu ve tümörü yansıtmadığını savunmaktadır (145). Doku mikroarray bloklarındaki doku silindirlerinin çapları 0.6 mm ile 2 mm arasında değişmektedir (146). Bu bloklardaki doku hacimlerinin yeterliliği ile ilgili yapılan çalışmalar, premalign lezyonlar dışında, ana materyalden alınan iki doku silindiri ile yeterliliğin % 95' in üzerine çıktığını göstermiştir (138). Literatürde malign mezotelyoma ile ilgili doku mikrorray yöntemi kullanılarak, parafin bloklardan immünhistokimyasal inceleme yapılan az da olsa çalışma mevcuttur. Bunlardan ilki Kettunen ve arkadaşlarının 47 malign mezotelyoma olgusu üzerinden yaptığı, doku mikroarray yöntemi ile birlikte cDNA array yöntemini de kullandıkları çalışmadır. Bu çalışmada her olgu 0.6 mm çapında 4 adet, 1 mm çapında 2 adet olmak üzere toplam 6 doku silindiriyle temsil edilmiş ve 5 belirleyici ile immünhistokimyasal inceleme yapılmıştır (147). 2007' de Hinterberger ve arkadaşlarının, 341 malign mezotelyoma olgusunu içeren ve bu olgularda D2-40, kalretinin pozitifliğini irdeleyen çalışmasında, her bir tümör, 0.6 mm çapa sahip 4 doku silindiri ile temsil edilmiştir (128). Malign mezotelyomada EGFR ve PDGFR' nin sağkalıma etkisini araştıran bir çalışmada, 70 mezotelyoma olgusunun her birinden 0.6 mm çapa sahip 6 doku silindiri alınmış ve üzerinde 243' er doku örneği bulunan iki mikroarray bloğu hazırlanmıştır (148). Sienko ve arkadaşlarının yaptığı ve sadece özeti yayınlanan çalışmaya 45 malign mezotelyoma ve 409 akciğer karsinomu olgusu dahil edilmiş ve doku mikroarray yöntemiyle hazırlanan bloklarda yapılan immünhistokimyasal

incelemede D2-40' ın mezotelyoma ve diğer tümörlerdeki ekspresyonları incelenmiştir (42). Bizim çalışmamız da her tümörün 1 mm çapa sahip 1-3 doku silindiriyle temsil edildiği mikroarray blokları ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada çok düşük bir maliyet ile literatürdeki birçok çalışmadan daha yüksek bir mezotelyoma popülasyonu 20 belirleyici için taranabilmiştir. İmmünhistokimyasal belirleyicilerle elde ettiğimiz pozitiflik ve negatiflik oranları, doku mikroarray çalışması olmaksızın, dokunun tümünü içeren parafin bloklarla yapılan çalışmaların sonuçları ile benzer bulunmuştur. Bu da mezotelyomalarda doku mikroarray yönteminin dokuyu temsil etme açısından yeterli olduğunu düşündürmektedir.

Bizim sonuçlarımıza bakılacak olunursa, birçok çalışmadan daha yüksek bir mezotelyoma popülasyonu ile çalışmayı yürütmemizin yanında immünhistokimyasal belirleyicilerle elde ettiğimiz pozitiflik ve negatiflik oranları, doku mikroarray çalışması olmaksızın, parafin bloklarla yapılan çalışmaların sonuçları ile benzer bulunmuştur. Bu değerler de çalışmamızda kullandığımız doku mikroarray yönteminin yeterliliğini ve avantajını göstermektedir.

6. SONUÇLAR

1. Bu çalışmaya 1996-2010 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda ve Ankara'da iki özel laboratuarda raporlanmış malign plevral mezotelyoma olguları taranmış, histolojik kesitlerine ulaşılabilen 148 epiteloid , 51 bifazik (mikst), 26 sarkomatoid, 3' ü ise alt tipi belirlenemeyen toplam 228 olgu çalışmaya dahil edilmiştir.
2. Kontrol grubu olarak 9 benign mezotel proliferasyonu, 19 akciğer adenokarsinomu, 10 invaziv meme karsinomu, 9 mide adenokarsinomu (4 tanesi taşlı yüzük tipinde olmak üzere), 5 kolon adenokarsinomu, 4 over seröz papiller karsinomu, 3 leiomyosarkom, 2 plevral soliter fibröz tümör, 1 fibrosarkom olmak üzere toplam 62 vaka kullanılmıştır.
3. Tüm olguların histolojik kesitleri tekrar incelenmiş, histopatolojik bulgular kaydedilmiş, uygun tümörlü alanlar belirlenmiş ve işaretlenmiştir. "Beecher Instruments Mikroarrayer" ile alıcı blokta 1 mm çap ve 3-4 mm yükseklik gösteren kuyucuklar açılmış, her bir kuyuya, seçilmiş ve işaretlenmiş verici bloktan alınan tümörlü doku yerleştirilmiş. Bu işleme her bir doku silindiri arasında 0,5 mm mesafe kalacak şekilde, aynı sıra devam edilmiştir. Her MA bloğunda, her sırada 13 doku silindiri olmak üzere, toplam 10 sıra bulunmaktadır. Kontrol grubunu temsil eden vakalardan da birer doku silindiri hazırlanmış ve toplam 5 adet MA bloğu elde edilmiştir.
4. Ventana i-View DAB Detection kiti kullanılarak, uygun pozitif kontroller eşiliğinde, Kalretinin, CK5/6, HMWCK, LMWCK, monoklonal ve poliklonal CEA, BCL-2, Desmin, HBME1, D2-40, GLUT1, EMA, CerbB2, MOC31, WT1, ER, TTF1, Ki67, p53, EGFR boyamaları Ventana Benchmark İHK otomatik boyama makinesi ile yapılmıştır.
5. 228 mezotelyoma olgusunun 83'ü (% 36.4) kadın ve 144'ü (% 63.2) erkektir. Bir olgunun cinsiyeti bilinmemektedir.

6. Malign mezotelyoma olgularının en genci 20 yaşında iken, en yaşlı hasta 86 yaşındadır. Kadın ve erkeklerde malign mezotelyomanın görüldüğü yaş ortalaması sırası ile 54.4 ve 54.6' dır.
7. Mezotelyoma alt tip dağılımı cinsiyete göre anlamlı farklılık göstermemektedir.
8. Spesmenlerin 191'i (% 84.5) plevral biyopsi, 19'u (% 8.4) rezeksiyon (plöropnömonektomi) ve 16' sı (% 7.1) dekortikasyon özelliğindedir.
9. Dekortikasyon ya da rezeksiyon materyali ile bifazik mezotelyoma tanısı koyma olasılığı, biyopsi materyali ile bifazik mezotelyoma tanısı koymaya olasılığına göre 2.69 kat daha fazla bulunmuştur. Bu da alınan örnek sayısı arttıkça bifazik mezotelyoma tanısı verme oranının arttığını göstermektedir.
10. Çalışmamızdaki 26 olgudan oluşan sarkomatoid mezotelyoma grubu içerisinde 2 vakanın morfolojisi dezmoplastik mezotelyoma ile uyumlu nitelikler taşımaktadır.
11. Serimizdeki epiteloid mezotelyoma olgularının büyük bir kısmı tübülopapiller varyant özelliğinde iken, bunu solid ve asiner varyantlar izlemektedir.
12. Çalışmamızda 3 vakada histolojik olarak mediastinal lenf nodu tutulumu izlenmiştir. Bu vakalardan biri epiteloid mezotelyoma iken, diğer ikisi bifazik mezotelyoma olgusudur. Bifazik mezotelyoma olgusuna ait metastatik lenf nodu kesitlerinde, bir vakada diffüz epiteloid morfoloji gözlenirken, diğer vakada hem epiteloid, hem de sarkomatoid alanlar bir arada saptanmıştır.
13. Serimizdeki olgular arasında % 18.2 oranında histolojik olarak plevral plak gözlenmiştir. Histolojik tiplere göre bakıldığında ise epiteloid ve bifazik mezotelyomada plevral plak görülme oranının eşit ve % 19.6 olduğu, sarkomatoid mezotelyomada ise plevral plağın % 7.7 oranında görüldüğü saptanmıştır.
14. Epiteloid mezotelyoma olgularında 101/111 (% 91), sarkomatoid mezotelyoma olgularında 6/19 (% 31.6), bifazik mezotelyoma olgularında 30/38 (% 78.9) oranında kalretinin pozitifliği izlenmiştir. Bifazik

