



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MEZOTELYOMA İLE MEZOTELYAL PROLİFERASYON
AYRIMINDA IMP3, PHH3 VE P16 BELİRTEÇLERİNİN
İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Serdal Sadet ÖZCAN

KAYSERİ-2015



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MEZOTELYOMA İLE MEZOTELYAL PROLİFERASYON
AYRIMINDA IMP3, PHH3 VE P16 BELİRTEÇLERİNİN
İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Serdal Sadet ÖZCAN

Danışman

Prof. Dr. Süleyman BALKANLI

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TTU-2014-5069 nolu proje ile desteklenmiştir.**

KAYSERİ-2015

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, her birinden farklı şeyler öğrendiğim, uzmanlığında birer ışık gibi yolumu aydınlatacak olan saygıdeğer hocalarıma; başta Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kemal DENİZ'e, danışman hocam Prof. Dr. Süleyman Balkanlı'ya, değerli hocalarım Prof. Dr. Tahir Ercan PATIROĞLU, Prof. Dr. Turhan OKTEN, Prof. Dr. Figen ÖZTÜRK, Prof. Dr. Olgun KONTAŞ, Prof. Dr. Işın SOYUER, Prof. Dr. Özlem CANÖZ, Prof. Dr. Hülya AKGÜN'e ve tez jürimde yer alan Doç. Dr. Hatice Karaman'a,

Asistanlık sürecini paylaştığım, dostluk, arkadaşlık ve yardımlarını unutamayacağım saygıdeğer kıdemlilerim Ganime ÇOBAN, Ebru AKAY, Fatoş TEKELİOĞLU, Melike ORDU, Sinan NAZLIM ve Sıraç ERTEN'e, arkadaşlarım Leymune YILMAZ, Gülşah ÇUBUKÇU, Seçil KARABULUT, Özlem SEÇİLMİŞ, Ali MIZRAK ve Filiz TAŞTEKİN'e, değerli patoloji çalışanlarımıza,

Her zaman yanımda olan, daima desteğini hissettiğim hayat arkadaşıma, bu zorlu süreçte özlemini içine gömen, sabırla olgunluk gösteren güzel kızım Zehram'a, benden dualarını esirgemeyen aileme,

Sonsuz Teşekkürler...

Serdal Sadet Özcan,

Nisan 2015, KAYSERİ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	13
2. GENEL BİLGİLER.....	15
2.1. Anatomi.....	15
2.2. Histoloji.....	15
2.3. Malign Mezotelyoma.....	16
2.3.1. Epidemiyoloji.....	17
2.3.2. Etyoloji	19
2.3.2.1. Asbestoz.....	19
2.3.2.2. Simian Virüs 40 (SV40).....	21
2.3.2.3. Radyasyon tedavisi	21
2.3.2.4. Genetik faktörler.....	21
2.3.2.5. Diğer etyolojik faktörler:	22
2.3.3. Patogenez.....	22
2.3.4. Mezotelyoma Alt Tipleri	24
2.3.4.1. Epiteloid mezotelyoma	24
2.3.4.2. Sarkomatoid mezotelyoma.....	25
2.3.4.3. Bifazik mezotelyoma	26
2.4. Mezotelyal Proliferasyon.....	26
2.5. İmmun Belirteçler.....	28
2.5.1. P16.....	28

2.5.2. İnsulin-like growth faktör II mRNA binding protein 3 (IMP3/L523S)	31
2.5.3. Fosfohiston-H3 (PHH3)	31
3. MATERYAL VE METOD	33
3.1. Doku Örneklerinin Toplanması.....	33
3.2. Histopatolojik İnceleme	33
3.3. İmmunohistokimyasal Çalışma	33
3.4. İstatistiksel yöntem.....	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. Genel Bulgular	36
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular	41
5.TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇLAR.....	62
KAYNAKLAR.....	64
TEZ ONAY SAYFASI.....	75

KISALTMALAR

μ L	: mikrolitre
μ m	: mikrometre
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ark.	: Arkadaşları
CDK	: Siklin bağımlı kinaz
CDKN2A	: Siklin bağımlı kinaz 2A
CDKN2A/ARF	: Siklin bağımlı kinaz 2A/ alternatif okuma kalıbı
DMM	: Diffüz malign mezotelyoma
DNA	: Deoksiribonukleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EMA	: Epitelyal membran antijen
g/dL	: gram/desilitre
GLUT1	: Glukoz transporter 1
H&E	: Hematoksilen&Eozin
HMGB1	: High mobility group protein B1
IL-1B	: İnterlökin 1B
IMP3	: İnsülin benzeri büyüme faktörü 2, mRNA bağlayıcı protein 3
İDPM	: İyi diferansiye papiller mezotelyoma
İHK	: İmmunohistokimya
kDa	: kilodalton
KH	: K homolog
KOC	: KH domain containing protein overexpressed in cancer
KT	: Kemoterapi
ml/kg	: mililitre/kilogram
MM	: Malign mezotelyoma
MPM	: Malign plevral mezotelyoma
mRNA	: Mesajcı Ribonukleik Asit

MTAP	: Metil tio adenozin fosforilaz
NF-Kb	: Nükleer faktör kappa-B
P16	: Protein 16
PHH3	: Fosfohistone H3
RB	: Retinoblastoma duyarlı protein
RMH	: Reaktif mezotelyal hiperplazi
RT	: Radyoterapi
SPSS	: Scientific Package for Social Sciences
TERT	: Telomeraz reverse transkriptaz
TNFa	: Tümör nekroz faktör a
Tp53	: Tümör protein 53
vb	: ve benzeri
vs	: vesaire

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Asbest lif tipleri.....	19
Tablo 2. Mezotelyomanın histopatolojik subtipleri	24
Tablo 3. Benign ve malign epiteloid plevral lezyonların özellikleri.....	27
Tablo 4. Kullanılan primer antikorlar ve dilüsyon miktarları.....	34
Tablo 5. IMP3 için kullanılan skrlama tablosu.....	35
Tablo 6: Mezotelyoma alt tipleri ve oranları.....	36
Tablo 7. Mezotelyoma alt tiplerinde p16 ve IMP3 ekspresyonu.....	48
Tablo 8. Değerlendirilen parametrelerin gruplara göre dağılımı.....	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Pariyetal ve visseral plevra ve mezotelyomanın şematik olarak gösterilmesi	17
Şekil 2.	Asbest lifinin elektron mikroskopik yapısı	20
Şekil 3.	Siklin, Siklin Bağımlı Kinazlar ve Siklin Bağımlı Kinaz inhibitörlerinin G1/S hücre siklusu geçişinin düzenlenmesindeki rollerini gösteren şema .	30
Şekil 4.	Normal plevra dokusu.....	37
Şekil 5.	Mezotelyal proliferasyon	37
Şekil 6.	Epitelioid tip malign mezotelyoma.....	38
Şekil 7.	Sarkomatoid tip malign mezotelyoma	38
Şekil 8.	Bifazik malign mezotelyoma.....	39
Şekil 9.	Epitelioid tipte mitoz	40
Şekil 10.	Sarkomatoid tipte mitoz.....	40
Şekil 11.	Mezotelyal proliferasyonda mitoz.....	41
Şekil 12.	Normal plevrada PHH3 ile negatif boyanma	42
Şekil 13.	Mezotelyal proliferasyonda PHH3 boyanması.....	42
Şekil 14.	Epitelioid mezotelyomada PHH3 boyanması	43
Şekil 15.	Sarkomatoid mezotelyomada PHH3 boyanması	43
Şekil 16.	Mitoz sayısı ile sensitivite-spesifite ilişkisini gösteren eğri.....	44
Şekil 17.	PHH3 sayısı ile sensitivite-spesifite ilişkisini gösteren eğri	45
Şekil 18.	Normal plevra dokusunda p16 ekspresyonu	46
Şekil 19.	Mezotelyal proliferasyonda p16 ekspresyonu.....	46
Şekil 20.	Malign mezotelyomada p16 ekspresyon kaybı	47
Şekil 21.	Malign mezotelyomada p16 pozitifliği.....	47
Şekil 22.	Normal plevrada IMP3 negatifliği.....	49
Şekil 23.	Mezotelyal proliferasyonda IMP3 ile 3+ boyanma	49
Şekil 24.	Mezotelyal proliferasyonda IMP3 ile 2+ boyanma	50

Şekil 25.	Mezotelyal proliferasyonda IMP3 ile 1+ boyanma	50
Şekil 26.	Epitelioid mezotelyomada IMP3 ile 3+ boyanma	51
Şekil 27.	Sarkomatoid mezotelyomada IMP3 ile 3+ boyanma.....	51
Şekil 28.	Sarkomatoid mezotelyomada IMP3 ile 2+ boyanma.....	52
Şekil 29.	Epitelioid mezotelyomada IMP3 ile 1+ boyanma	52

ÖZET

Amaç: Malign mezotelyoma; serozal yüzeyleri döşeyen hücrelerden gelişen agresif bir malign tümördür. Reaktif mezotelyal hiperplazi ise enfeksiyon, ilaç reaksiyonları, pulmoner infarkt, pnömotoraks, kollajen vasküler hastalıklar, cerrahi ve travma gibi çeşitli durumlarda ortaya çıkabilen benign reaktif bir süreçtir. Reaktif mezotelyal proliferasyon ile malign mezotelyoma ayrımı, özellikle küçük biyopsiler ve net invazyonun olmadığı durumlarda çok zor olabilir. Yaptığımız çalışmada; malign mezotelyoma ile benign reaktif mezotelyal proliferasyon ayrımında p16, IMP3, PHH3 immunohistokimyasal belirteçlerinin ve mitoz sayısının değerini belirlemeyi amaçladık.

Materyal ve Metod: Çalışmamıza 2005-2014 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında malign mezotelyoma tanısı alan vakalar içerisinde 30 olgu, mezotelyal proliferasyon tanısı alan vakalar içerisinde 30 olgu ve kontrol grubu olarak 10 adet normal plevra dokusu dahil edildi. Olgularda yaş, cinsiyet, 10 büyük büyütme sahasında mitoz sayısı kaydedildi. Tüm olgulara immünohistokimyasal olarak p16, IMP3 ve PHH3 belirteçleri uygulandı.

Bulgular: Ortalama mitoz sayısı; malign mezotelyomalarda 6.6, mezotelyal proliferasyonlarda 0.76 idi. Ortalama PHH3 değeri; malign mezotelyomalarda 11.26, Mezotelyal proliferasyonlarda 1.76 idi. Mezotelyal proliferasyon ile malign mezotelyoma; mitoz sayısı ve PHH3 ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Ayrıca mitoz ile PHH3 değerleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

P16 ekspresyonu normal plevra dokularının %30'unda görüldü. 30 mezotelyal proliferasyon olgusunun %73.33'ünde p16 ekspresyonu görülmedi. 30 malign mezotelyoma olgusunun %66.67'sinde p16 ekspresyon kaybı izlendi. P16 ile pozitif boyanan 10 olgudan 9'u epitelioid tip, 1'i bifazik tip idi. Sarkomatoid tipte ekspresyon izlenmedi. Mezotelyal proliferasyon ile MM olguları p16 ekspresyon kaybı açısından karşılaştırıldığında gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

IMP3 ekspresyonu; malign mezotelyomalarda %40, mezotelyal proliferasyonlarda %5 olarak izlendi ve mezotelyal proliferasyon ile MM olguları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Sonuç: Sonuç olarak mitoz ve PHH3 malign mezotelyoma ile reaktif mezotelyal proliferasyon ayrımında yardımcıdır, özellikle yüksek değerlerde daha değerlidir. p16 immunohistokimyasal boyaması; malign mezotelyoma ile reaktif mezotelyal hiperplazi ayrımında yardımcı bulunmamıştır. IMP3; malign mezotelyoma ile benign mezotelyal proliferasyon ayrımında yardımcı bir yöntem olarak bulunmuştur. IMP3 ile p16 boyamaları arasında korelasyon mevcut değildir.

Anahtar kelimeler: IMP3, Mezotelyal proliferasyon, Mezotelyoma, p16, PHH3

ABSTRACT

Objective: Malignant mesothelioma is a malignant tumor arising from cells lining serosal surfaces. Reactive mesothelial hyperplasia is a benign reactive process that occurs in case of infection, drug reactions, pulmonary infarction, collagen vascular disorders, surgery and trauma. It can be rather difficult to make discrimination between reactive mesothelial proliferation and malignant mesothelioma, particularly in small biopsies and lack of clear invasion. In our study, we aimed to determine value of immunohistochemical markers including p16, IMP3, PHH3 and mitotic count in discrimination between malignant mesothelioma and benign reactive mesothelial proliferation.

Material and method: The study included 30 cases diagnosed as malignant mesothelioma and 30 cases diagnosed as mesothelial proliferation in Pathology Department of Erciyes University, Medicine School between 2005 and 2014. In addition, 10 normal pleura tissues were included as controls. Age, gender, and mitotic count in 10x magnification field were recorded in all cases. All cases were evaluated immunohistochemically by using p16, IMP3 and PHH3 markers.

Findings: Mean mitotic count was 6.6 in malignant mesothelioma group while 0.76 in mesothelial proliferation group. Mean PHH3 value was 11.26 in malignant mesothelioma group while 1.76 in mesothelial proliferation group. When malignant mesothelioma and mesothelial proliferation were compared regarding mitotic count and PHH3 expression, significant differences were found between groups. In addition, mitotic count and PHH3 values were found to be significantly correlated.

p16 expression was seen in 30% of normal pleura tissues. No p16 expression was observed in 73.3% of 30 cases with mesothelial proliferation. Loss of p16 expression was observed in 66.67% of 30 cases with malign mesothelioma. Of 10 cases stained positive with p16, 9 were epithelioid type while 1 was biphasic type. No sarcomatoid type expression was observed. No significant difference was found when mesothelial proliferation was compared to cases with MM regarding loss of p16 expression.

IMP3 expression was observed by 40% in malignant mesothelioma cases while 5% in mesothelial proliferation cases, indicating significant difference.

Conclusions: As a result, mitotic count and PHH3 expression are helpful in discrimination between malignant mesothelioma and reactive mesothelial proliferation, particularly in higher values. Immunohistochemical p16 staining can not be an ancillary method in this discrimination. IMP3 was found to be an additional method in the discrimination between malignant mesothelioma and benign mesothelial proliferation. There is no correlation between IMP3 and p16 staining.

Keywords: IMP3, mesothelial proliferation, mesothelioma, p16, PHH3

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çoğu diffüz malign mezotelyoma (DMM), rutin hematoksisilen&eozen (H&E) ile tanınır (1-3). DMM tanısı histopatoloji, klinik ve radyolojik bulgular ile cerrahın izleniminin korele edilmesi temeline dayanır. DMM geniş bir histopatolojik paterne sahip olması nedeniyle potansiyel olarak diğer kanser tiplerini taklit edebilir ve tersi de doğrudur (4). Bu nedenle ayırıcı tanı için çeşitli immunohistokimyasal belirteçler kullanılmaktadır (5,6).

Malign mezotelyoma (MM) kısa sağ kalıma sahip agresif bir tümördür. MM tanısı demek hastalar için kaçınılmaz ölüm ve bazen radyoterapi (RT), kemoterapi (KT), radikal cerrahi ve/veya yeni tedaviler demektir ki bunların hepsi önemli morbiditeye sahiptir (7).

Reaktif mezotelyal hiperplazi (RMH) ise enfeksiyonlar, ilaç reaksiyonları, pulmoner infarkt, pnömotoraks, kollajen vasküler hastalıklar, cerrahi ve travma gibi çeşitli durumlarda ortaya çıkabilen benign reaktif bir süreçtir, kendi kendini sınırlayıcıdır ve kolay tedavi edilebilir.

RMH ile DMM ayrımı serozal membran biyopsilerinde, özellikle küçük biyopsilerde bazen çok zordur patologlar için içinden çıkılmaz bir durum oluşturabilmektedir (7).

RMH'de sellularite artışı, sitolojik atipi, mitoz, yapısal atipi gibi maligniteyi düşündüren histolojik özellikler görülebilir. Çoğu vakada; klinik, radyolojik ve gross bulgular tanıda yardımcıdır, ancak nadiren reaktif süreçler malignensiye çok

benzeyebilir. Çeşitli histolojik özellikler malignensiye destekler. Bunlardan en güvenilir olanı akciğer parankimi ve yağ dokuya tümör invazyonudur (8).

Çok sayıda araştırmacı DMM'yı benign reaktif mezotelyal proliferasyondan ayırmaya yardımcı olabilecek güvenilir belirteçler belirlemek için p53, epitelyal membran antijen (EMA), desmin, glukoz transporter-1 (GLUT-1) gibi markerlar ile çeşitli çalışmalar yapmışlardır. Bunlardan p53, EMA, ve GLUT-1'in maligniteyi desteklediği bildirilirken, desmin ise benign reaktif mezotelyal hiperplazilerde daha yüksek oranda pozitif bulunmuştur (9-12).

Mezotelyomada en sık genetik değişiklik 9p21 bölgesindeki siklin bağımlı kinaz 2A (CDKN2A), siklin bağımlı kinaz 2B (CDKN2B) ve metil tio adenosin fosforilaz (MTAP)'dan oluşan gen kümesinin homozigot delesyonudur (13-15). Çeşitli sitogenetik ve moleküler çalışmalar p16/CDKN2A delesyonunu primer mezotelyomaların %72'sinde bildirmişlerdir (16).

Son zamanlarda insülin-like growth factor 2, mRNA binding protein 3 (IMP3); malign ve benign lezyonları ayırmada ümit verici bir belirteç olarak bildirilmiştir (17). Çeşitli çalışmalarda MM'larda IMP3 ekspresyonu %73'e kadar bildirilmiştir (18,19).

MM ve RMH ayrımı için proliferasyon markerlarının değeri çok sayıda çalışma ile araştırılmıştır. Bazı çalışmalarda anlamsız sonuç elde edilirken bazı çalışmalar proliferasyon belirteçlerinin yararlı olduğunu raporlamışlardır (20-22). Bir proliferasyon belirteci olan phosphohistone H3 (PHH3)'ün MM ile RMH ayrımında yararlı olup olmadığı ile ilgili bir çalışma henüz bildirilmemiştir.

Bu çalışmada amaç; IMP3, PHH3 ve p16 immunohistokimyasal boyamaları ve mitoz değerinin mezotelyal proliferasyon ile malign mezotelyoma ayrımında yardımcı olabilirliğini göstermektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Anatomi

Plevra solunum hareketleri ile birbiri üzerinde kayan, akciğerlerin hareketini sağlayan visseral ve pariyetal olmak üzere iki katmandan oluşan seröz bir zardır. Visseral plevra hilustan başlayarak akciğer yüzeyini, interlober fissürleri örter. Akciğer parankimine yapışık olup doğal ayırım planı yoktur. Pariyetal plevra ise göğüs duvarının iç yüzeyini, diyaframı ve mediasteni örtmektedir. Pariyetal plevranın diyafragmatik bölümü ve mediastinal bölümünde doğal ayırım planı yoktur, diğer kısımları ise diseksiyona izin vermektedir (23).

2.2. Histoloji

Plevranın her iki katmanı tek sıra mezotel hücreleri, bazal membran ve bağ dokudan oluşur. Mezotel hücreleri perikard ve peritondaki gibi tek kat halinde yan yana dizilerek çevrelediği yapılara kaygan, yapışmaz ve koruyucu bir yüzey sağlar (24). Histolojik olarak her iki plevra 5 adet katmandan oluşmuştur. Bunlar yüzeyden derine mezotel doku, submezotelyal bağ dokusu, yüzeyel fibroelastik tabaka, gevşek subplevral bağ dokusu, derin fibroelastik tabaka şeklindedir (25).

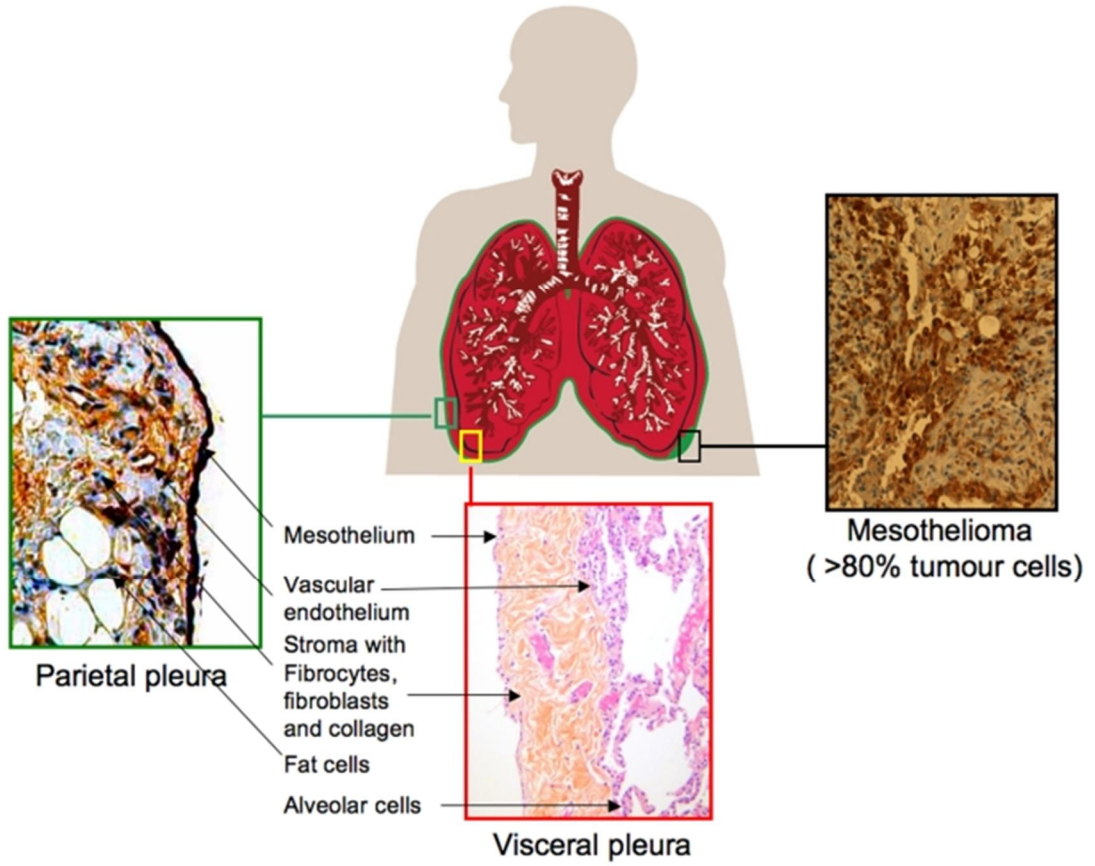
Mezotel hücreleri şekil olarak pleomorfiktir, bazal membran üzerine tek sıra halinde dizilmiş olarak bulunur ve alttaki bağ dokunun gerilme derecesine göre yassı, küboid ya da kolumnar şekle dönüşebilmektedir. Mezotel hücrelerinin kalınlığı yaklaşık 1-4 μm 'dir. Bu hücreler yaklaşık 0,1 μm çapında ve 3 μm uzunluğunda olan yüzey mikrovillusları içerir. Mikrovilluslar visseral plevra üzerinde pariyetal plevradakinden

ve toraksın alt bölümlerinde üst bölümlerinden daha yoğundur. Mikrovillusların, metabolik fonksiyon için yüzey alanını artırmak, akciğer hareketlerini kolaylaştırmak için kayganlık sağlamak amacıyla hyalüronik asitten zengin glikoprotein içermek gibi fonksiyonları vardır. Mezotel hücre fonksiyonları ise sıvı reabsorpsiyonu, yabancı madde fagositozu, elastin yapımı, plazminojen aktivasyonu ve çeşitli biyokimyasal maddeler salgılayarak plevral onarıma yardım etmek olarak sayılabilir. Farklı kalınlıklarda olabilen submezotelyal bağ dokusu ve yüzeyel elastik tabakanın sınırları çok belirgin değildir. Gevşek bağ doku içinde sinir, damar ve lenfatikler bulunmaktadır. Derin fibroelastik tabaka ise, akciğer parankimi, diyafram, mediastinal organlar ve göğüs duvarına sıkıca yapışır (26).

Her iki plevra arasında yaklaşık 10-20 µm kalınlıkta anatomik bir boşluk olup, solunum sırasında akciğer hareketlerinde sürtünmeyi önleyen fizyolojik miktarda bir miktar sıvı bulunmaktadır. Deneysel çalışmalarda bu sıvının 0.1-0.3 mL/kg miktarda, renksiz, berrak görünümde olduğu ve 1.5 g/dL'den daha az miktarda protein, yaklaşık 1500 hücre/µL (lenfosit, monosit, mezotel, makrofaj, az miktarda polimorfonükleer lökosit) içerdiği, eritrosit içermediği gösterilmiştir (27).

2.3. Malign Mezotelyoma

Diffüz malign mezotelyoma, mezotelyal hücrelerden gelişen ve plevra, periton, tunika vaginalis veya perikard yüzeyinden ortaya çıkan, mezotelyal örtünün primer malign tümörüdür (28). Bu tümör doğru bir şekilde “diffüz malign mezotelyoma” olarak adlandırılmaktadır, ancak genellikle malign mezotelyoma veya sadece mezotelyoma olarak kısaltılmaktadır (1). Plevranın yapısı ve mezotelyoma gelişimi şekilde gösterilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Pariyetal ve visseral plevra ve mezotelyomanın şematik olarak gösterilmesi

2.3.1. Epidemiyoloji

Mezotelyoma terimi ilk olarak 1921 yılında Eastwood ve Martin tarafından, plevranın primer tümörlerini tanımlamak için kullanılmıştır. Mezotelyoma, seröz yüzeylerin en sık görülen primer tümörü olup, %80 olguda plevral kaynaklı iken, %20 olguda periton, perikard veya tunika vajinalisten kaynaklanmaktadır (29). Malign plevral mezotelyomanın (MPM) en sık nedeni asbestin inhalasyon yoluyla maruziyetidir. Vakaların %70'inde asbest maruziyeti ilişkisi saptanmaktadır (30). İlk olarak Eski Yunanistan'da Pliny adındaki bir filozof, asbest madeninde çalışan kölelerin diğer kölelere göre daha sağlıklı olduklarını gözlemleyerek, asbest maruziyeti ile akciğer hastalığı arasındaki ilişkiyi kurmuştur (29). 1960 yılında Wagner ve arkadaşlarının, Güney Afrikalı asbest madeni işçileri üzerinde yaptıkları çalışma sonucu, asbestin mezotelyoma etyolojisinde yer aldığı kabul edilmiş ve sonra çok sayıda çalışma ile kanıtlanmıştır (29-31).

MPM genelde 50-70 yaşları arasında görülür ancak yaş dağılımı geniş ve nadiren çocuklarda gözlenmiştir (1). Mesleksi asbest maruziyetine bağlı olarak daha çok erkeklerde görülmekte ve yaşın artmasıyla risk daha da artmaktadır (32).

Batı ülkelerindeki mesleksi temas ve asbest madenleri çevresinde yaşayanlarda oluşan çevresel temas sonucu gelişen mezotelyoma Türkiye, Kıbrıs, Yunanistan, Afganistan vb. ülkelerde asbest ile karışmış toprağın (beyaz toprak) ev yapımında kullanılmasına bağlı temas sonucunda gelişmektedir (33-35). Türkiye’de Orta ve Güneydoğu Anadolu’da crocidolite denilen asbest türü rol oynarken, Kapadokya bölgesinde Tuzköy, Karain, Sarıhıdır Köylerinde asbest dışı bir mineral olan erionitin MPM epidemisine yol açtığı bulunmuştur (36).

MPM nedeniyle her yıl Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’de 2000-3000 insan hayatını kaybetmektedir (37). Tüm dünyada MPM insidansı 20. yüzyıl ortasından günümüze giderek artmaktadır (38). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) mortalite verilerine göre 1994-2008 yılları arasında yaşa göre düzeltilmiş mortalite hızı milyonda 4.9, ortalama ölüm yaşı 70 ve erkek-kadın oranı 3.6:1’dir (39). Avrupa ülkelerinin pek çoğunda kaba insidans hızı milyonda 10-20 olgudur (40).

ABD’de mezotelyoma için gerçek rakam tam olarak bilinmemekle birlikte, bu günlerde yıllık 2500 civarındaki olgu ile hastalığın çıkabileceği en yüksek sıklığa ulaştığı kabul edilmektedir (41). İngiltere’de yıllık 2200 mezotelyoma olgusu tahmin edilirken, Avrupa’da yıllık olgu sayısının yakın zamanda 9000 civarına ulaşması beklenmektedir (42).

Dünyada belirlenen en yüksek MPM insidans hızı, doğuştan erionite temalı İsveç’te yaşayan Karain’li göçmenlere aittir. Bunlarda MPM insidansı erkekler için 639/100,000 kişi/yıl, kadınlar için 1267/100,000 kişi/yıl olarak belirlenmiştir. MPM orantılı ölüm hızı %78 olarak tespit edilmiştir (43).

Türkiye’de insidans hakkında kesin bilgi vermek mümkün değildir. Sağlık Bakanlığı Kanseri Savaş Dairesi Başkanlığı tarafından 2004-2006 yılları arasında yapılan ve Türkiye’nin 8 ilinden elde edilen veriler ışığında Türkiye kanser insidansı araştırmasında MPM gerek erkeklerde, gerekse kadınlarda görülen ilk 10 kanser arasında olmayıp her iki cinsiyette insidansı %1’in altında bulunmuştur (44).

2.3.2. Etyoloji

2.3.2.1. Asbestoz

Asbest lifsi yapıda doğal fibröz bir silikattır ve amfibol ve serpentin olarak iki ana gruba ayrılır (36,45)(Tablo 1). İlk gruptaki asbest tipleri olan tremolite, actinolite, amosite, crocidolite ve anthophyllite lifleri, serpentin grubunda yer alan chrysotile'e göre çok daha potenttir (31). Chrysotile ile mezotelyoma arasındaki ilişki açık değildir. Daha kısa boyda, iğne gibi sert ve düz, mavi ve kahverengi olan amphibole grubu asbestin mezotelyoma gelişimine katkısı açıkça gösterilmiştir. Amphibole tip liflerin biyolojik ortadan atılım yarı yılı 7 yıldır (46). Özellikle crocidolite en tehlikeli asbest mineralidir. Kohort tahminlerinin yeni bir raporu, rölatif risk için ortalama lif maruziyeti 500:100:1 (krocidolit:amosit:krisotil) olarak önerilmiştir (1,47). Asbest lifinin elektron mikroskopik yapısı şekil 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Asbest lif tipleri

A. Fibröz serpentin krizolit (Beyaz asbest)
B. Fibröz amfiboller
a. Amozit (kahverengi asbest)
b. Antofilit
c. Krokidolit (Mavi asbest)
d. Tremolit
e. Aktinolit



Şekil 2. Asbest lifinin elektron mikroskopik yapısı

Mesleksel maruziyet öyküsü olmadan çevresel asbest maruziyeti özellikle Türkiye için önemli bir sorundur. Güneydoğu Anadolu'nun kırsal alanlarında tremolite içeren beyaz toprak, evlerin boyanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. MPM, akciğer kanseri ve asbestozis riski bu bölgelerde belirgin olarak artmıştır (33).