mezotelyoma olgularının epiteloid alanlarında % 100 oranında kalretinin pozitifliği saptanırken, sarkomatoid alanlarında bu oran % 40' a düşüş göstermektedir. 47 olguluk kontrol grubumuzda kalretinin ile hiç pozitiflik izlenmemiştir. Bu da ayırıcı tanıda kalretininin güvenilirliğini göstermektedir.

15. Epiteloid mezotelyoma olgularında 109/111 (% 97.3), sarkomatoid mezotelyoma olgularında 5/23 (% 21.7), bifazik mezotelyoma olgularında 29/36 (% 80.6) oranında CK5/6 pozitifliği izlenmiştir. Bifazik mezotelyoma olgularının epiteloid alanlarında % 89.3 oranında CK5/6 pozitifliği saptanırken, sarkomatoid alanlarında bu oran % 40.9' a düşüş göstermektedir. 47 olguluk kontrol grubumuzda CK5/6 ile literatürle benzer nitelikte, 7 vakada (% 14.9) pozitiflik izlenmiştir.

16. Epiteloid mezotelyoma olgularında 105/114 (% 92.1), sarkomatoid mezotelyoma olgularında 8/21 (% 38.1), bifazik mezotelyoma olgularında 24/35 (% 68.6) oranında WT1 pozitifliği izlenmiştir. 47 olguluk kontrol grubumuzda WT1 ile 4 (% 8.5) tümörde pozitiflik izlenmiş, bunlarının tümünün overin seröz karsinomu olduğu saptanmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar, WT1' in overe ait malignitelerle ayırım dışında, malign mezotelyoma için yararlı bir belirleyici olduğunu göstermektedir.

17. Epiteloid mezotelyoma olgularında 72/107 (% 67.3), sarkomatoid mezotelyoma olgularında 3/20 (% 9.7), bifazik mezotelyoma olgularında 8/34 (% 23.5) oranında D2-40 pozitifliği izlenmiştir. 47 olguluk kontrol grubumuzda D2-40 ile sadece bir akciğer adenokarsinomu olgusunda soluk sitoplazmik fokal pozitiflik elde edilmiştir. Kalretinin, CK5/6 ve WT1' e göre belirgin olarak düşük bir pozitiflik oranı göstermekle birlikte, yine tüm mezotelyoma beliryecileri ile benzer olarak, D2-40 da epiteloid mezotelyomayı daha kuvvetle işaret etmektedir.

18. Epiteloid mezotelyoma olgularında 103/109 (% 94.5), sarkomatoid mezotelyoma olgularında 5/18 (% 27.8), bifazik mezotelyoma olgularında 29/39 (% 74.4) oranında HBME1 pozitifliği izlenmiştir. 47 olguluk kontrol grubumuzda 4 overin seröz karsinomu ve 6' sı akciğer adenokarsinomu

olmak üzere toplam 14 (% 29,8) olguda HBME1 pozitifliği gözlenmiştir. Mezotelyomadaki HBME1 boyanma patterni ile diğer tümörlerdeki boyanma patterni arasında belirgin bir fark izlenmemiştir. Bu da bize, HBME1' in özellikle overe ait tümörlerle olmak üzere, mezotelyoma ayırıcı tanısında çok da yönlendirici olmayacağını göstermektedir.

19. Kalretininin duyarlılığı epiteloid mezotelyomada % 85.9, sarkomatoid mezotelyomada % 21.9, bifazik mezotelyomada % 72.7 olduğu gözlenmiş, seçiciliğin ise tüm alt tiplerde % 100 olduğu saptanmıştır. Kalretinin duyarlılığının sarkomatoid mezotelyomada belirgin olarak düşmesi dikkat çekicidir.

20. CK5/6 duyarlılığı epiteloid mezotelyomada % 93.5 sarkomatoid mezotelyomada % 18.8, bifazik mezotelyomada % 79.2 olduğu gözlenmiş, seçiciliğin tüm alt tiplerde % 85.1 olduğu saptanmıştır. CK5/6 duyarlılığının sarkomatoid mezotelyomada belirgin olarak düşmesi dikkat çekicidir.

21. WT1 duyarlılığı epiteloid mezotelyomada % 85.3, sarkomatoid mezotelyomada % 27.3, bifazik mezotelyomada % 68.6 olduğu gözlenmiş, seçiciliğin tüm alt tiplerde % 91.5 olduğu saptanmıştır. WT1 duyarlılığının sarkomatoid mezotelyomada mezotelyal belirleyiciler arasında en yüksek değerde olması dikkat çekicidir.

22. D2-40 duyarlılığı epiteloid mezotelyomada % 59.6, sarkomatoid mezotelyomada % 12.9, bifazik mezotelyomada % 23.5 olduğu gözlenmiş, seçiciliğin tüm alt tiplerde % 97.9 olduğu saptanmıştır.

23. HBME1 duyarlılığı epiteloid mezotelyomada % 87.8, sarkomatoid mezotelyomada % 19.4, bifazik mezotelyomada % 70.1 olduğu gözlenmiş, seçiciliğin tüm alt tiplerde % 70.2 olduğu saptanmıştır.

24. Keratinler, kalretinin, CK5/6 ve WT1 belirleyicilerinin birarada kullanılması ile elde edilen duyarlılık ve seçicilik oranları dikkate alındığında, epiteloid ve bifazik mezotelyomalarda kalretinin ve CK5/6 kombinasyonunun duyarlılık ve seçiciliği en fazla arttırdığı gözlenmiş, sarkomatoid mezotelyomada ise bu sonuca ancak keratin, kalretinin, CK5/6 ve WT1 dörtlü kombinasyonu ile ulaşıldığı dikkat çekmiştir.

25. GLUT1 ile epiteloid mezotelyomalarda % 55.1, bifazik mezotelyomalarda % 47.6, sarkomatoid mezotelyomalarda % 40, epiteloid morfolojiye sahip diğer malign tümörlerde % 40 oranında pozitiflik saptanmıştır. Reaktif mezotel proliferasyonu olgularının tümünde GLUT1 negatif bulunmuştur. Bir malignite belirleyicisi olarak vurgulanan GLUT1' in malign tümörlerde beklendiği kadar yüksek oranda pozitif olmaması dikkat çekici bir bulgudur.