Asbest liflerinin doğrudan mutajenik etkisi gösterilememiştir. Tümör gelişiminde katalizör rolü oynamaktadır. Asbest ile ilişkili patolojilerde en önemli hücre makrofajdır. Makrofajın uzun asbest lifini tam olarak fagosite edememesi sonucunda ortama enzimler, sitokinler ve superoksid radikalleri çıkar; oksijen ve nitrojen radikalleri nedeniyle asbest lifleri bağları kırarak hem mutajenik hem de fibrojenik aktiviteyi başlatırlar ve deoksiribonukleik asit (DNA) hasarı yapabilirler (48). Ayrıca, lifler temas ettikleri hücrelerdeki genetik elemanlara yaptıkları fiziksel travma ile özellikle mitoz sırasında kromozom anomalilerine de neden olabilirler (49). Asbest lifleri, ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz-1 ve 2 proteinleri, mitojen ile aktive olmuş protein kinaz'ı ve mezotel hücre yüzeyindeki protoonkogenlerin sunumunu artırır

(50). Mezotel hücreleri asbest ile etkilenime, diğer sistem hücrelerine göre daha fazla duyarlıdır (51).

Fibröz bir yapı özelliğine sahip olan erionite lifleri asbest liflerine göre çok daha güçlü karsinojendir (52). Volkanik fibröz zeolit olan erionitin mezotelyoma etyolojisinde rol oynadığı ilk kez İzzettin Barış ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (53). Erionite köyleri olarak da adlandırılan Ürgüp köylerinde yapılan kapsamlı çalışmalarda, evlerin yapısında kullanılan ve "akkuşak taşı" adı verilen bir çeşit taşın içerdiği erionite lifleriyle temas sonucu, söz konusu köylerde MPM sıklığının oldukça yüksek olduğu, toplam ölümlerin yaklaşık yarısının MPM'ye bağlı olduğu saptanmıştır (43).

2.3.2.2. Simian Virüs 40 (SV40)

Bazı MPM olgu serilerinde, mineral lif teması olmayan olgu oranının %30'a ulaşması ve çocukluk çağında da mezotelyoma saptanması; MPM etyolojisinde asbest dışı başka nedenlerin de etkin olabileceğini göstermektedir (54). 1955 ve 1962'de kullanılan bazı polio aşıları Simian maymun virüsü (SV40) ile kontamine idi ve bu aşılarla enfeksiyon dünyanın çeşitli bölgelerine yayıldı. Çeşitli çalışmalarda; özellikle beyin tümörleri, kemik sarkomları, non-Hodgkin lenfomaların sıklıkla, kemirgenlerde yüksek onkojenik DNA virüsü olan SV40 dizileri içerdiği gösterilmiştir (55). SV40'ın mezotelyoma etyolojisinde rol oynadığı ilk kez 1994'te bildirilmiştir (43,56). SV40; insan mezotel hücresi DNA ipliğinde kırılmaları indükler (52). Deneysel olarak hamsterlarda plevral mezotelyomaya neden olduğu gösterilmiştir (57).

2.3.2.3. Radyasyon tedavisi

Diafragma üstü alanların iyonize radyasyona maruz kalması daha sonradan mezotelyoma gelişimi için risk oluşturabilir (58). Radyoterapi uygulanmış olgularda radyoterapi sahasında ya da komşu alanlarda 7 ile 36 yıl sonra MPM gelişimi bildirilmiştir (59).

2.3.2.4. Genetik faktörler

Sitogenetik ve moleküler çalışmalar mezotelyomada çeşitli genetik değişiklikler saptamışlardır. En sık genetik değişiklik protein 16 (p16)'nın (9p21) homozigot

delesyonudur. Bunu nörofibromatozis 2 (NF2) gen mutasyonu takip eder ve %50 hastada bildirilmiştir (13).

2.3.2.5. Diğer etyolojik faktörler:

Bunlar arasında intraplevral thorium dioxide (thorotrast) ve özellikle Türkiye’de Kapadokya bölgesinde bulunan erionit isimindeki fibröz silikat sayılabilir (59,60). Kronik irritasyon ve inflamasyonun MPM etyolojisinde rolü olabileceği düşünülmektedir. Geçmiş yıllarda tüberküloz tedavisi amacıyla uygulanan yapay pnömotoraksa ve kalsifik plevral tüberküloza sekonder bildirilmiş olgular bulunmaktadır (61).

2.3.3. Patogenez

Akciğer dokusunda önemli miktarda inhale edilmiş asbest fiberleri sıkışıp kalmaktadır. Bu liflerin çoğu doku reaksiyonuna neden olmadan çıplak şekilde kalmaktadır. Asbest fiberlerinin az bir kısmı monositlerin birikimine neden olur ve multinukleer makrofajlar tarafından enkapsüle edilip çevrilir. Bu süreç protein ve hemoglobin yüklü demir birikimi ile ilişkilidir ve ferritinöz cisimciklerin oluşumuna neden olur (1).

Asbest türlerinin heterojen yapıda olmaları, doğada ve sanayide kullanılan formlarda saf olmaları nedeniyle patogeneze yönelik doğrudan gözlemler yapabilmek zordur (62). Alveollere ulaşan asbest lifleri fagositoz yoluyla atılmaya çalışılır. Eğer lifin boyu alveoler makrofajın fagosite edebileceği kadar kısaysa lif kolaylıkla fagosite edilir, mukosiliyer temizlikle dışarı atılır. Ancak, lifin fagosite edilemeyecek kadar uzun olduğu durumlarda lif çözünür özellikte değilse (örneğin amfibol grubunda çözünme özelliği yoktur) akciğerden uzaklaştırılması mümkün olmaz. Diğer yandan, kısa boylu liflerde inhale edilen lif miktarı fagositoz kapasitesini aşıyorsa, fagosite edilemeyen lifler akciğerde birikir. Sonuçta, alveollerde biriken asbest lifleri lenfatikler yoluyla veya doğrudan penetrasyon yoluyla plevraya ulaşabilirler ve böylece; fibrozis, plevral plak ve hatta MPM’ye neden olabilirler (62,63).

Asbestin pariyetal plevraya ulaştıktan sonra tam olarak hangi mekanizmalarla MPM’ye neden olduğu bilinmemekle beraber, asbest liflerinin hidroksil radikalleri ve superoksit anyonlarının oluşumuna yol açarak mutajenik değişiklikler, DNA zincir kırıkları ve

delesyonlara neden olduğu bildirilmektedir. Asbest, DNA hasarını hem doğrudan fiziksel etkileşimle, hem de asbeste yanıt olarak inflamatuvar hücrelerden, mezotel hücreleri ve makrofajlardan reaktif oksijen ve nitrojen radikallerinin salınımını indüklemek suretiyle göstermektedir (64).

Kronik inflamasyon asbest karsinogenezinde önemli bir yere sahiptir. Asbest liflerinin uyardığı makrofajlar tümör nekroz faktör α (TNF α) ve interlökin 1B (IL-1B) gibi sitokinler ve mutajenik reaktif oksijen ürünlerini salarlar. Ayrıca asbest insan mezotel hücrelerinde nekrotik hücre ölümüne neden olmakta, bu da ekstrasellüler alana HMGB1 (high mobility group protein B1) salınımına yol açarak, kronik inflamatuvar bir cevap oluşturup, makrofajların bu alana toplanmasına ve TNF α salgılamalarına neden olmaktadır. TNF α , nükleer faktör kappa-B (NF-kB) yolağını aktive etmek suretiyle insan mezotel hücrelerinin sağ kalımını artırarak hücre proliferasyonunu uyarır. Eğer kritik genetik değişiklikler olursa mezotelyoma gelişir. Ancak nekrozun aksine hücreler apoptoz ile ölüme giderse ekstrasellüler alana HMGB1 salınımı olmaz ve böylece inflamasyon gelişmez (65).

Mezotelyomada en sık genetik değişikliklerden biri CDKN2A, CDKN2B ve MTAP gibi gen kümelerini içeren 9p21 lokusunun homozigot delesyonudur (13-15). Siklin bağımlı kinaz alternatif okuma kalıbı (CDKN/ARF) iki önemli hücre siklus proteini olan p16 ve p14 proteinlerini kodlar (66). Çeşitli sitogenetik ve moleküler çalışmalar primer mezotelyomaların %72'sinde p16/CDKN2A delesyonu raporlamıştır (67). Bir CDK inhibitörü olan p16; retinoblastom proteini (RB)'nin fosforilasyonunu engeller, böylece tümör protein 53 (Tp53)'ün pozitif regülasyonu gerçekleşir (66). CDKN2A tüm normal hücrelerde bulunur ve normal hücre siklusunun kontrolünde önemlidir ancak malign mezotelyomaların çoğunda kaybolmuştur (68).

2.3.4. Mezotelyoma Alt Tipleri

Tablo 2. Mezotelyomanın histopatolojik subtipleri (69)

A. Epitelioid tip
Tübülopapiller
Trabeküler
Asiner
Adenomatoid
Solid
Şeffaf hücreli
Desiduoid
Adenoid kistik
Taşlı yüzük
Küçük hücreli
Rhabdoid
Pleomorfik
B. Sarkomatoid tip
Klasik (iğsi hücreli)
Desmoplastik
Heterolog differansiasyon (osteosarkomatöz, kondrosarkomatöz, vs.)
C. Bifazik (mikst) tip
Mikst epitelioid + sarkomatoid

2.3.4.1. Epitelioid mezotelyoma

Epitelioid mezotelyoma epitelioid sitomorfoloji gösterir. Çoğu epitelioid mezotelyoma sakin görünümlüdür. Ancak zaman zaman anaplastik formlar görülmektedir. Epitelioid mezotelyomalar geniş morfolojik patern gösterir. Bazen bir patern baskındır ancak çeşitli paternler aynı tümör içinde görülebilir. Çoğu tümörde hücreler eozinofilik sitoplazmalı ve nisbeten sakin nükleusludur. Mitoz nadirdir. Kötü diferansiye formlarda, hücreler nükleolus belirginliği gösteren kaba nükleusludur, mitoz sıktır ve

multinukleer tümör dev hücreleri ortaya çıkar, ancak bu tümörler sık değildir ve karsinomlardan ayrımı genellikle zordur (1).

Miksoid değişiklik belirgin olabilir, matriks içinde yüzen epitelioid hücre yuvaları şeklinde izlenir. Bu tür tümörlerde matriks hyaluronattan oluşur ve Alcian Blue ile hyaluronidaz yönünde boyanır (1).

En sık paternler; tübülopapiller ve adenomatoid paternlerdir. Daha az görülen paternler; küçük hücreli, şeffaf hücreli ve desiduoid paternlerdir. Tübülopapiller formda; tübül formasyonu, fibrovaksüler kor etrafına dizilmiş papiller yapılar, yarıklar ve trabeküllerin çeşitli kombinasyonları izlenir. Tübülleri ve papiller yapıları döşeyen hücreler nisbeten sakin görünümü, basık, küboidal hücrelerdir. Psammom cisimcikleri görülebilir. Adenomatoid form; gölcük benzeri adenoid kistik veya taşlı yüzük görünümde multikistik yapılar gösterir, ancak nötral müsin ile boyanmaz. Tabakalar ve yuvalar sıklıkla diğer paternlerle ilişkili olarak görülebilir. Daha az sıklıkla, solid, monoton, nisbeten non-koheziv poligonal hücre tabakaları, büyük hücreli karsinom veya lenfomaya benzeyebilir. Anaplastik ve/veya tümör dev hücreleri olan tümörler pleomorfik görünebilir. Mezotelyoma non-Hodgkin lenfomayı taklit edebilir (1).

2.3.4.2. Sarkomatoid mezotelyoma

Sarkomatoid varyant iğsi hücrelerin fasiküler veya rastgele diziliminden oluşur. Uygun biyopsi materyalinde epitelyal dokunun tamamen yokluğu veya epitelyal dokunun %10'dan az olduğu durumlarda bu tanı verilir (2). Plevral mezotelyomaların % 10'unu oluşturur (2). Sarkomatoid mezotelyomanın histolojik dizilim paterni yumuşak doku tümörlerinden fibrosarkom veya malign fibröz histiyositoma benzer (2). Bazı tümörler aşırı pleomorfik olabilir. Diğer taraftan aldatıcı şekilde sakin görünüme sahip olup benign fibröz plöritten ayrımı zor olabilir. Az sayıda vakada, osteosarkom, kondrosarkom veya diğer sarkomlara benzeyen mezenkimal alanlar bulunabilir (70).

Sarkomatoid mezotelyomanın immünohistokimyasal paneli epitelyal mezotelyomlardan çok daha sınırlıdır ve immünohistokimyanın tanıya desteği daha azdır (71). Epitelyal ve bifazik mezotelyomada tanıda kullanılan mezotelyal diferansiyasyon markerlarının ekspresyonu alışılmadık şekilde olabilir. Bu bakımdan çok daha değerli ve sık görülen bulgu sitokeratin (CK)'in kuvvetli ekspresyonudur, özellikle invazyon alanındaki

değerlendirme yardımcıdır (71), fakat CK negatif sarkomatoid mezotelyomalar da mevcuttur (2).

Desmoplastik mezotelyoma sarkomatoid mezotelyomanın bir alt tipi olup storiform veya patensiz dizilim gösteren atipik hücreler tarafından ayrılmış, tümörün en az %50'sinde bulunan yoğun kollajen doku ile karakterizedir. Bu tümörler, benign organize plörit ile özellikle küçük biyopsilerde kolaylıkla karıştırılabilir. Bazı tanı kriterleri kuvvetle maligniteyi destekler. Bunlar, sarkomatoid alanlar, kollajen nekroz odakları, yağ doku, iskelet kası, akciğer invazyonu ve uzak metastazdır (1).

2.3.4.3. Bifazik mezotelyoma

Mezotelyomaların %30'unda hem epitelioid hem de sarkomatoid paternler birlikte bulunur. Yukarıdaki belirtilen paternlerin herhangi kombinasyonu bulunabilir. Bifazik diyebilmek için her komponentin; tümörün en az %10'unu oluşturması gerekmektedir. Bifazik olarak sınıflandırılan vakaların sayısı tam tümör örnekleme ile artacaktır (1).

2.4. Mezotelyal Proliferasyon

Mezotelyal hücreler enfeksiyon, kollajen vasküler hastalık, ilaç reaksiyonu, pnömotoraks, göğüs cerrahisi veya travma gibi birçok plevral reaksiyon veya yaralanma sonucu plevral yüzey boyunca prolifer olabilir. Biyopside fibrin, granülasyon dokusu ve granülasyon dokusu içerisinde fibrin organizasyonu çoğu plöritte görülür ve iltihap genellikle mevcuttur. Ancak fibrin, granülasyon dokusu veya inflamasyonun varlığı plevra biyopsilerinde maligniteyi dışlamaz (72).

Mezotelyal hücreler genellikle yuvarlak nukleuslu küboidal, belirgin nukleoluslu ve geniş eozinofilik sitoplazmalıdır. Bu hücreler reaksiyonun şiddetine bağlı olarak sitolojik atipi ve mitoz göstermesi, fibrin veya granülasyon dokusu içine sıkışması nedeniyle psödoinvazyon gösterebilir. Bu durumda bu hücreleri bir epitelioid malignensi ile ayırmak gerekir. Komşu akciğer veya subplevral yumuşak dokuya invazyon iyi diferansiye malignensilerde, özellikle mezotelyomada tanıyı doğrulamak için en güvenilir bulgudur (72).

Sitolojik ve yapısal bulgular endişe verici olduğu durumlarda, atipik mezotel hiperplazisi tanısı önerilir. "Atipik mezotelyal proliferasyon" terimi malign olan veya

olmayan sadece yüzeyde mezotelyal proliferasyon olduğunda kullanılır. Atipik mezotelyal hiperplazi çok reaktif proliferasyonlardan, malignensiye gösteren ancak invazyonun net izlenmediği proliferasyonlara kadar lezyonları içerir. Erken bir malignite veya tümör komşuluğu ekarte edilemediği durumlarda atipik mezotelyal hiperplazi tanısına “malign potansiyeli belirsiz” ibaresi eklenerek yakın takip ve/veya yeni doku örneği alınması önerilebilir. Mezotelyomanın in situ faz kavramı yararlı bir teori olmasına rağmen, in situ mezotelyoma tanısı komşu invaziv bir tümörün komponenti olmadığı tespit edilene kadar kullanılması tavsiye edilemez (72). İn situ mezotelyoma ile atipik benign reaksiyonları ayırmak için güvenilir histolojik kriter yoktur (1).

Mezotelyal proliferasyon tipik olarak plevral yüzey boyunca veya kalınlaşmış plevra içinde sıkışmış olarak ortaya çıkar veya malign mezotelyomada gözlenene benzer şekilde plevral yüzeye paralel ve tüm duvarda kalınlaşmaya neden olacak şekilde ortaya çıkar. Reaktif mezotelyal hücrelerin papiller kümeleri plevral yüzey boyunca bulunabilir ve sakin kollajen kora sahiptir ancak papiller malignensilerde görülen dezmoplastik kordan yoksundur. Sıkışmış benign hücreler tipik olarak bağ doku içinde yarıklar oluşturarak geniş alanlar oluşturur ve çevre stromada dezmoplastik reaksiyon oluşturmaz. En büyük zorluk; mezotelyal orijinli bir lezyon ile karşılaşıldığında özellikle küçük biyopsilerde “iyi diferansiye papiller mezotelyoma (İDPM)” olarak isimlendirilen lezyondur. İDPM yavaş gidişli klinik seyir ve uzun dönem sağ kalım ile ilişkili yüzeyel mezotelyal proliferasyondur. İDPM atipik mezotelyal hiperplazi ile benzer radyografik yerleşim ve papillalarında kalın miksoid fibrovasküler kor etrafında tek sıra düz mezotelyal hücreler ve sakin sitoloji göstermesi hariç çok benzer histopatolojik görünüme sahiptir (73).

Şüpheli bir epitelioid proliferasyonun malign olduğunun en güvenilir bulgusu subplevral yağ, kas veya akciğer dokusuna invazyonudur. Bu nedenle biyopsi bu dokuları içerecek kadar derin olmalıdır. Keratin immun boyamalar gerektiğinde yağ doku veya diğer dokulara invazyonu göstermek için kullanılabilir (69). Benign ve malign mezotelyal proliferasyon ayrımında kullanılabilecek bazı özellikler tablo 3’te gösterilmiştir (72).

Tablo 3. Benign ve malign epitelioid plevral lezyonların özellikleri

Benign	Malign
Akciğer veya subplevral yumuşak dokulara invazyon yokluğu Plevral yüzeye oryante sellülarite Dezmoplastik reaksiyon yokluğu Fibrin/granülasyon dokusuna sıkışma nedeniyle psödoinvazyon varlığı Hafif-orta sitolojik atipi Normal mitoz	Akciğer veya subplevral yumuşak dokulara net invazyon Plevra boyunca rastgele sellülarite Dezmoplastik reaksiyon Belirgin malign sitolojik özellikler Anormal mitoz Nekroz

İmmunohistokimyasal çalışmalar; kesin kriterler kullanıldığında yararlı bir ek çalışma olsa da hiçbir immunohistokimyasal boyama mezotelyal hiperplaziyi malignensiden ayırmada güvenilir değildir. p53'ün %10'dan fazla atipik hücrede immun pozitifliği ile EMA'nın güçlü membranöz boyanmasının malignensiye desteklediği bildirilmiştir (9,74). Ne var ki bu belirteçler çoğu mezotelyomada negatif iken reaktif süreçlerde de pozitif olabilir. Laboratuvar teknikleri, antikolar ve fiksasyondaki değişiklikler ve bunların standardizasyonu zordur. Bu nedenle malignensi tanısı sadece EMA ve p53'e dayanarak verilmemelidir. Son dönemlerde, GLUT1'in mezotelyal proliferasyonun diffüz malign mezotelyomadan ayırımında sensitif bir immunohistokimyasal belirteç olabileceği bildirilmiştir (10,75).

2.5. İmmun Belirteçler

2.5.1. P16

CDKN2A (p16) 9. kromozomda, 9p21. gende yerleşmektedir. INK4 ailesi, siklin D'nin CDK4 ve CDK6 ile birlikteliğini, siklin D-CDK4/6 kompleksinin fosforilasyonunu bloke ederek inhibe eder. Bu ailenin CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CDKN2D olmak üzere 4 üyesi vardır. İnaktive edici mutasyonlar ile CDKN2A ve CDKN2B'nin anormal metilasyonunun kanser gelişiminde önemli olduğu düşünülmektedir. CDKN2A'nın çeşitli tümörlerde mutasyonlar ve delesyonlar gösterdiği bulunmuştur (76).

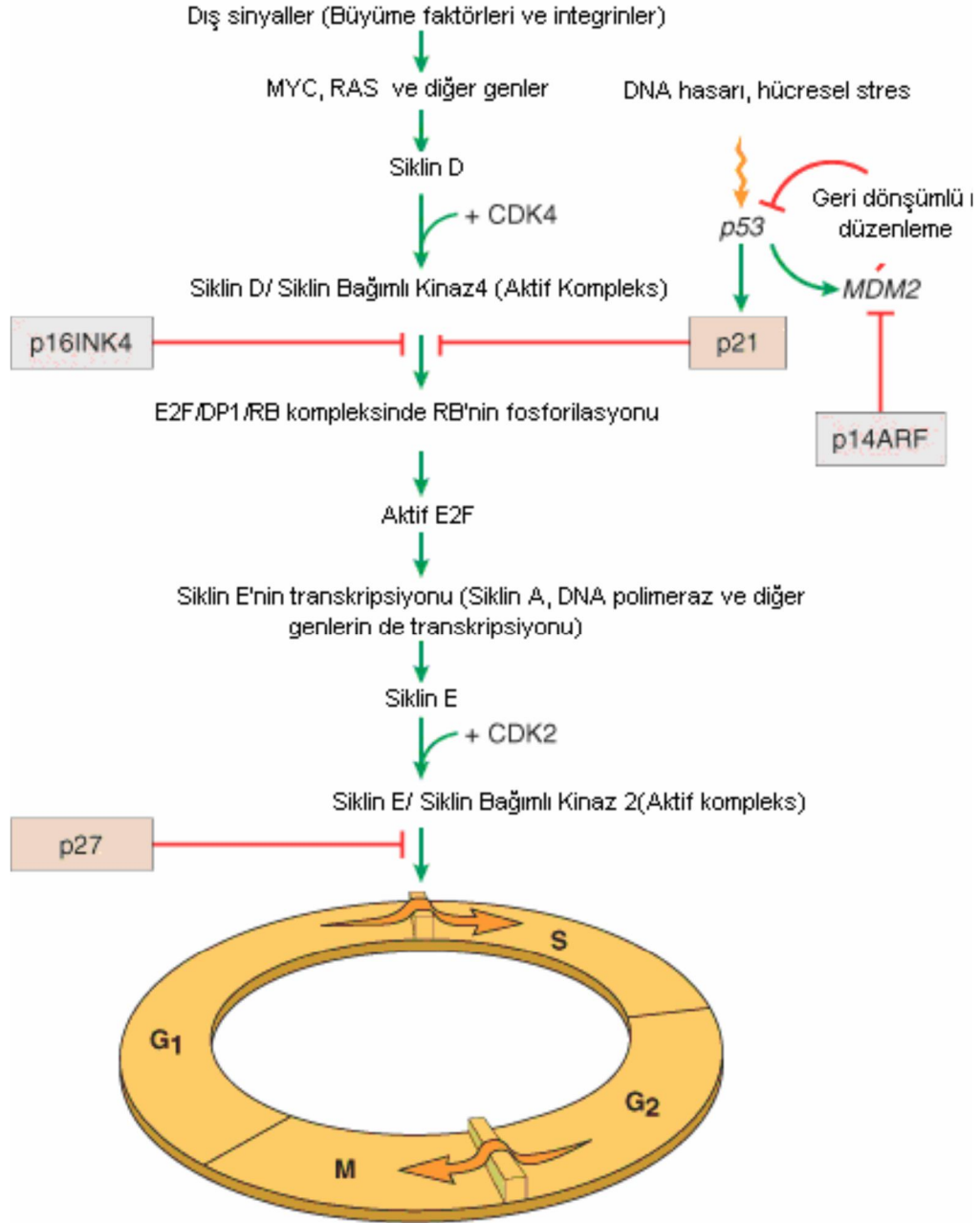
CDKN2A inaktivasyonu veya somatik edinsel delesyonu pankreatik karsinom, glioblastom, özofagus kanseri, küçük hücreli dışı akciğer karsinomu, yumuşak doku sarkomu ve mesane kanserinde saptanmıştır (77). p16 gen delesyonu çeşitli çalışmalarda malign mezotelyomaların %72'sinde gösterilmiştir (67,78).

Hücre siklusu her hücre genomunun düzenli replikasyonu ve iki kardeş hücreye bölünmesini sağlayan tek yönlü bir olaydır. Hücre siklusu 4 ana fazdan oluşmaktadır; G1 presentetik büyüme fazı, S somatik hücrelerde DNA sentezi, G2 premitotik büyüme fazı ve M mitotik fazı temsil eder. M fazı profaz, metafaz, telofaz ve anafaz evrelerinden oluşur. Normal hücre siklusunda dinlenme halindeki hücreler G0 evresindedir. Replikasyon için G1 evresine ve daha ileri evrelere geçmeleri gerekir (79).

Hücre siklusunun farklı evreleri boyunca hücrelerin düzenli olarak ilerlemesi siklinler, CDK'lar ve bunların inhibitörleri ile yönetilir. CDK hücrelerin bir sonraki evreye geçebilmesi için gerekli olan hedef proteinlerini fosforilleyerek siklusu harekete geçirir. CDK tüm hücre siklusu boyunca inaktif formdadır. Siklinler adı verilen protein ailesine bağlandıktan sonra fosforile olup aktif forma geçerler. Siklinlerin görevleri CDK'yı aktive etmektir. Siklin D hücre siklusunda artan ilk siklin olup G1 fazının ortasında görülür. Hücre siklusunun G1 fazında siklin D, CDK4'e bağlanarak siklinD-CDK4 kompleksini oluşturur. Bu kompleksler G1 fazında en yüksek aktivitelerini gösterir. Bu kompleks RB'ü fosforile ederek hücre siklusunda kritik rol oynar. RB fosforilasyonu hücre siklusu için moleküler bir anahtardır. Hipofosforile durumda iken RB transkripsiyon faktörü olan E2F ile sıkı bir kompleks oluşturarak hücre replikasyonunu önler. RB fosforilasyonu E2F'nin inhibitör etkinliğini ortadan kaldırır ve hücre siklusunun ilerlemesindeki engel ortadan kaldırılarak, hücre replikasyonu uyarılır. M fazında hücresel fosfatazlar ile fosfat grupları RB'den ayrılır ve yeniden hipofosforile RB oluşur (79) (Şekil 3).

İnsan INK4a/ARF lokusu, p16INK4a ve p14ARF olmak üzere iki proteinle kodlanır. Bunlar tümör supresör gen gibi davranarak hücre siklusunu bloke eder. p16INK4a, CDK4'e bağlanmak için siklin D ile yarışır ve siklin D-CDK4 kompleksinin inhibisyonunu sağlayarak RB geninin fosforilasyonunu engeller. Böylece hücre siklusu geç G1 fazında durdurulur. p16INK4a, insan kanserlerinde sıklıkla mutasyona uğramış ya da hipermetilasyonla inaktive edilmiştir. P16 INK4a ve p14 ARF hücre siklusunu

bloke etseler de hedefleri farklıdır. P16 pINK4a siklin D-CDK üzerine etkili iken p14 ARF, p53 degradasyonunu önler (79).



Şekil 3. Siklin, Siklin Bağımlı Kinazlar ve Siklin Bağımlı Kinaz inhibitörlerinin G1/S hücre siklusu geçişinin düzenlenmesindeki rollerini gösteren şema

2.5.2. İnsulin-like growth faktör II mRNA binding protein 3 (IMP3/L523S)

K homolog (KH) zincir, pre-messenger ribonukleik asid (mRNA)-bağlayıcı heterojen nuklear ribonukleoprotein K protein; bir dizi RNA bağlayıcı proteinde bulunmuştur ve KH zincir içeren proteinler RNA stabilitesinin düzenlenmesiyle ilişkilidir (80). İlk olarak pankreatik karsinom spesifik belirteçleri için yapılan bir taramada 4 KH zincir içeren yeni bir protein tespit edilmiş ve bu yeni protein KOC (KH domain containing protein overexpressed in cancer) olarak isimlendirilmiştir (81). Daha sonra KOC yerine fare monoklonal antikoru olan IMP3/L523S terimi tercih edilmiştir (82).

IMP3 580 aminoasidden oluşan 65-70 kDa ağırlığında 4 KH zincir içeren bir onkofetal RNA bağlayıcı proteindir (81). Bu protein mRNA stabilizasyonunda, hücre büyümesinde, hücre proliferasyonunda ve embriyogenezin erken evrelerinde hücre göçünde önemli rol oynar (83).

IMP3 ekspresyonu malign neoplazmlarla ilişkili bulunmuştur (17-19,81). Pankreas ve akciğer gibi değişik tümör tiplerinde tümör hücrelerinin bir kısmında ekspresyon göstermektedir (84,85). IMP3 ekspresyonu; melanom, mezotelyoma, mesane, serviks, kolorektum, özofagus, karaciğer, akciğer, pankreas, mide ve uterus karsinomlarında gösterilmiştir (17,84,85).

IMP3 agresif ve ileri dönem kanserlerle ilişkilidir, önemli bir kanser spesifik proteindir ve özellikle malign tümörlerde ekspresse edilmektedir ve benign tümörlerde bulunmaz (17,18). Ayrıca IMP3 tümör hücre proliferasyonu, invazyon ve metastazı düzenlemektedir (18).

Hem mezotelyomada hem de akciğer kanserlerinde yüksektir, mezotel-mezotel dışı malignensi ayrımında yardımcı değildir, lezyonun mezotel orijinli olduğu net ise kullanışlı bir belirteç olabilir (19,82).