26. Desmin ile malign mezotelyoma olgularının % 5' inde, 9 reaktif mezotel proliferasyonu örneğimizin 4' ünde pozitiflik saptanmıştır.

27. EMA ile epiteloid mezotelyoma olgularında % 80.7, sarkomatoid mezotelyoma olgularında % 41.9, bifazik mezotelyoma olgularında % 79.6 oranında pozitiflik izlenmiş, reaktif mezotel örnekleri tümüyle negatif bulunmuştur.

28. Ki67 ile belirlenen proliferasyon indeksi epiteloid mezotelyoma olgularında ortalama % 8.1, sarkomatoid mezotelyoma olgularında ortalama % 12.8, bifazik mezotelyoma olgularında ortalama % 9.5 ve reaktif mezotel olgularında % 6.5 olarak bulunmuştur. Malign mezotelyomada en yüksek proliferasyon indeksi % 60 olarak izlenirken, reaktif mezotel proliferasyonunda belirlenen en yüksek proliferasyon indeksinin % 20 olduğu saptanmıştır.

29. P53' ün 8 olgu hariç tüm mezotelyomalarda, tümör hücrelerinin en az % 5, en fazla % 90' ında eksprese edildiği gözlenmiştir. Dokuz reaktif mezotel örneğinin de 6' sında, hücrelerin en az % 1, en çok % 30' unu ilgilendiren bir pozitiflik saptanmıştır.

30. Çalışmamız mikroarray yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada çok düşük bir maliyet ile literatürdeki birçok çalışmadan daha yüksek bir mezotelyoma popülasyonu 20 belirleyici için taranabilmiştir. İmmünhistokimyasal belirleyicilerle elde ettiğimiz pozitiflik ve negatiflik oranları, doku mikroarray çalışması olmaksızın, dokunun tümünü içeren parafin bloklarla yapılan çalışmaların sonuçları ile benzer bulunmuştur. Bu da mezotelyomalarda doku mikroarray yönteminin dokuyu temsil etme açısından yeterli olduğunu düşündürmektedir.

7. ÖZET

Malign Plevral Mezotelyomalarda Doku Mikroarray Yöntemiyle İmmünprofilin İncelenmesi

AMAÇ: Malign mezotelyoma, başta plevra olmak üzere tüm serozal yüzeylerdeki mezotelyal hücrelerden köken alan, % 100 mortalite oranına sahip, agresif gidişli primer bir tümördür. Ülkemizde özellikle Orta ve Güneydoğu Anadolu'da mesleki olmayan, asbest ve erionit maruziyeti nedeniyle mezotelyoma görülme oranının yüksek olduğu ve mezotelyomanın bu bölgelerde önemli bir halk sağlığı problemi oluşturduğu bilinmektedir. Biz de bu çalışmayı, coğrafi kaynaklı (erionit ve asbest) mezotelyomanın sık görüldüğü ülkemizde kendi serimizde mezotelyoma olgularının dökümünü yapmak, tiplerini belirlemek ve uygun immünhistokimyasal paneli kendi koşullarımızla değerlendirmek için planladık.

MATERYAL-METOD: 1996-2010 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda ve Ankara'da iki özel laboratuarda tanı almış toplam 228 mezotelyoma olgusu çalışmaya dahil edilmiştir. Kontrol grubunu ise mezotelyoma dışı tümörler ve reaktif mezotel hiperplazisi örneklerini içeren toplam 62 olgu oluşturmuştur. Seçilen bloklardan, "microarrayer" ile 1 mm uzun çapında doku silindirleri çıkartılarak, tüm örnekleri içeren toplam 5 adet blok hazırlanmıştır. Bu bloklardan hazırlanan kesitlere immünhistokimyasal olarak kalretinin, CK5/6, HMWCK, LMWCK, monoklonal ve poliklonal CEA, BCL-2, desmin, HBME1, D2-40, GLUT1, EMA, CerbB2, MOC31, WT1, ER, TTF1, Ki67, p53, EGFR antikorları uygulanmıştır.

SONUÇLAR: 228 malign plevral mezotelyoma olgusunun 148'i (% 64.9) epiteloid, 26'sı (% 11.4) sarkomatoid, 51'i (%22.4) bifazik mezotelyoma özelliğindedir. Olgularda erkek / kadın oranı 1.73 / 1 olarak belirlenmiştir. Yaş ortalamaları erkek ve kadınlarda benzer olup, en genç hasta 20 yaşındadır.

Epiteloid mezotelyoma olgularında kalretinin, CK5/6, WT1, D2-40 ve HBME1'in pozitiflik oranları sırası ile % 91, % 97.3, % 92.1, % 67.3 ve % 94.5

olarak belirlenmiştir. Sarkomatoid mezotelyomada pozitiflik oranları aynı sıra ile % 31.6, % 21.7, % 38.1, % 9.7, % 27.8; bifazik mezotelyomada ise % 78.9, % 80.6, % 68.6, % 23.5 ve % 74.4 olarak tesbit edilmiştir.

Desmin reaktif mezotel proliferasyonu örneklerinin % 44, malign mezotelyoma örneklerinin ise % 5'inde pozitflik göstermiştir. EMA reaktif mezotel örneklerinde tamamen negatifken, epiteloid mezotelyomalarda % 80.7, sarkomatoid mezotelyomalarda % 41.9, bifazik mezotelyomalarda % 79.6 oranında pozitiflik göstermiştir. GLUT1 ile epiteloid mezotelyomalarda % 59.3, sarkomatoid mezotelyomalarda % 52.6, bifazik mezotelyomada % 66.7 oranında pozitiflik saptanmıştır. Reaktif mezotel örneklerinin tümüyle GLUT1 negatif olduğu gözlenmiştir. Ki67 ile belirlenen proliferasyon indeksi mezotelyoma olgularında ortalama % 10.1 iken, reaktif mezotel örneklerinde % 10.2 olarak bulunmuştur. P53 değerleri mezotelyomalarda ortalama % 19.1 , reaktif mezotel örneklerinde ise p53 ortalaması % 10.1' dir.

TTF1, CEA(m), CEA(p) ile malign mezotelyoma olguları tümüyle negatif bulunurken, MOC31 ile epiteloid mezotelyomalarda % 14.2, sarkomatoid mezotelyomalarda % 4.8 oranında soluk, fokal pozitiflik saptanmıştır.

YORUM: Mezotelyoma ayırıcı tanısında immünhistokimya en önemli yardımcı tanı yöntemidir. İmmünhistokimyasal panel oluşturulurken epiteloid ve bifazik mezotelyoma olgularında kalretinin ve CK5/6' nın, sarkomatoid mezotelyomada ise bu iki belirleyiciye ek olarak WT1 ve keratinlerin kullanılmasının yararlı olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Malign Plevral Mezotelyoma, İmmünhistokimya, Ayırıcı Tanı, Doku Mikroarray

SUMMARY

A Tissue Microarray Analysis of Immunohistochemical Profile in Malignant Mesothelioma

PURPOSE: Malignant mesothelioma is an aggressive primary tumor that mainly develops from pleura and peritoneum and has 100 % mortality rate. In our country, especially in Central and Southeastern Anatolia, incidence of malignant mesothelioma is significantly high, due to non-occupational asbestos and erionit exposure. In this study we aimed to investigate the morphological and immunohistochemical features of malignant mesothelioma in our series.

MATERIALS AND METHODS: Total of 228 malignant pleural mesothelioma cases diagnosed in Ankara University, Faculty of Medicine, Department of Pathology and two private pathology laboratories, between 1996-2010 have been included in the study. The control group consisted of 53 cases of non-mesothelial malignant tumors and 9 cases of reactive mesothelial hyperplasia. 5 tissue microarray blocks were obtained by taking 1 mm tissue cylinders from selected blocks with a microarrayer. These microarray blocks were stained by calretinin, CK5/6, HMWCK, LMWCK, monoclonal ve polyclonal CEA, BCL-2, desmin, HBME1, D2-40, GLUT1, EMA, CerbB2, MOC31, WT1, ER, TTF1, Ki67, p53 and EGFR.

RESULTS: 148 of 228 (64.9 %) cases were epitheloid, 26 of 228 (11.4%) cases were sarkomatoid and 51 of 228 (22.4 %) cases were biphasic mesothelioma. Male / female ratio was 1.73 / 1. The mean ages of men and women were similar. The youngest patient was a 20-year-old female.

Calretinin, CK5/6, WT1, D2-40, HBME1 were positive in 91 %, 97.3 %, 92.1 %, 67.3 % , 94.5 % epitheloid mesothelioma cases, respectively. In sarcomatoid mesotheliomas positive staining with the above mentioned markers were observed in 31,6 %, 21.7 %, 38.1%, 9.7 % and 27.8 % respectively. In the biphasic group, the percentage of positive cases were 78.9 % for calretinin, 80.6 % for CK5/6, 68.6 % for WT1, 23.5 % for D2-40 and 74.4 % for HBME1.

Desmin was positive in 44 % of reactive mesothelial proliferations and 5 % of malignant mesotheliomas. EMA was negative in all reactive mesothelial proliferations, but positive in 80.7 % of epitheloid, 41.9 % of sarcomatoid, and 79.6 % of biphasic mesotheliomas. 59.3 % of epitheloid mesotheliomas, 52.6 % of sarcomatoid mesotheliomas and 66.7 % of biphasic mesotheliomas was immunoreactive with GLUT1. GLUT1 was negative in all reactive mesothelial proliferations. The mean labeling indexes for Ki67 in malignant mesothelioma and reactive mesothelial proliferations were 10.1 % and 10.2 %, respectively. The mean values of p53 in mesotheliomas and reactive mesothelial proliferations were 19.2 % and 10.1 %, respectively.

TTF1, CEA(m), CEA(p) were totaly negative in mesothelioma cases. MOC31 was positive in 14.2 % of epitheloid and 4.8 % of sarcomatoid mesotheliomas.

CONCLUSION: Immunhistochemistry is an essential method in mesotheloma diagnosis. CK5/6 and calretinin must be present in immunhistochemical panel of epithelioid and biphasic mesotheliomas. Keratins and WT1 should be added to this panel, in sarcomatoid tumors.

Key Words: Malignant Pleural Mesothelioma, Immunohistochemistry, Differantial Diagnosis, Tissue Microarray

9. KAYNAKLAR

1. Wagner JC, Sleegs CA, Marchand P. Diffuse pleural mesothelioma and asbestos exposure in the North Western Cape Province. Br J Med 1960; 17: 260.

2. Burdorf A, Jarvholm B, Englund A. Explaining differences in incidence rates of pleural mesothelioma between Sweden and the Netherlands. Int J Cancer 2005; 113: 298.

3. Emri S, Demir AU. Malignant pleural mesothelioma in Turkey, 2000–2002. Lung Cancer. 2004; 45: 17-20.

4. Dikensoy O. Mesothelioma due to environmental exposure to erionite in Turkey. Curr Opin Pulm Med. 2008; 14: 322-5.

5. Buthor KJ. My approach to the diagnosis of mesothelial lesions. J.Clin Pathol 2006; 59: 564-574.

6. Suster S, Moran CA. Application and limitations of immunhistochemistry in the diagnosis of malignant mesothelioma. Adv Anat Pathol 2006; 13: 316-329.

7. Light RW. Anatomy of the Pleura in: Pleural Diseases. Lipincott, Williams and Wilkins, 2001; 1-8.

8. Wang NS. Anatomy of the Pleura. Clin Chest Med 1998; 19: 229-240.

9. Albertine KH, Wiener-Kronish JP, Roos PJ. Structure, blood, supply and lymphatic vessels of the sheep's visceral pleura. Am J Anat 1982; 165: 277-294.

10. Carter D, True L, Otis NO. Thorax and Seous Membranes. In: Mills SE 3. ed. Histology for Pathologists. Lipincott Williams and Wilkins, 2007: 547-560.

11. Sahn SA. The pleura. Am Rev Respir Dis 1988; 138: 184-234.

12. Anthony VB, Sahn SA, Mossman B. Pleural cell biology in health and disease. Am Rev Respir Dis 1992; 145: 1236-1239.

13. Gaudio E, Rendina EA, Pannarale L. Surface morphology of the human pleura: A scanning electron microscopic study. Chest 1998; 92: 149-153.

14. Travis WD, Brambilla E, Hermelink HKM, Haris CC. Tumours of the pleura. Mesothelioma. World Health Organization Classification of Tumours Pathology and Genetics Tumours of the Lung, Thymus and Heart, IARC. Lyon(France) 2004; 125-144.

15. Perçinel S, Sak SD. Malign plevral mezotelyomada histopatoloji. Turkiye Klinikleri J Thor Surg-Special Topics 2008; 1: 27-52.

16. Christensen BC, Godleski JJ, Marsit CJ, Houseman EA, Lopez-Fagundo CY, Longacker JL, Bueno R, Sugarbaker DJ, Nelson HH, Kelsey KT. Asbestos exposure predicts cell cycle control gene promoter methylation in pleural mesothelioma. Carcinogenesis 2008; 29: 1555–1559.

17. Rom WN, Travis WD, Brody AR. Cellular and molecular basis of the asbestos related diseases. Am Rev Respir Dis 1991; 143: 408.

18. Weiner SJ, Neragi-Miandoab S. Pathogenesis of malignant pleural mesothelioma and the role of environmental and genetic factors. J Cancer Res Clin Oncol 2009; 135: 15-27.

19. Weiss SW, Goldblum JR. Mesothelioma. In: Weiss SW, Goldblum JR. (ed) Enzinger & Weiss's Soft Tissue Tumors. 5th ed. St Louis. Mosby; 2008; 789-823.

20. Allen TC. Recognition of Histopathologic Patterns of Diffuse Malignant Mesothelioma in Differential Diagnosis of Pleural Biopsies. Arch Pathol Lab Med 2005; 129: 1415–1420.

21. Corson J. Pathology of mesothelioma. Thorac Surg Clin 2004; 14: 447-60.

22. Allen TC, Cagle PT, Churg AM, Colby TV, Gibbs AR, Hammar SP, Corson JM, Grimes MM, Ordonez NG, Roggli V, Travis WD, Wick MR. Localized malignant mesothelioma. Am J Surg Pathol 2005; 29: 866-73.

23. Attanoos RL, Gibbs AR. Pathology of malignant mesothelioma. Histopathol 1997; 30: 403-18.

24. Rosai J. Respiratuary tract. In: Rosai J.(ed) Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 9th ed., Edinburg, Mosby. 2004; 361-364.