2.5.3. Fosfohiston-H3 (PHH3)

Histon H3'ün serin10 düzeyinden fosforilasyonu (H3S10P) hücre siklusunun devamlılığında önemli bir durumdur, hücre siklusunda ilk olarak geç G2 fazında perisentromerik kromatinde ortaya çıkar. Daha sonra profaz esnasında kondanse

kromatin boyunca rastgele olmayan, sistematik bir biçimde yayılır ve anafaza doğru sebat eder. Mitoz tamamlandığında artık gösterilemez (86-88).

Ki67; G1, S, G2 ve M fazları boyunca ekspresse edilirken histon H3'ü meydana getiren kromatinin fosforilasyonu sadece geç G2 fazında gerçekleşir ve mitotik aktivite için daha net değerlendirme sağlamaktadır (88,89). Özellikle; kromatin kondensasyonu esnasında histonların fosforilasyonu 20 yıldan uzun zamandır bilinmesine rağmen daha son zamanlarda PHH3 potansiyel prognostik belirteç olarak çeşitli kanser antitelerinde değerlendirilmiştir (90). Hendzel ve ark. tarafından 1997'de PHH3 mitoz belirteci olarak ilk kez sunulmuştur (91).

PHH3 ökaryotik hücre kromatininde bulunan bir kor histon proteinidir. Memeli hücrelerinde mitozun interfaz esnasında önemsizdir, ancak kromatin kondensasyonu esnasında maksimum seviyeye ulaşır (92). PHH3 mitotik figürler için spesifik belirteçtir ve rutin ışık mikroskopunda mitotik figürü morfolojik olarak taklit eden apoptotik cisimlerde ekspresse edilmez (86). Çok sayıda çalışma PHH3 bazlı İHK ve H&E kesitlerde belirlenen mitoz sayıları arasında güçlü korelasyon olduğunu göstermiştir (93,94).

Anti-PHH3 fosforile histon H3 için çok spesifiktir, bu nedenle mitoz belirteci olarak yararlı bulunmuştur (91). Bu belirtecin değeri meme, over, kolorektal, baş-boyun ve akciğer karsinomlarını içeren çeşitli tümör tiplerinde onaylanmıştır ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (90,93,95).

3. MATERİYAL VE METOD

Bu çalışma TTU-2014-5069 nolu proje olarak Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve 2014/21 numaralı Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu tarafından desteklenmiştir.

3.1. Doku Örneklerinin Toplanması

Çalışmaya 2005-2014 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında malign mezotelyoma tanısı alan vakalar içerisinde 30 olgu, mezotelyal proliferasyon tanısı alan vakalar içerisinde 30 olgu ve kontrol grubu olarak 10 adet normal plevra dokusu dahil edildi.

3.2. Histopatolojik İnceleme

Malign plevral mezotelyoma, mezotelyal proliferasyon ve normal plevra dokusu tanısı alan olguların patoloji raporunda belirtilen blokları ve hematoksilin-eozin boyalı preparatları arşivden çıkarılarak yeniden değerlendirildi. Mezotelyoma olguları tekrar değerlendirilerek tümör alt tipleri belirlendi. On büyük büyütme sahasında mitoz sayısı kaydedildi. Olguların patoloji rapor verilerinden elde edilen hastanın tanı anındaki yaşı ve cinsiyeti not edildi.

3.3. İmmunohistokimyasal Çalışma

Çalışmanın ikinci aşamasında p16, PHH3 ve IMP3 immunohistokimyasal belirteçleri malign plevral mezotelyoma, mezotelyal proliferasyon ve normal plevra dokusu tanısı

almış olgularda çalışıldı. Kullanılan antikorların özellikleri ve dilüsyon miktarları tablo 4'te belirtilmiştir.

Tablo 4. Kullanılan primer antikorlar ve dilüsyon miktarları

Antikor	Klon numarası	Kaynak	Antikor tipi	Dilüsyon
IMP3	69.1	Abcam	Monoklonal	1/100
PHH3	-	Abcam	Poliklonal	1/150
P16	G175-405	Abcam	Monoklonal	1/75

70 adet formalin fikse parafine gömülü dokudan 5 mikronluk kesitler yapıldı ve dokular dökülmemesi için poli-L-lizinle kaplı lamlara alındı. Kesitler 60°C'lik etüvde 1 saat bekletildikten sonra 15 dakika ksilol ile deparafinize edildi. Derecesi giderek azalan alkollerden geçirilerek hidrate edilip distile suda yıkandı. Primer antikorlar p16, PHH3 ve IMP3 uygulandı. Ventana BenchMark XT marka makinede boyama gerçekleştirildi.

Otomatik boyama cihazında boyanan preperatlar derecesi gittikçe artan alkollerden (%96 ve %99.5) sırasıyla beşer dakika geçirildikten sonra 15 dakika ksilolde bekletildi. Kapatma solüsyonu ile kapatıldı.

Pozitif kontrol olarak; P16 için high grade skuamoz intraepitelyal lezyon tanısı almış serviks dokusu, PHH3 için derinin bazal hücreli karsinomu, IMP3 için fetüs over dokusunda oositler kullanıldı.

Çalışmada Olympus marka mikroskop kullanılarak sonuçlar; 40x, 100x, 200x ve 400x büyütmede iki patolog (SB, SSÖ) tarafından değerlendirildi.

Hazırlanan kesitler ışık mikroskopunda incelendi. İmmunohistokimyasal değerlendirmede IMP3 için sitoplazmik boyanma, PHH3 için nükleer boyanma, P16 için nükleer+sitoplazmik boyanma pozitif kabul edildi.

PHH3 ile boyanan mezotelyal hücreler en yüksek boyanmanın olduğu alanda on büyük büyütme sahasında sayıldı ve mitoz/10 BBS olarak kabul edildi. Bu değerlendirmede artefaktik boyanmalar ve mitoz benzemeyen boyanmalar sayılmadı.

P16 değerlendirilirken dokuda hedef hücrelerde herhangi yaygınlıkta sitoplazmik ve/veya nükleer boyanma olması durumunda pozitif, hiçbir boyanma olmaması durumunda negatif olarak kabul edildi.

IMP3 değerlendirilmesinde mezotelyal hücrelerde boyanma olmaması durumunda negatif, %10'un altında boyanma durumunda 1+, %10-%50 boyanma durumunda 2+, %50 üzerinde boyanma durumunda 3+ olarak kabul edildi (83) (Tablo 5).

Tablo 5. IMP3 için kullanılan skorlama tablosu

	Skorlar			
İmmünohistokimyasal belirteç	Negatif	1(+)	2(+)	3 (+)
IMP3	Boyanma yok	%10'dan az hücrede sitoplazmik boyanma	%10-50 hücrede sitoplazmik boyanma	%50'den fazla hücrede sitoplazmik boyanma

3.4. İstatistiksel yöntem

İstatistiksel çalışma yapılırken olgularda tanı ve varsa alt tipi, yaş, cinsiyet, 10 büyük büyütme sahasındaki mitoz sayısı ve immünohistokimyasal boyama sonuçları karşılaştırıldı.

Veriler IBM SPSS Statistics 22.0 istatistik paket programında değerlendirildi. Verilerin normal dağılımı Shapiro Wilk normallik testi ve Q-Q grafikleri ile değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma, medyan(25.-75. persentil) değerleri olarak verildi. Sayısal değişkenlerin üç grup karşılaştırmaları Kruskal-Wallis Analizi ile, çoklu karşılaştırmaları ise Dunn testi ile yapıldı. İki grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Uygun kesim noktalarının belirlenmesinde ROC Eğrisi analizinden yararlanıldı. Sayısal değişkenler arası ilişkiler Spearman Korelasyon Analizi ile değerlendirildi. Kategorik değişkenler arası ilişkiye Ki-Kare testinin exact yöntemi ile bakıldı. Markerlar arası uyum Kappa Analizi ile değerlendirildi. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

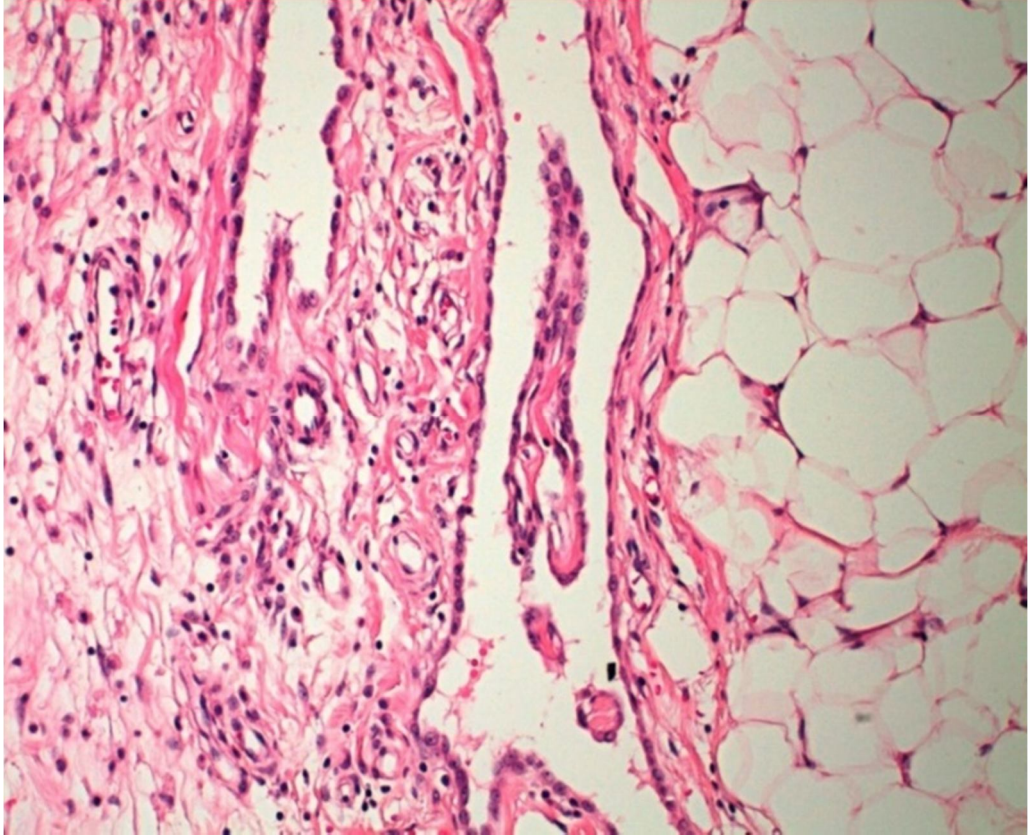
4.1. Genel Bulgular

Çalışmada değerlendirmeye alınan toplam 70 olgunun yaşları 1 ile 88 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 55.1 ± 17.7 olarak bulundu. Olguların 27'si kadın, 43'ü erkek idi. MM'ların 18'i erkek, 12'si kadın idi. RMH'lerin 14'ü erkek, 16'sı kadın idi. Toplam 70 hastanın 30'u malign mezotelyoma hastası idi ve yaş ortalaması 59.2 ± 12.8 (27-78) idi. Mezotelyal proliferasyon tanısı alan hasta sayısı 30 idi ve yaş ortalaması 53.5 ± 20.0 (1-88) idi. 10 kontrol grubu hastasının yaş ortalaması 47.9 ± 21.3 (16-75) idi (Tablo 8).

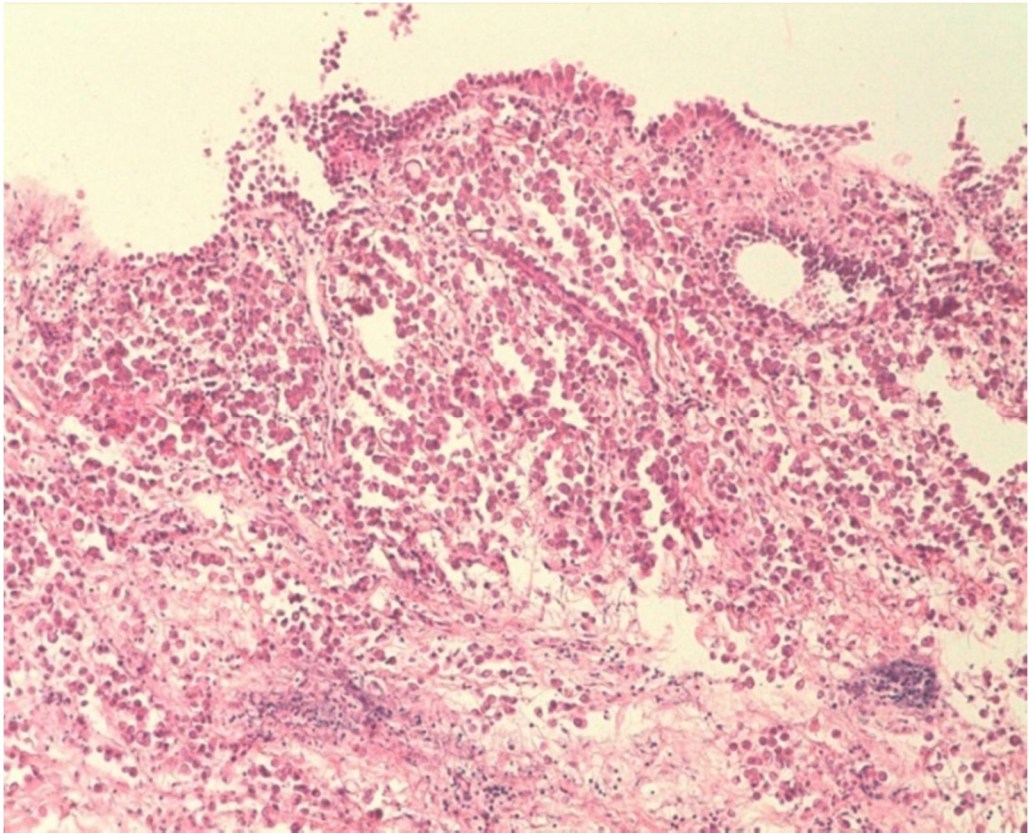
30 malign mezotelyoma olgusunun 24'ü (%80) epitelioid tip, 4'ü (%13,3) sarkomatoid tip, 2'si (%6,7) bifazik tip idi (Tablo 6).

Tablo 6: Mezotelyoma alt tipleri ve oranları

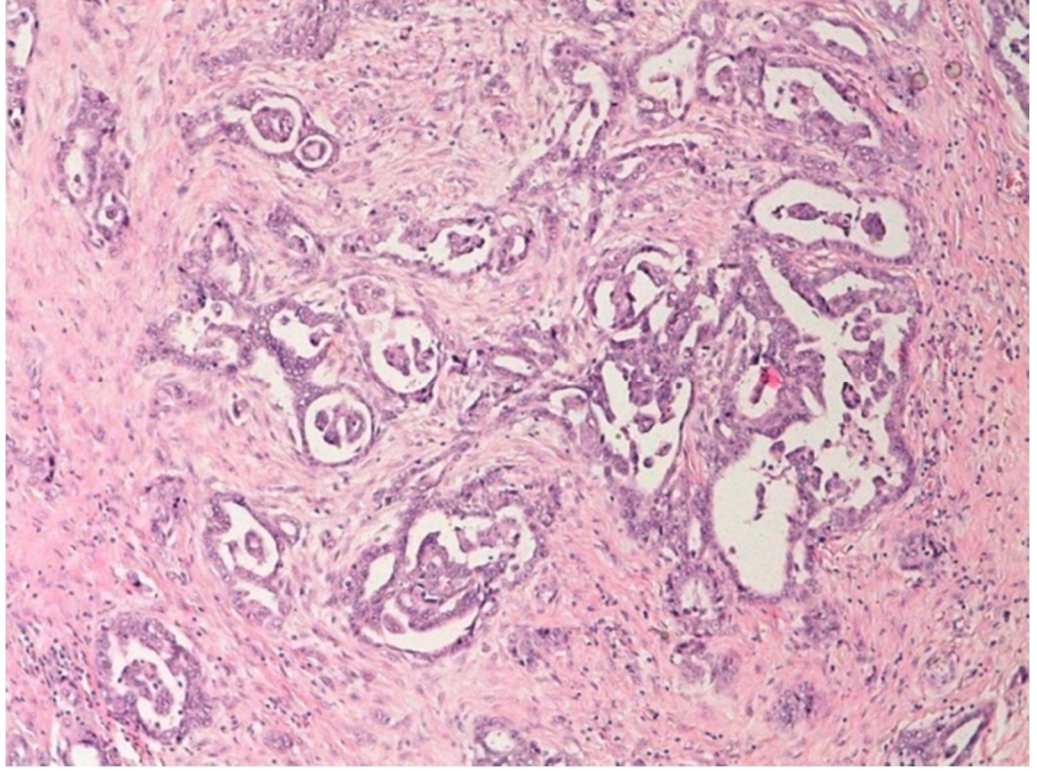
Malign mezotelyoma	Sayı	Yüzde
Epitelioid	24	%80
Sarkomatoid	4	%13,3
Bifazik	2	%6,7
Toplam	30	%100



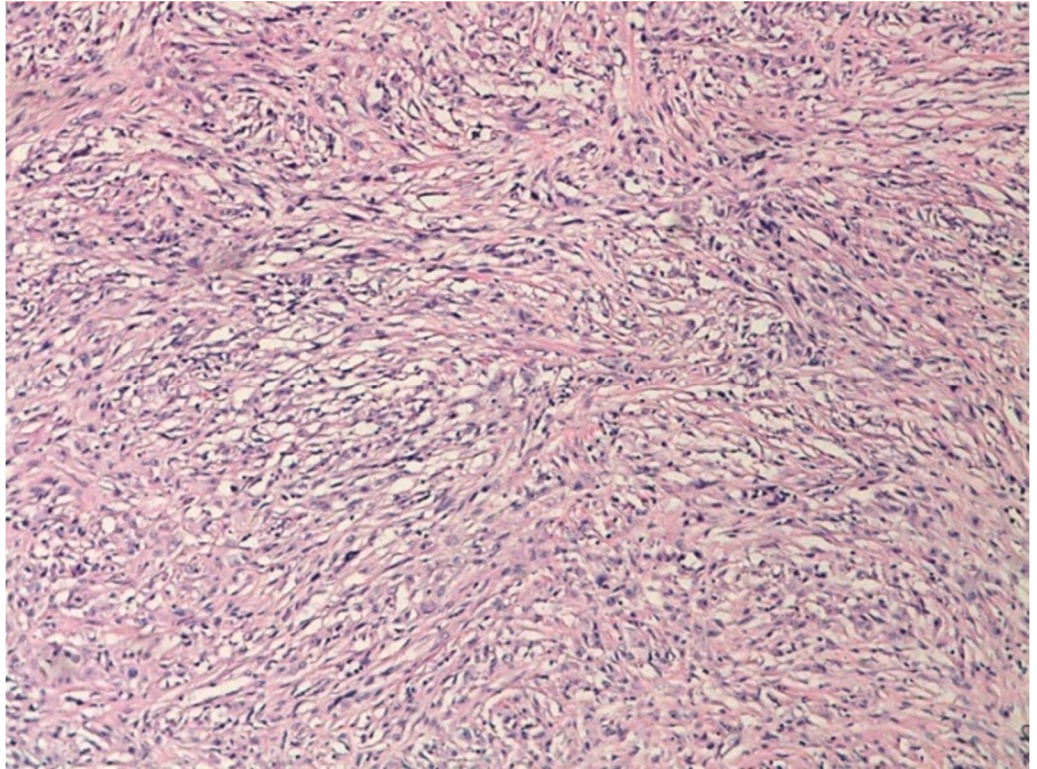
Şekil 4. Normal plevra dokusu (x100, H&E)



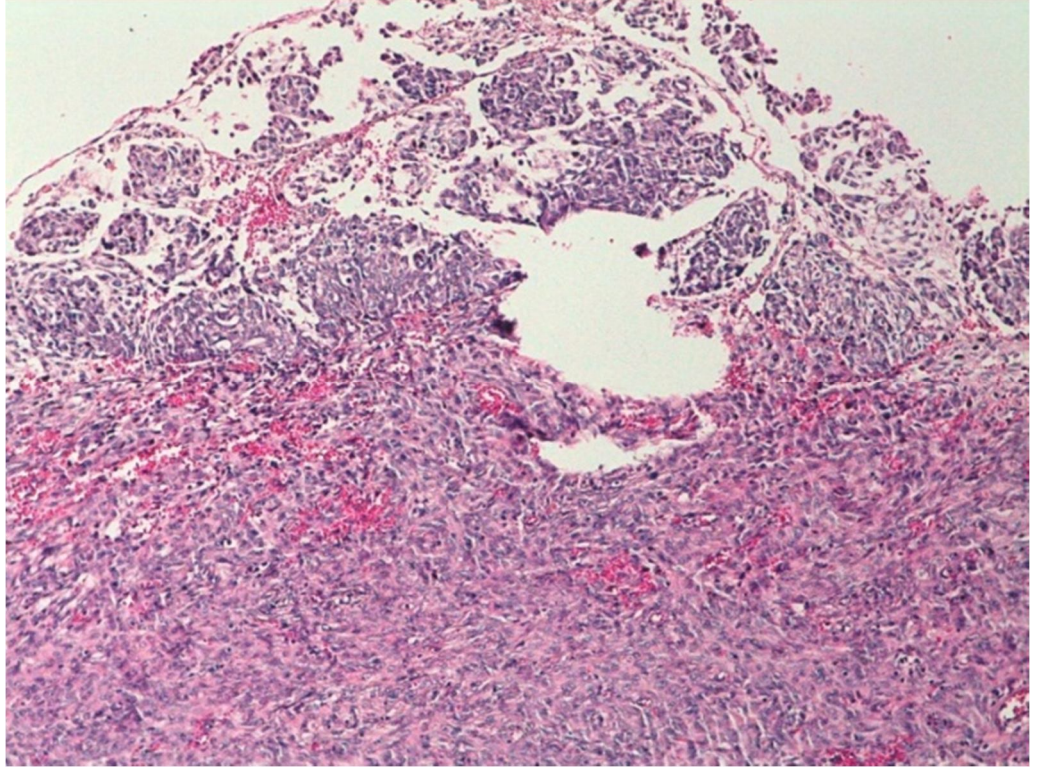
Şekil 5. Mezotelyal proliferasyon (x100, H&E)



Şekil 6. Epitelioid tip malign mezotelyoma (x100, H&E)



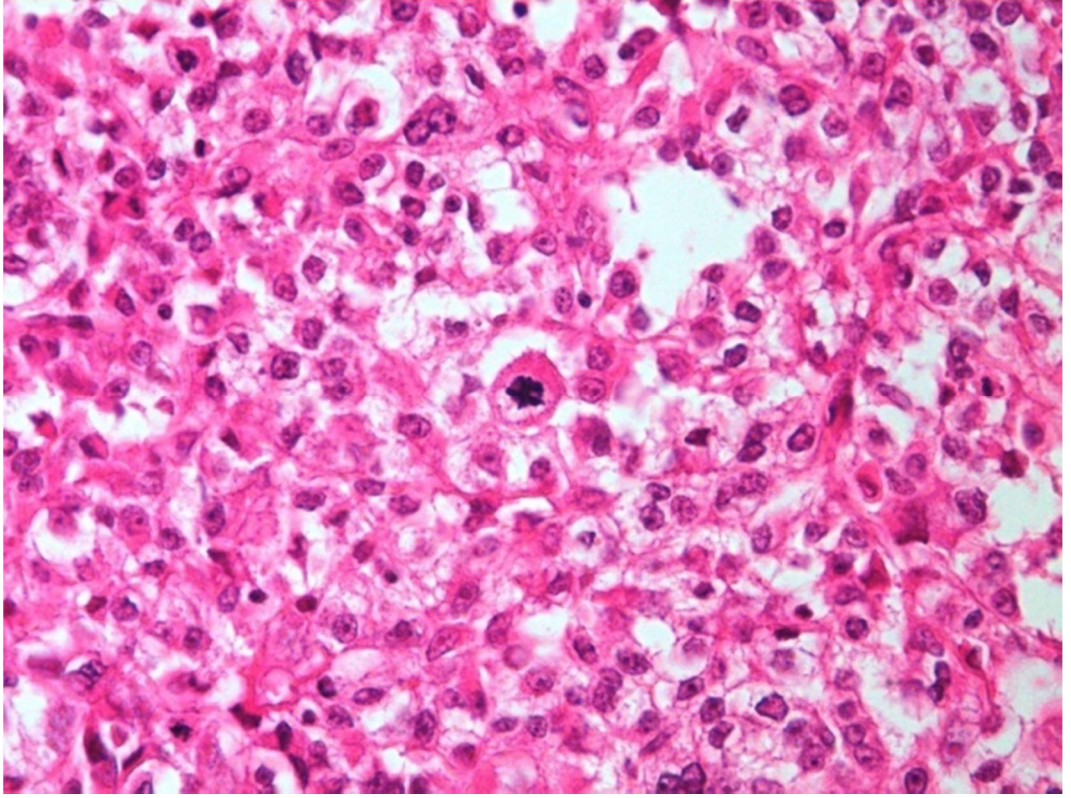
Şekil 7. Sarkomatoid tip malign mezotelyoma (x100,H&E)



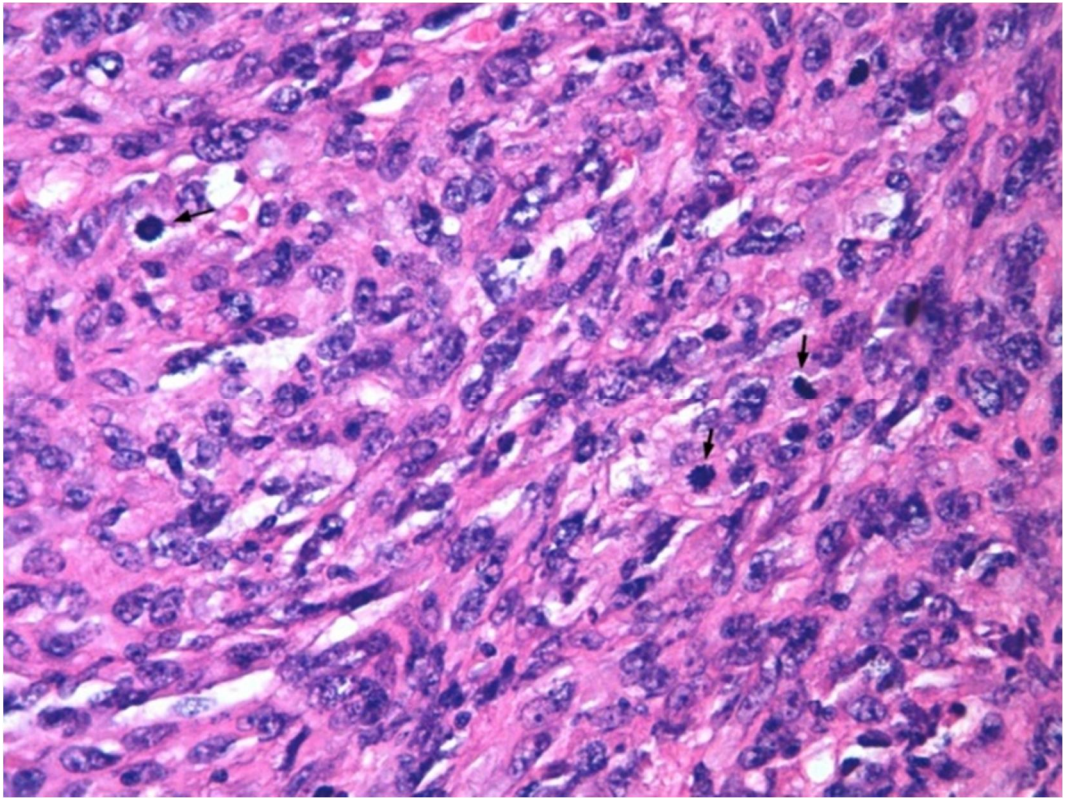
Şekil 8. Bifazik malign mezotelyoma (x100,H&E)

MM'larda en yüksek mitoz sayısı 30, en düşük mitoz sayısı 0, ortalama mitoz sayısı 6.60 idi. Ortalama mitoz sayısı epitelioid tipte 4.71, sarkomatoid tipte 15.25, bifazik tipte 12 idi. Mezotelyal proliferasyon olgularında mitoz sayısı en yüksek 5, en düşük 0 ve ortalama 0.76 idi (Tablo 8).