25. Ordonez NG. The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma. A comparative study of epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma. Am J Surg Pathol 2003; 27: 1031-51.

26. Churg A, Colby TV, Cagle P, Corson J, Gibbs AR, Gilks B, Grimes M, Hammar S, Roggli V, Travis WD. The seperation of benign and malignant mesothelial proliferations. Am J Surg Pathol 2000; 24(9): 1183-200.

27. Kradin RL, Mark EJ. Distinguishing benign mesothelial hyperplasia from neoplasia: a practical approach. Semin Diagn Pathol 2006; 23: 4-14.

28. Cagle PT, Churg A. Differential diagnosis of benign and malignant mesothelial proliferations on pleural biopsies. Arch Pathol Lab Med 2005; 129: 1421-27.

29. King J, Thatcher N, Pickering C, Hasleton P. Sensitivity and specificity of immunohistochemical antibodies used to distinguish between benign and malignant pleural disease: a systematic review of published reports. Histopathol 2006; 49: 561-68.

30. Ordonez NG, What are the current best immunohistochemical markers for the diagnosis of epithelioid mesothelioma? A review and update. Hum Pathol 2007; 38: 1–16.

31. Doglioni C, Dei Tos AP, Laurino L, Iuzzolino P, Chiarelli C, Celio MR, Viale G. Calretinin: a novel immunocytochemical marker for mesothelioma. Am J Surg Pathol 1996; 20: 1037–1046.

32. Lugli A, Forster Y, Haas P, Nocito A, Bucher C, Bissig H, Mirlacher M, Storz M, Mihatsch MJ, Sauter G. Calretinin expression in human normal and neoplastic tissues: a tissue microarray analysis on 5233 tissue samples. Hum Pathol 2003; 34: 994–1000.

33. Carella R, Deleonardi G, D'Errico A, Salerno A, Egarter-Vigl E, Seebacher C, Donazzan G, Grigioni WF. Immunohistochemical panels for differentiating

epithelial malignant mesothelioma from lung adenocarcinoma: a study with logistic regression analysis. Am J Surg Pathol 2001; 25: 43–50.

34. Attanoos RL, Dojcinov SD, Webb R, Gibbs AR. Anti-mesothelial markers in sarcomatoid mesothelioma and other spindle cell neoplasms. Histopathology 2000; 37: 224–231.

35. Lucas DR, Pass HI, Madan SK, Adsay NV, Wali A, Tabaczka P, Lonardo F. Sarcomatoid mesothelioma and its histological mimics: a comparative immunohistochemical study. Histopathology 2003; 42: 270–279.

36. Chu PG, Weiss LM. Expression of cytokeratin 5/6 in epithelial neoplasms: an immunohistochemical study of 509 cases. Mod Pathol 2002; 15: 6–10.

37. Ordonez NG. Immunohistochemical Diagnosis of Epithelioid Mesothelioma An Update. Arch Pathol Lab Med. 2005; 129: 1407–1414.

38. Marks A, Sutherland DR, Bailey D, Iglesias J, Law J, Lei M, Yeger H, Banerjee D, Baumal R. Characterization and distribution of an oncofetal antigen (M2A antigen) expressed on testicular germ cell tumours. Br J Cancer 1999; 80: 569–578.

39. Kahn HJ, Bailey D, Marks A. Monoclonal antibody D2-40, a new marker of lymphatic endothelium, reacts with Kaposi's sarcoma and a subset of angiosarcomas. Mod Pathol 2002; 15: 434–440.

40. Kahn HJ, Marks A. A new monoclonal antibody, D2-40, for detection of lymphatic invasion in primary tumors. Lab Invest 2002; 82: 1255–1257.

41. Chu AY, Litzky LA, Pasha TL, Acs G, Zhang PJ. Utility of D2-40, a novel mesothelial marker, in the diagnosis of malignant mesothelioma. Mod Pathol 2005; 18: 105–110.

42. Sienko A, Zander DS, Killen D, Singhal N, Barrios R, Haque A, Cagle PT. D2-40 is a novel new marker of malignant mesothelioma (MM): tissue microarray study of 45 MM versus 409 lung carcinomas and primary non-mesothelial neoplasms of the pleura and chest wall. Mod Pathol 2005; 18 (Supp 1): 318. (abstract)

43. Ordonez NG. D2-40 and podoplanin are highly specific and sensitive immunohistochemical markers of epithelioid malignant mesothelioma. Hum Pathol 2005; 36: 372- 80.

44. Oates J, Edwards C. HBME1, MOC31, WT1 and calretinin: an assessment of recently described markers for mesothelioma and adenocarcinoma. Histopathology. 2000; 36: 341-347.

45. Ordonez NG. Value of thyroid transcription factor-1, E-cadherin,BG8, WT1, and CD44S immunostaining in distinguishing epithelial pleural mesothelioma from pulmonary and nonpulmonary adenocarcinoma. Am J Surg Pathol. 2000; 24: 598–606.

46. Yaziji H, Battifora H, Barry TS, Hwang HC, Bacchi CE, McIntosh MW, Kussick SJ, Gown AM. Evaluation of 12 antibodies for distinguishing epithelioid mesothelioma from adenocarcinoma: identification of a three antibody immunohistochemical panel with maximal sensitivity and specificity. Mod Pathol 2006; 19: 514–523

47. Afify AM, Al-Khafaji BM. Diagnostic utility of thyroid transcription factor-1 expression in adenocarcinomas presenting in serous fluids. Acta Cytol 2002; 46: 675-678.

48. Ikeda K, Clark JC, Shaw-White JR, Stahlman MT, Boutell CJ, Whitsett JA. Gene structure and expression of human thyroid transcription factor-1 in respiratory epithelial cells. J Biol Chem 1995; 270: 8108-14.

49. Reynolds PR, Mucenski ML, Whitsett JA. Thyroid transcription factor (TTF) -1 regulates the expression of midkine (MK) during lung morphogenesis. Dev Dyn 2003; 227: 227-37.

50. Gold P, Freeman S. Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. J Exp Med 1965; 122; 467–481.

51. Comin CE, Novelli L, Boddi V, Paglierani M, Dini S. Calretinin, thrombomodulin, CEA, and CD15: a useful combination of immunohistochemical markers for differentiating pleural epithelial

mesothelioma from peripheral pulmonary adenocarcinoma. Hum Pathol 2001; 32: 529- 36.

52. Gould GW, Holman GD. The glucose transporter family: structure, function and tissue specific expression. Biochem J 1993; 295: 329–341.

53. Pardridge WM, Boado RJ, Farrell CR. Brain-type glucose transporter (GLUT1) is selectively localized to the blood–brain barrier. Studies with quantitative western blotting and in situ hybridization. J Biol Chem 1990; 265: 18035–18040.

54. Kato Y, Tsuta K, Seki K, Maeshima AM, Watanabe S, Suzuki K, Asamura H, Tsuchiya R, Matsuno R. Immunohistochemical detection of GLUT1 can discriminate between reactive mesothelium and malignant mesothelioma. Mod Pathol 2007; 20: 215–220.

55. Walts AE, Said JW, Shintaku IP. Epithelial membrane antigen in the cytodiagnosis of effusions and aspirates: immunocytochemical and ultrastructural localisation in benign and malignant cells. Diagn Cytopathol 1987; 3; 41–49.