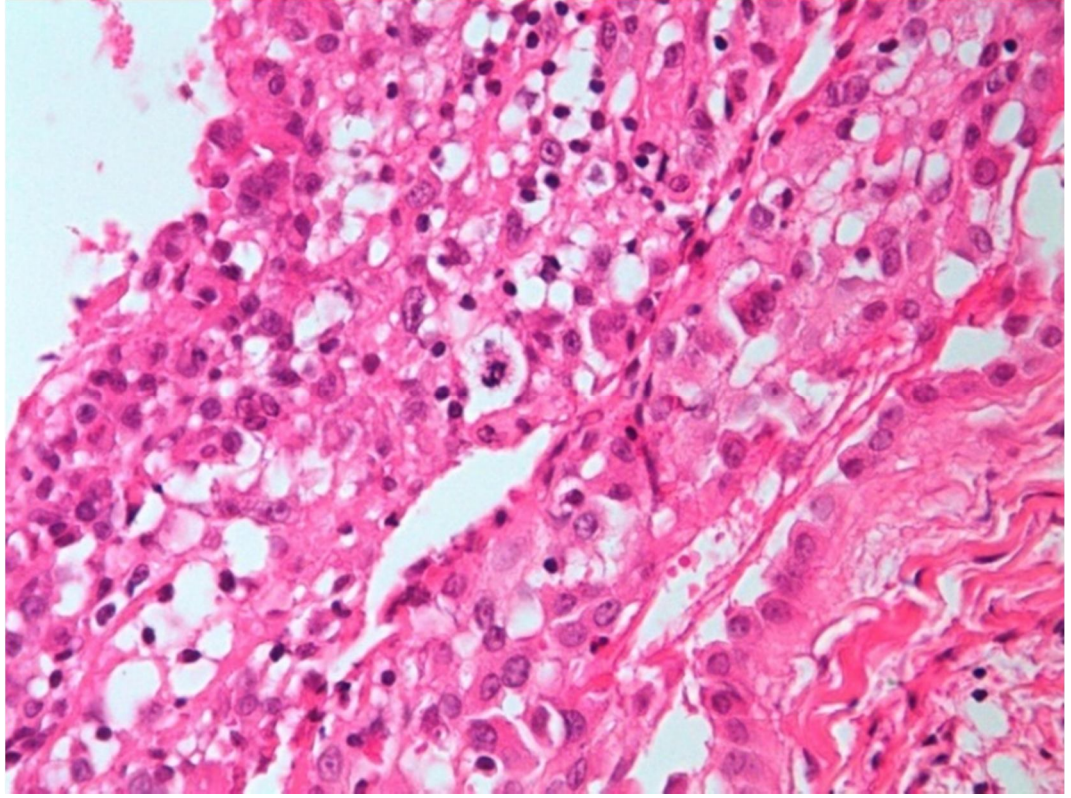
Mitoz normal plevra dokusunda izlenmedi. Normal plevra ile mezotelyal proliferasyon mitoz sayısı açısından karşılaştırıldığında gruplar arası fark ($p=0.277$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Mezotelyal proliferasyon ile malign mezotelyoma ($p=0.000$) ve normal plevra ile malign mezotelyoma ($p=0.000$) mitoz sayısı açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 9. Epitelioid tipte mitoz (x400, H&E)



Şekil 10. Sarkomatoid tipte mitoz (x400, H&E)



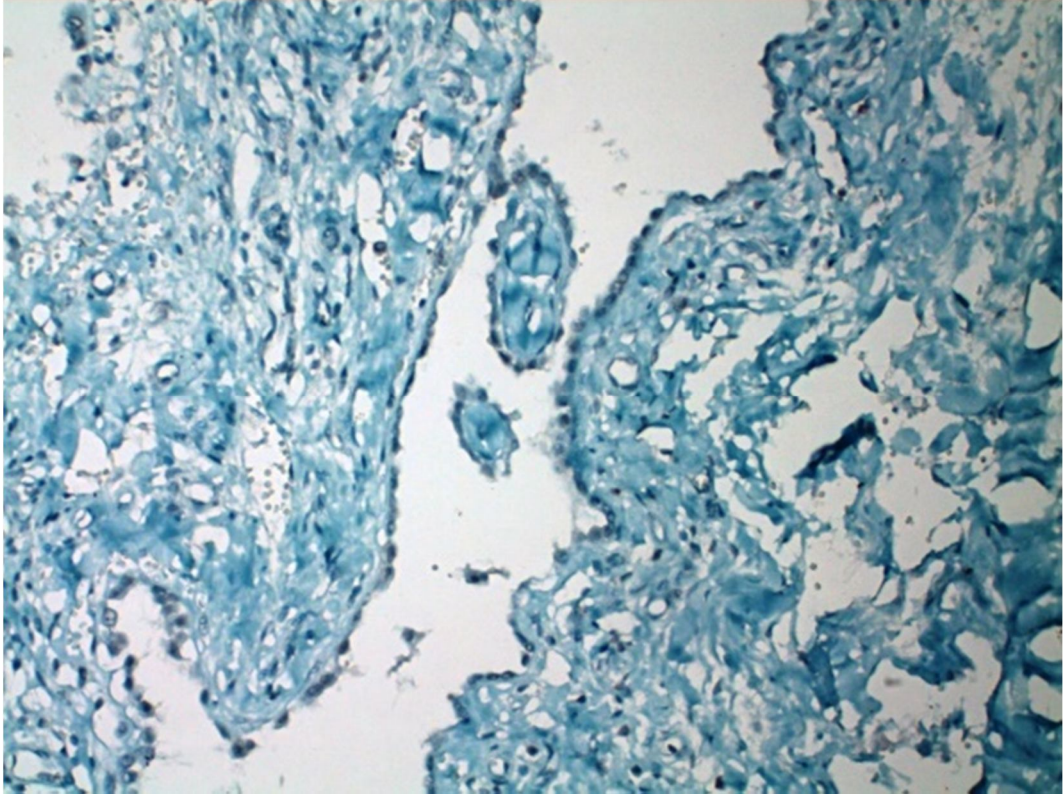
Şekil 11. Mezotelyal proliferasyonda mitoz (x400, H&E)

4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

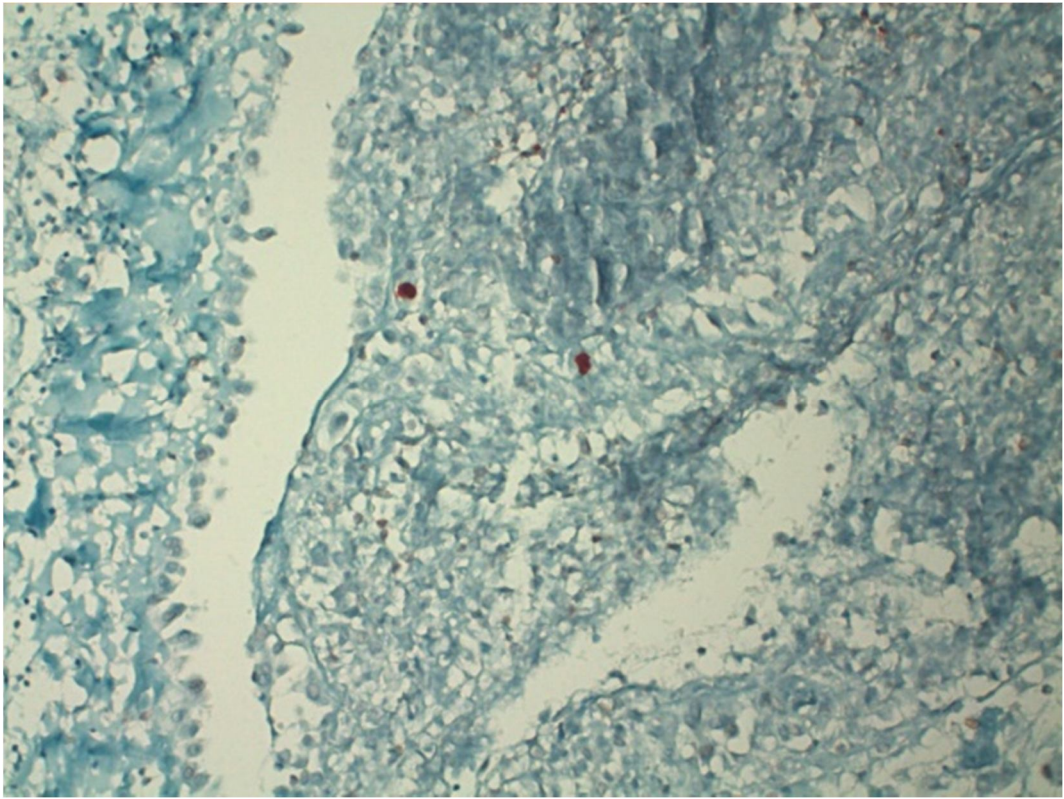
PHH3 ekspresyonu normal plevra dokusunda izlenmedi. MM'larda 10 BBA'da en yüksek PHH3 sayısı 45, en düşük PHH3 sayısı 0, ortalama PHH3 sayısı 11.26 idi. Ortalama PHH3 sayısı epitelioid tipte 9.71, sarkomatoid tipte 20.75, bifazik tipte 11 idi. Mezotelyal proliferasyon olgularında PHH3 sayısı en yüksek 10, en düşük 0 ve ortalama 1.76 idi (Tablo 8).

Normal plevra ile mezotelyal proliferasyon PHH3 ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p=0.156$) bulunmamıştır ($p>0,05$). Mezotelyal proliferasyon ile malign mezotelyoma ($p=0.000$) ve normal plevra ile mezotelyoma ($p=0.000$) PHH3 ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

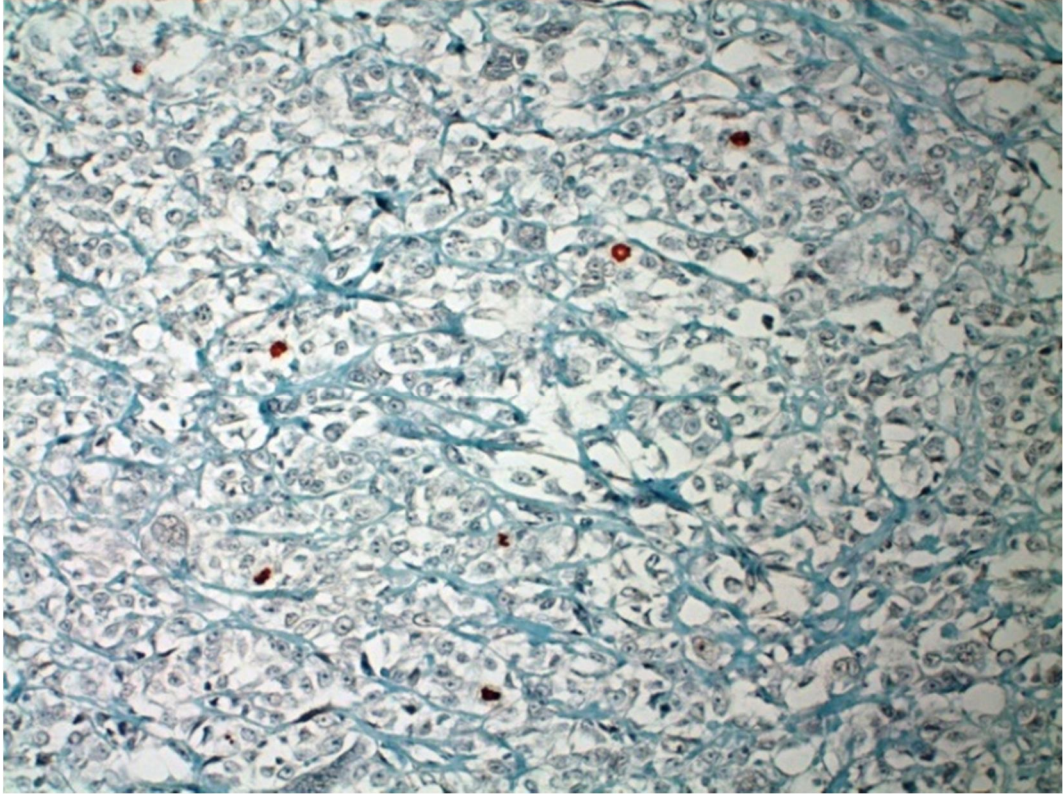
Mitoz ile PHH3 değerleri tüm olgularda ve malign mezotelyoma ve mezotelyal proliferasyon olgularında ayrı ayrı karşılaştırılmış ve birbiri ile korelasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.000$).



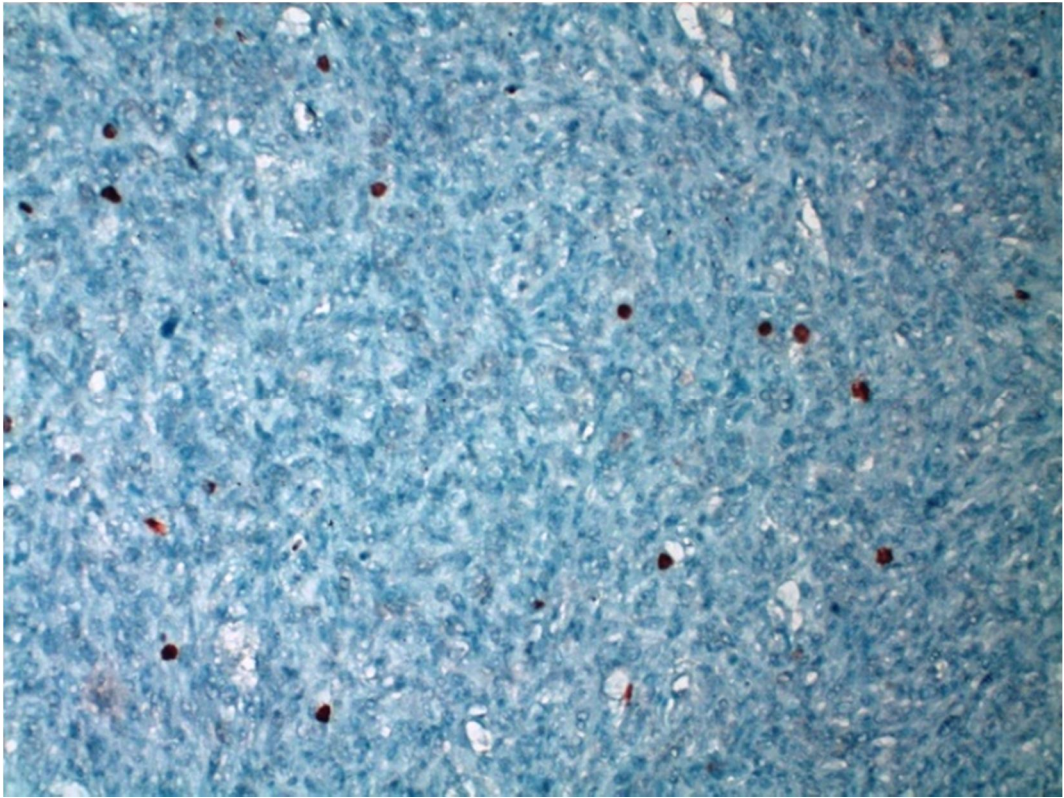
Şekil 12. Normal plevrada PHH3 ile negatif boyanma (x200, immünperoksidaz)



Şekil 13. Mezotelyal proliferasyonda PHH3 boyanması (x200, immünperoksidaz)

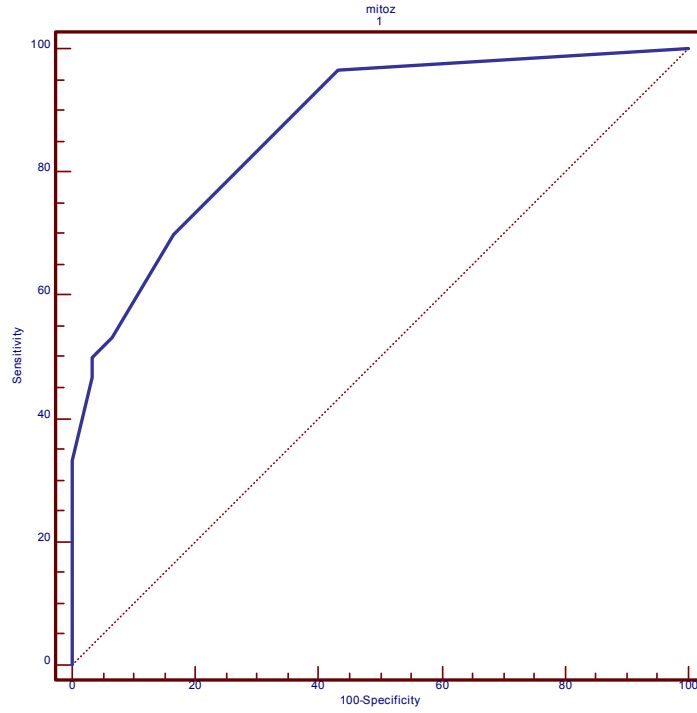


Şekil 14. Epitelioid mezotelyomada PHH3 boyanması (x200, immünperoksidaz)



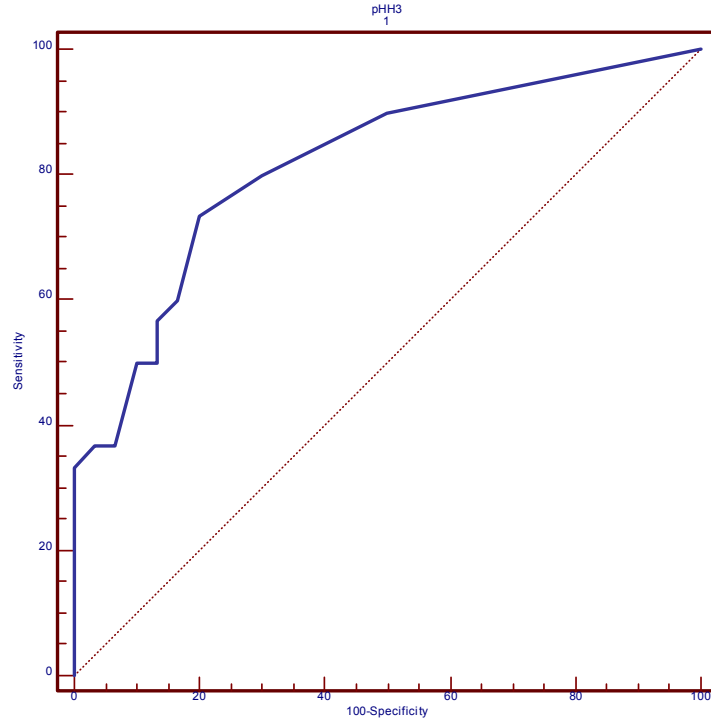
Şekil 15. Sarkomatoid mezotelyomada PHH3 boyanması (x200, immünperoksidaz)

Mezotelyal proliferasyon ile malign mezotelyoma olgularındaki mitoz sayıları ROC curve analizi ile değerlendirilmiş ve mitoz eşik değeri >0 olarak bulunmuştur. Eşik değeri >0 olduğunda sensitivite %96.67, spesifite %56.67, prediktif değer %69 iken; >5 olduğunda sensitivite %33.33'e düşerken, spesifite %100, prediktif değer %100'e çıkmaktadır (Şekil 16).