56. Attanoos RL, Griffin A, Gibbs AR. The use of immunohistochemistry in distinguishing reactive from neoplastic mesothelium. A novel use for desmin and comparative evaluation with epithelial membrane antigen, p53, platelet-derived growth factor-receptor, P glycoprotein and BCL-2. Histopathology 2003; 43: 231-238.

57. Wolanski KD, Whitaker D, Shilkin KB, Henderson DW. The use of epithelial membrane antigen and silver-stained nucleolar organizer regions testing in the differential diagnosis of mesothelioma from benign reactive mesothelioses. Cancer 1998; 82; 583–590.

58. Casalots J, Tarroch X, Forcada P. Utility of epithelial membrane antigen and p53 in the differential diagnosis of benign reactive processes from malignancy in pleural biopsy specimens. Virchows Arch 1999; 435; 286.

59. Cury PM, Butcher DN, Corrin B, Nicholson AG. The use of histological and immunohistochemical markers to distinguish pleural malignant mesothelioma

and in situ mesothelioma from reactive mesothelial hyperplasia and reactive pleural fibrosis. J Pathol 1999; 189; 251–257.

60. Dejmek A, Hjerpe A. Reactivity of six antibodies in effusions of mesothelioma, adenocarcinoma and mesotheliosis: stepwise logistic regression analysis. Cytopathology 2000; 11; 8–17.

61. Lu QL, Abel P, Foster CS, Lalani EN. Bcl-2: role in epithelial differentiation and oncogenesis. Hum Pathol 1996; 27; 102–110.

62. Narasimhan SR, Yang L, Gerwin BI, Broaddus VC. Resistance of pleural mesothelioma cell lines to apoptosis: relation to expression of bcl-2 and bax. Am J Physiol 1998; 275; 165–171.

63. Lee AY, Raz DJ, He B, Jablons DM. Update on the Molecular Biology of Malignant Mesothelioma. Cancer 2007; 109: 1454–61.

64. Segers K, Ramael M, Singh SK, Weyler J, Van Meerbeeck J, Vermeire P, Van Marck E. Immunoreactivity for bcl-2 protein in malignant mesothelioma and non-neoplastic mesothelium. Virchows Arch 1994; 424; 631-634.

65. Lester SC. Manual of Surgical Pathology. Second edition. Elsevier 2006: 112-113.

66. Stern DF, Heffernan PA, Weinberg RA. P185, a product of the neu proto-oncogene, is a receptor-like protein associated with tyrosine kinase activity. Mol Cell Biol 1986; 6: 1729 1740.

67. Paik S, Bryant J, Park C, Fisher B, Tan-Chiu E, Hyams D, Fisher ER, Lippman ME, Wickerham DL, Wolmark N. ErbB2 and response to doxorubicin in patients with axillary lymph node positive, hormone receptor negative breast cancer. J Natl Cancer Inst 1998; 90: 1361-1370.

68. Clark GM. Should select of adjuvant chemotherapy for patients with breast cancer be based on erb-B2 status? J Natl Cancer Inst 1998; 90: 1320-1321.

69. Suo Z, Risberg B, Kalsson MG, Willman K, Tierens A, Skovlund E, Nesland JM. EGFR family expression in breast carcinomas. C erbB-2 and c-erbB-4 receptors have different effects on survival. J Pathol 2002; 196: 17–25.

70. Ascoli V, Scalzo CC, Nardi F. C-erbB-2 oncoprotein immunostaining in serous effusions. Cytopathology 1993; 4: 207–218.

71. Suzuki Y, Weston A, Ashley R. Immunohistochemical analysis of oncoproteins and growth factors in human malignant mesotheliomas. Oncol Rep 1995; 2:897–902.

72. Mayall FG, Goddard H, Gibbs AR. Intermediate filament expression in mesotheliomas: leiomyoid mesotheliomas are not uncommon. Histopathology 1992; 21; 453–457.

73. Ramael M, Lemmens G, Eerdekens C, Buysse C, Deblier I, Jacobs W, van Marck E. Immunoreactivity for p53 protein in malignant mesothelioma and non-neoplastic mesothelium. J Pathol 1992; 168; 371–375.

74. Roberts F, Harper CM, Downie I, Burnett RA. Immunohistochemical analysis still has a limited role in the diagnosis of malignant mesothelioma.A study of thirteen antibodies. Am J Clin Pathol 2001; 116; 253–262.

75. Hasteh F, Lin GY, Weidner N, Michael CW. The use of immunohistochemistry to distinguish reactive mesothelial cells from malignant mesothelioma in cytologic effusions. Cancer Cytopathol 2010 25; 118: 90-6.

76. Gerdes J, Li L, Schlueter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Gerlach C, Stahmer I, Kloth S, Brandt E, Flad HD. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. Am J Pathol 1991; 138: 867-73.

77. Comin CE, Anichini C, Boddi V, Novelli L, Dini S. MIB-1 proliferation index correlates with survival in pleural malignant mesothelioma. Histopathology 2000; 36: 26–31.

78. Bongiovanni M, Cassoni P, De Giuli P, Viberti L, Cappia S, Ivaldi C, Chiusa L, Bussolati G. p27(kip1) immunoreactivity correlates with long term survival in pleural malignant mesothelioma. Cancer 2001; 92: 1245–50.

79. Çakir C, Güllüoğlu MG, Yılmazbayhan D. Cell proliferation rate and telomerase activity in the differential diagnosis between benign and malignant mesothelial proliferations. Pathology 2006; 38: 10–15.

80. Taheri ZM, Mehrafza M, Mohammadi F, Khoddami M, Bahadori M, Masjedi MR. The diagnostic value of Ki-67 and repp86 in distinguishing between benign and malignant mesothelial proliferations. Arch Pathol Lab Med 2008; 132: 694-697.

81. Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer. Signalling mechanisms and therapeutic opportunities. Eur J Cancer 2001; 37(4): 3-8.

82. Walker R. The erbB/HER type 1 tyrosine kinase receptor family. J Pathol 1998; 185: 234 235.

83. Edwards JG, Swinson DE, Jones JL, Waller DA, O'Byrne KJ. EGFR expression: associations with outcome and clinicopathological variables in malignant pleural mesothelioma. Lung Cancer 2006; 54: 399-407.

84. Ramael M, Segers K, Buysse C, Van den Bossche J, Van Marck E. Immunohistochemical distribution patterns of epidermal growth factor receptor in malignant mesothelioma and non-neoplastic mesothelium. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol 1991; 419: 171-175.

85. Azumi N, Ben-Ezra J, Battifora H. Immunophenotypic diagnosis of leiomyosarcomas and rhabdomyosarcomas with monoclonal antibodies to muscle-specific actin and desmin in formalin-fixed tissue. Mod Pathol 1988; 1; 469.

86. Parham DM, Dias P, Kelly DR, Rutledge JC, Houghton P. Desmin positivity in primitive neuroectodermal tumours of childhood. Am J Surg Pathol 1992; 16; 483-492.

87. Folpe AL, Patterson K, Gown AM. Antibodies to desmin identified the blastemal component of neuroblastoma. Mod Pathol 1997; 10; 895.

88. Hurlimann J. Desmin and neural marker expression in mesothelial cells and mesotheliomas. Hum Pathol 1994; 25; 753.

89. Scoones DJ, Richman PI. Expression of desmin and smooth muscle actin in mesothelial hyperplasia and mesothelioma. J Pathol 1993; 169; 188-9.

90. Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins: biology and pathology. Histochem Cell Biol 2008; 129: 705-733.

91. Rudd RM. Malignant mesothelioma. Br Medl Bull 2010; 93: 105–123.

92. Sulhattin Arslan, Malign plevral mezotelyoma. JCAM 2010; 1-6.

93. Hasegawa S, Tanaka F. Malignant mesothelioma: current status and perspective in Japan and the world. Gen Thorac Cardiovasc Surg 2008; 56: 317–323.

94. Köktürk N, Fırat P, Akay H, Kadilar C, Ozturk C, Zorlu F, Gungen Y, Emri S. prognostic significance of bax and fas ligand in erionite and asbestos ınduced Turkish malignant pleural mesothelioma. Lung Cancer 2005; 50: 189-198.

95. Milano MT,Zhang H. Malignant pleural mesothelioma. A population-based study of survival. J Thorac Oncol 2010; 5: 1841-1848.

96. Flores RM, Zakowski M, Venkatraman E, Krug L, Rosenzweig K, Dycoco J, Lee C, Yeoh C, Bains M, Rusch V. Prognostic factors in the treatment of malignant pleural mesothelioma at a large tertiary referral center. J Thorac Oncol 2007; 2: 957-965.

97. Mimura T, Ito A, Sakuma T, Ohbayashi C, Yoshimura, Tsubota N, Okita Y, Okada M. Novel marker D2-40, combined with calretinin, CEA, and TTF-1 An optimal set of ımmunodiagnostic markers for pleural mesothelioma. Cancer 2007; 109(5): 933-938.

98. Nojiri S, Gemba K, Aoe K, Kato K, Yamaguchi T, Sato T, Kubota K, Kishimoto T. Survival and prognostic factors in malignant pleural mesothelioma: A retrospective study of 314 patients in the West Part of Japan. Jpn J Clin Oncol 2010; 1-8.

99. Iyoda A, Yusa T, Kadoyama C, Sasakı K, Kımura H, Yamakawa H, Shıba M, Fujısawa T, Yoshıno I. Diffuse malignant pleural mesothelioma: a multi-institutional clinicopathological study. Surg Today 2008; 38: 993-998.

100. Metıntas M, Metıntas S, Ucgun I, Gıbbs AR, Harmancı E, Alatas F, Ergınel S, Tel N, Pasaoglu O. Prognostic factors in diffuse malignant pleural mesothelioma: effects of pretreatment clinical and laboratory characteristics. Respir Med 2001; 95: 829-835.

101. Deniz H, Kibar Y, Guldur ME, Bakır K. Is D2-40 a useful marker for distinguishing malignant mesothelioma from pulmonary adenocarcinoma and benign mesothelial proliferations? Res Pract 2009; 205: 749-752.

102. Tanrikulu AC, Abakay A, Kaplan MA, Küçüköner M, Palanci Y, Evliyaoglu O, Sezgi C, Sen H, Carkanat Aİ, Kirbas G. A clinical, radiographic and laboratory evaluation of prognostic factors in 363 patients with malignant pleural mesothelioma. Respiration 2010; 80: 480-487.

103. Pinton G, Brunelli E, Murer B, Puntoni R, Puntoni M, Fennell DA, Gaudino G, Mutti L, Moro L. Estrogen receptor-beta affects the prognosis of human malignant pleural mesothelioma. Cancer Res 2009; 69: 4598-604.

104. Wolf AS, Richards WG, Tilleman TR, Chirieac L, Hurwitz S, Bueno R, Sugarbaker DJ. Characteristics of malignant pleural mesothelioma in women. Ann Thorac Surg 2010; 90: 949-956.

105. Bueno R, Reblando J, Glickman J, Jaklitsch MT, Lukanich JM, Sugarbaker DJ. Pleural biopsy: a reliable method for determining the diagnosis but not subtype in mesothelioma. Ann Thorac Surg 2004; 78(5): 1774-1776.

106. Gülmez İ, Kart L, Büyükoğlan H, Er Ö, Balkanlı S, Özemsi M. Evaluation of Malignant Mesothelioma in central Anatolia: A study of 67 cases. Can Respir J 2004; 11(4): 287-290.

107. Ismail HM, Nouh MA, Abulkheir IL, Abd El-Rahman Ael-R, Tawfik HN. Pleural mesothelioma: diagnostic problems and evaluation of prognostic factors. J Egypt Natl Canc Inst. 2006; 18(4): 303-10.

108. Andrion A, Magnani C, Beta PG, Dona A, Mollo F, Scelsi M, Bernardi P, Botta M, Terracini B. Malignant mesothelioma of the pleura: interobserver variability. J Clin Pathol 1995; 48: 856-860.

109. Klebe S, Brownlee NA, Mahar A, Burchette JL, Sporn TA, Vollmer RT, Roggli VL. Sarcomatoid mesothelioma: a clinical-pathologic correlation of 326 cases. Mod Pathol 2010; 23(3): 470-479.

110. Perrot MD, Karl U, Anraku M, Tsao MS, Gail D, Thomas KW, Andrew FP, Andrea B, Shaf K, Micheal RJ. Impact of lymph node metastasis on outcome after extrapleural pneumonectomy for malignant pleural mesothelioma. J Thorac Cardiovasc Surg 2007; 133: 111– 116.

111. Sugarbaker DJ, Strauss GM, Lynch TJ, Richards W, Mentzer SJ, Lee TH, Corson JM, Antman KH. Node status has prognostic significance in the multimodality therapy of diffuse, malignant mesothelioma. J Clin Oncol 1993; 11: 1172-1178.

112. Pilling JE, Stewart DJ, Martin-Ucar AE, Muller S, Byrne KJ, Waller DA. The case for routine cervical mediastinoscopy prior to radical surgery for malignant pleural mesothelioma. Eur J Cardiothorac Surg 2004; 25: 497-501.

113. Rusch VW, Venkatraman E. The importance of surgical staging in the treatment of malignant pleural mesothelioma. J Thorac Cardiovasc Surg 1996; 111: 815-6.

114. Abdel Rahman AR, Gaafar RM, Baki HA, El Hosieny HM, Aboulkasem F, Farahat EG, Nouh AM, Mansour KA. Prevalence and pattern of lymph node metastasis in malignant pleural mesothelioma. Ann Thorac Surg 2008; 86: 391–5.

115. Weiss W. Asbestos-related pleural plaques and lung cancer. Chest 1993; 103: 1854 1859.

116. Ernam D, Atalay F, Atikcan Ş, Şimşek C. Malign plevral mezotelyoma: 53 olgunun retrospektif analizi. Solunum Hastalıkları 2005; 16: 166-170.

117. Bianchi C, Brollo A, Miniussi C, Bittesini L. Asbestos exposure in the Monfalcone area. A social and pathological study of 100 autopsy cases. Tumori 1981; 67: 279-282.

118. Polat GE, Şahin N, Yılmaz U, Utkaner G, Yalnız E, Soy Ö. Diffüz plevral hastalıkların ayırıcı tanısında bilgisayarlı tomografi. Toraks Dergisi 2002; 3(2): 138-145.

119. Leung AN, Muller NL, Miller RR. CT in differential diagnosis of diffuse pleural disaease. AJR Am J Roentgenol 1990; 154: 487-92.

120. Yılmaz U, Utkaner G, Yalnız E, Kumcuoğlu Z. Computed tomographic findings of evironmental asbestos-related malignant pleural mesothelioma. Respirology 1998; 3: 33-38.

121. Ordonez NG. The diagnostic utility of immunohistochemistry in distinguishing between epithelioid mesotheliomas and squamous carcinomas of the lung: a comparative study. Mod Pathol 2006; 19: 417- 28.

122. Riera JR, Astengo-Osuna C, Longmate JA, Battifora H. The immunohistochemical diagnostic panel for epithelial mesothelioma. A reevaluation after heat-induced epitope retrieval. Am J Surg Pathol 1997; 21: 1409-19.

123. Ordonez NG. Value of calretinin immunostaining in differentiating epithelial mesothelioma from lung adenocarcinoma. Mod Pathol 1998; 11(10): 929-33.

124. Cury PM, Butcher DN, Fisher C, Corrin B, Nicholson AG. Value of the mesothelium-associated antibodies thrombomodulin, cytokeratin 5/6, calretinin, and CD44H in distinguishing epithelioid pleural mesothelioma from adenocarcinoma metastatic to the pleura. Mod Pathol 2000; 13: 107-12.

125. Seyhan EC. Akciğer Adenokarsinomu ve Malign Mezotelyoma Ayırıcı Tanısında İmmünhistokimyasal Analiz. Toraks Dergisi 2007; 8(4): 202-6.

126. Sandeck HP, Roe OD, Kjaerhein K, Willen H, Larsson E. Re-evaluation of histological diagnoses of malignant mesothelioma by immunohistochemistry Diagn Pathol 2010; 5: 47.

127. Abutaily AS, Addis BJ, Roche WR. Immunohistochemistry in the distinction between malignant mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma: a critical evaluation of new antibodies. J Clin Pathol 2002; 55: 662-8.

128. Hinterberger M, Reineke T, Storz M, Weder W, Vogt P, Moch H. D2-40 and calretinin a tissue microarray analysis of 341 malignant mesotheliomas with emphasis on sarcomatoid differentiation. Mod Pathol 2007; 20: 248–255.

129. Ordonez NG. Value of cytokeratin 5/6 immunostaining in distinguishing epithelial mesothelioma of the pleura from lung adenocarcinoma. Am J Surg Pathol 1998; 22: 1215- 21.

130. Amin KM , Litzky LA, Smythe WR, Mooney AM, Morris JM, Mews DJY, Pass HI, Kari C, Crodeck U, Rauscher FJ, Kaiser LR, Albelda SM. Wilms' tumor 1 susceptibility (WT1) gene products are selectively expressed in malignant mesothelioma. Am J Pathol 1995; 146: 344-356.

131. Pu RT, Pang Y, Michael CV. Utility of WT-1, p63, MOC31, Mesothelin, and Cytokeratin (K903 and CK5/6) Immunostains in Differentiating Adenocarcinoma, Squamous Cell Carcinoma, and Malignant Mesothelioma in Effusions. Diagn Cytopathol 2007; 36: 20-25.

132. Foster MR, Johnson JE, Olson SJ, Allred DC. Immunohistochemical analysis of nuclear versus cytoplasmic staining of WT1 in malignant mesotheliomas and primary pulmonary adenocarcinomas. Arch Pathol Lab Med 2001; 125: 1316-20.

133. Kennedy AD, King G, Kerr KM. HBME1 and thrombomodulin in the differential diagnosis of maligant mesothelioma of the pleura. J Clin Pathol 1997; 50; 859-862.

134. O'Kane SL, Pound RJ, Campbell A, Chaudhuri N, Lind MJ, Cawkwell L. Expression of bcl-2 family members in malignant pleural mesothelioma. Acta Oncol 2006; 45: 449-453.

135. Thirkettle I, Harvey P, Hasleton PS, Ball RY, Warn RM. Immunoreactivity for cadherins, HGF/SF, met, and erbB-2 in pleural malignant mesotheliomas. Histopathology 2000; 36: 522-528.

136. Horvai AE, Li L, Xu Z, Kramer MJ, Jablons DM, Treseler PA. Malignant mesothelioma does not overexpression or gene amplification despite

cytoplasmic immunohistochemical staining for c-Erb-B2. Arch Pathol Lab Med 2003; 127: 465-469.

137. Dazzi H, Hasleton PS, Thatcher N,Wilkes S, Swindell R, Chatterjee AK. Malignant pleural mesothelioma and epidermal growth factor receptor (EGF-R). Relationship of EGF-R with histology and survival using fixed paraffin embedded tissue and the F4, monoclonal antibody. Br J Cancer 1990; 61: 924-6.

138. Camp RL, Charette LA, Rimm DL. Validation of tissue microarray technology in breast carcinoma. Lab Invest 2000; 80: 1943-1949.

139. Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Barlund M, Schraml P, Leighton S, Torhorst J, Mihatsch MJ, Sauter G, Kallioniemi OP. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. Nat Med 1998; 4: 844-847.

140. Schraml P, Kononen J, Bubendorf L, Moch H, Bissig H, Nocito A, Mihatsch MJ, Kallioniemi OP, Sauter G. Tissue microarrays for gene amplification surveys in many different tumor types. Clin Cancer Res 1999; 5: 1966-1975.

141. Kallioniemi OP, Wagner U, Kononen J, Sauter G. Tissue microarray technology for high throughput molecular profiling of cancer. Hum Mol Genet 2001; 10: 657-662.

142. Bubendorf L, Kolmer M, Kononen J, Koivisto P, Mousses S, Chen Y, Mahlamaki E, Schraml P, Moch H, Willi N, Elkahloun AG, Pretlow TG, Gasser TC, Mihatsch MJ, Sauter G, Kallioniemi OP. Hormone therapy failure in human prostate cancer: analysis by complementary DNA and tissue microarrays. J Natl Cancer Inst 1999; 91: 1758-1764.

143. Rubin MA, Mucci NR, Figurski J, Fecko A, Pienta KJ, Day ML. E-cadherin expression in prostate cancer: A broad survey using high-density tissue microarray technology. Hum Pathol 2001; 32: 690-697.

144. Fejzo MS, Slamon DJ. Frozen tumor tissue microarray technology for analysis of tumor RNA, DNA, and proteins. Am J Pathol 2001; 159: 1645-1650.

145. Rimm DL, Camp RL, Charette LA, Olsen DA, Provost E. Amplification of Tissue by Construction of Tissue Microarrays. Exp Mol Pathol 2001; 70: 255 264

146. Henshall S. Tissue Microarrays. J Mammary Gland Biol Neoplasia 2003; 8: 347-358.

147. Kettunen E, Nicholson AG, Nagy B, Wikman H, Seppanen JK, Sternvall T, Ollikainen T, Kinnula V, Nordling S, Holmen J, Antilla S, Knuutila S. L1CAM, INP10, P-cadherin, tPA and ITGB4 over-expression in malignant pleural mesotheliomas revealed by combined use of cDNA and tissue microarray. Carcin. 2005; 26: 17-25

148. Kothmaier H, Quehenberger F, Halbwedl I, Morbini P, Demirağ F, Zeren H, Comin CE, Murer B, Cagle PT, Attanoos R, Gibbs AR, Galateau-Salle F, Popper HH. EGFR and PDGFR differentially promote growth in malignant epithelioid mesothelioma of short and long term survivors. Thorax. 2008; 63: 345-351