Şekil 16. Mitoz sayısı ile sensitivite-spesifite ilişkisini gösteren eğri

Aynı şekilde PHH3 sayıları değerlendirilmiş ve eşik değeri >2 olarak bulunmuş olup, bu değerde sensitivite %73.33, spesifite %80.00, prediktif değer %78.6 bulunmuştur. PHH3 sayısı >10 olduğunda sensitivite %33.33, spesifite %100, prediktif değer %100 olmaktadır. (Şekil 17).



Şekil 17. PHH3 sayısı ile sensitivite-spesifite ilişkisini gösteren eğri

P16 ekspresyonu 10 normal plevra dokusundan 3'ünde (%30) görülürken; 7'sinde (%70) ekspresyon izlenmedi.

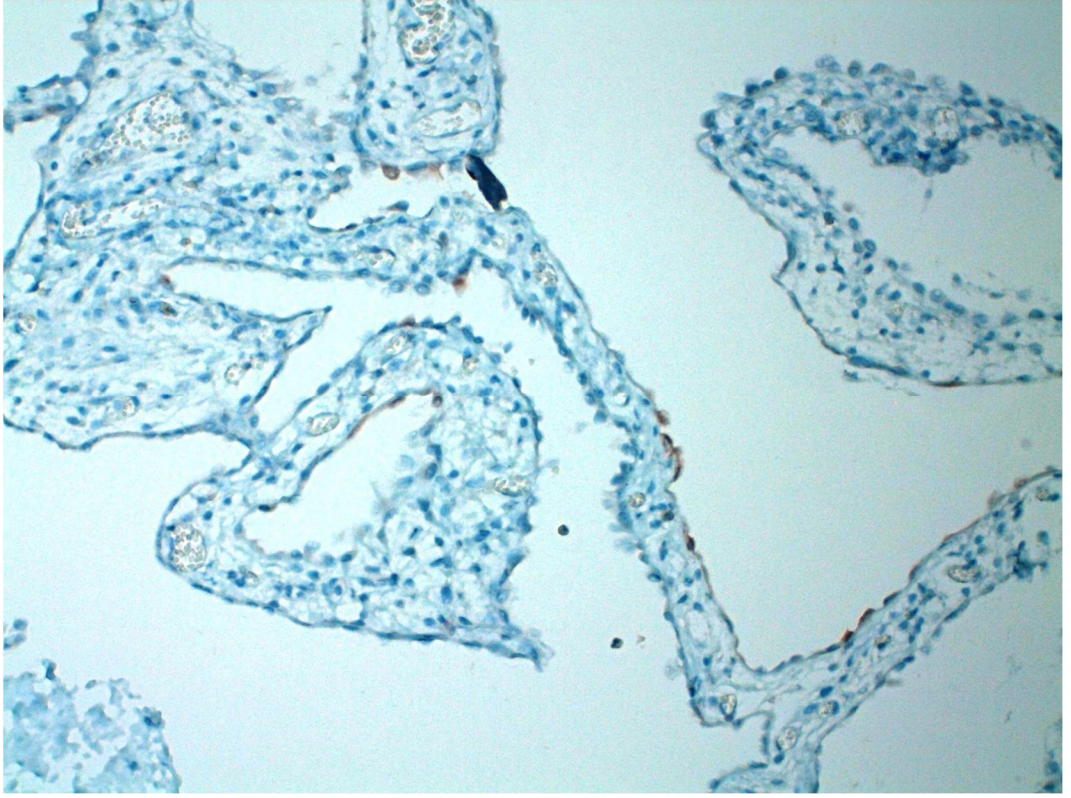
30 mezotelyal proliferasyon olgusunun 8'inde (%26.67) p16 ile boyanma izlendi, 22'sinde (%73.33) p16 ekspresyonu görülmedi (Tablo 8).

30 malign mezotelyoma olgusunun 10'unda (%33.33) p16 ile pozitif boyanma görülürken; 20'sinde (%66.67) p16 ekspresyon kaybı izlendi (Tablo 8).

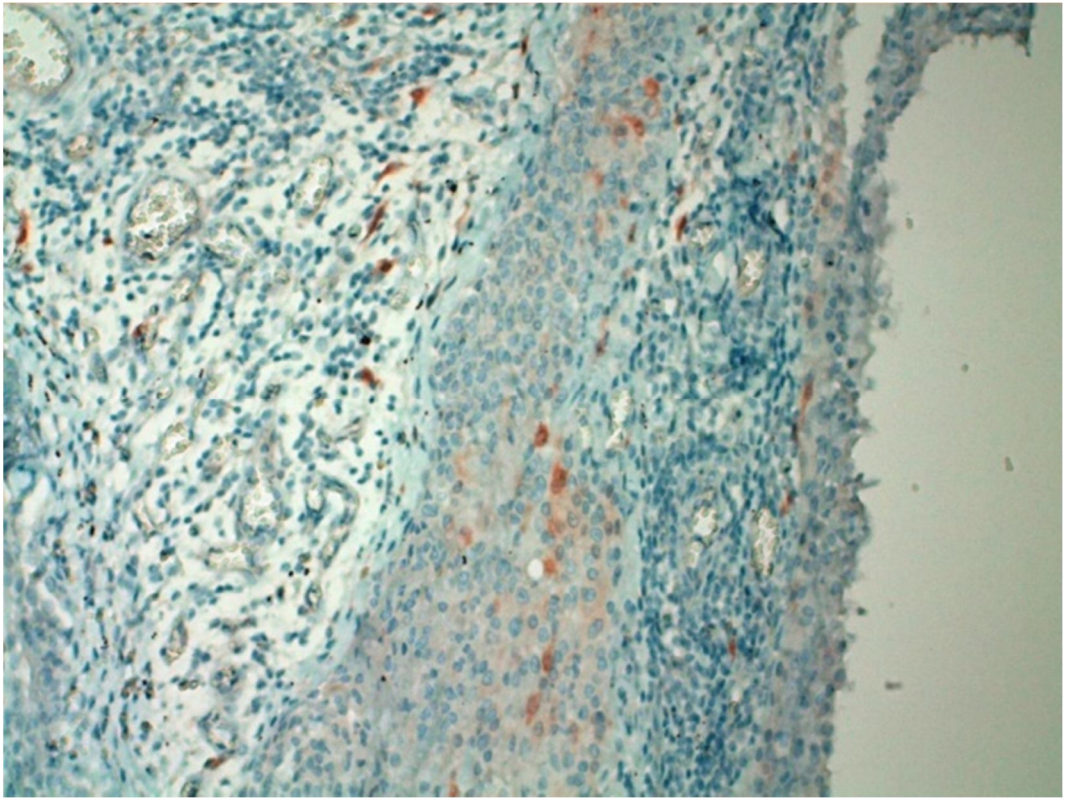
P16 ile pozitif boyanan 10 olgudan 9'u epitelioid, 1'i bifazik tip idi. P16 ekspresyon kaybı gösteren 20 MM olgusunun 15'i epitelioid tip, 4'ü sarkomatoid tip, 1'i bifazik tip idi (Tablo 7).

MM'lerden 24 epitelioid mezotelyomanın 15'inde (%62.5), 4 sarkomatoid mezotelyomanın tamamında (%100), 2 bifazik mezotelyomanın 1'inde (%50) p16 ekspresyon kaybı görüldü.

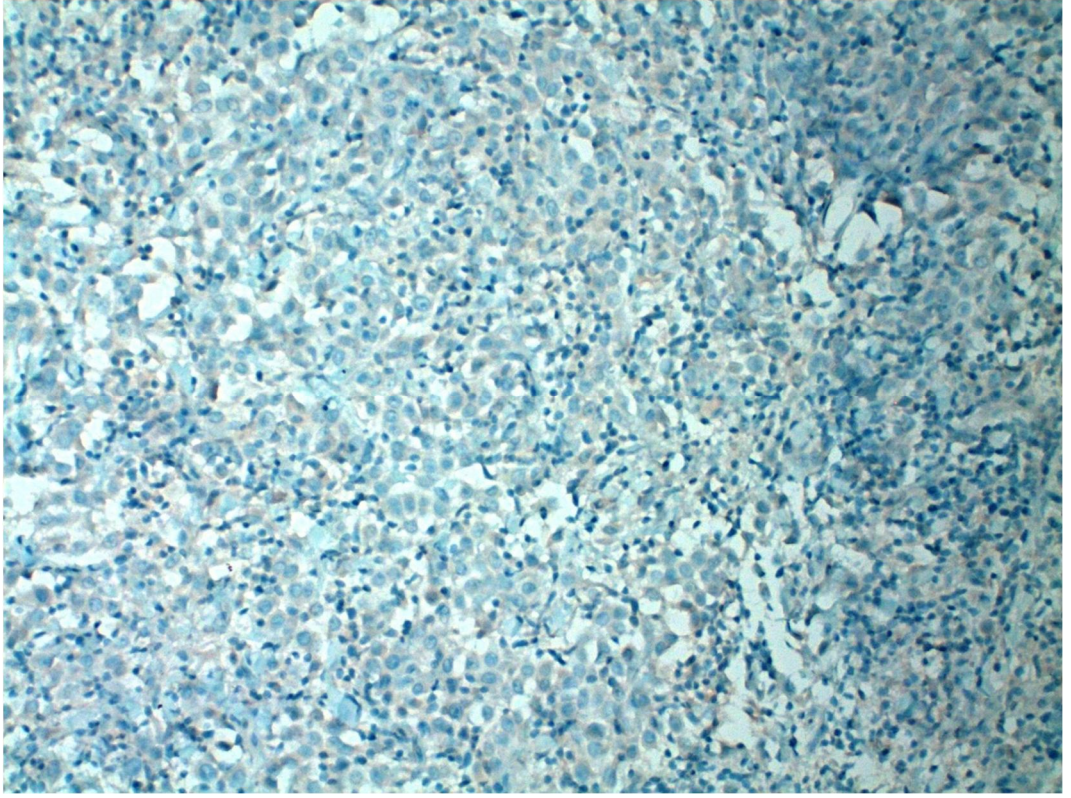
Mezotelyal proliferasyon ile MM olguları p16 ekspresyon kaybı açısından karşılaştırıldığında gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).



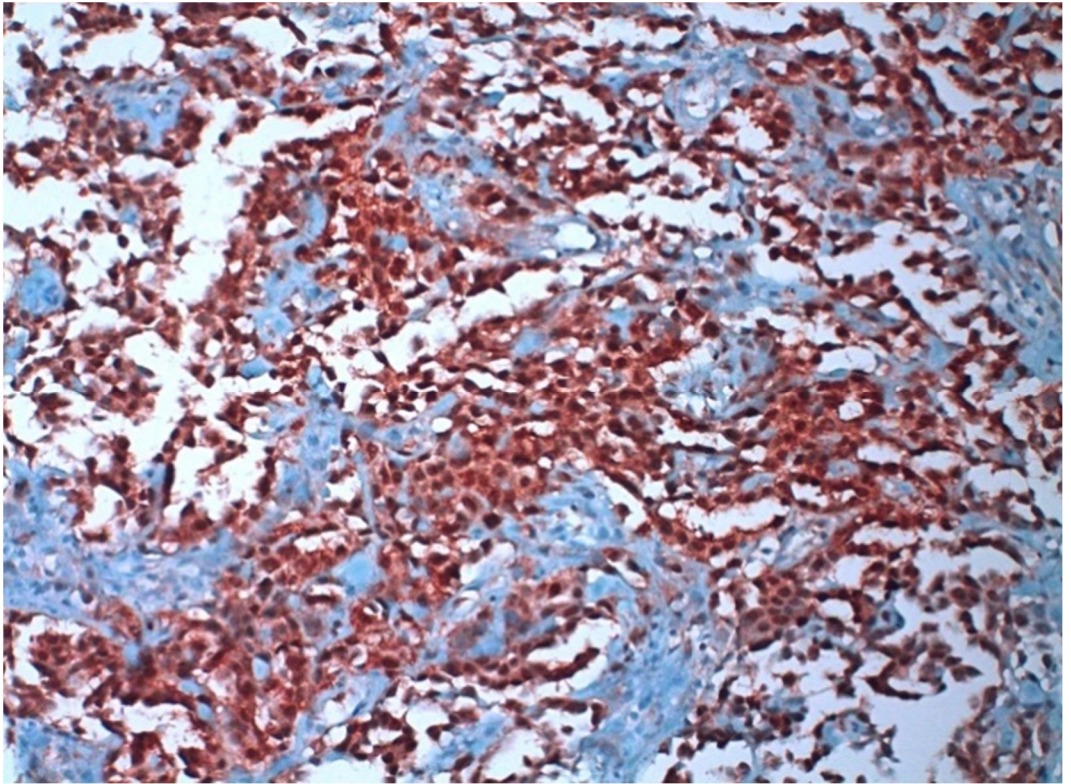
Şekil 18. Normal plevra dokusunda p16 ekspresyonu (x200, immunperoksidaz)



Şekil 19. Mezotelyal proliferasyonda p16 ekspresyonu (x200, immünperoksidaz)



Şekil 20. Malign mezotelyomada p16 ekspresyon kaybı (x200, immunperoksidaz)



Şekil 21. Malign mezotelyomada p16 pozitifliği (x200, immünperoksidaz)

IMP3 ile normal plevra dokusunda boyanma izlenmedi.

30 mezotelyal proliferasyon olgusunun 5'inde (%16.7) IMP3 ile boyanma izlendi, 25'inde (%83.3) IMP3 ile boyanma izlenmedi. IMP3 ile pozitif boyanan 5 olgudan 3'ünde (%60) 1+, 1'inde (%20) 2+, 1'inde (%20) 3+ boyanma elde edildi.

30 malign mezotelyoma olgusunun 12'sinde (%40) IMP3 ile boyanma görüldü, 18'inde (%60) boyanma izlenmedi. Pozitif boyanan 12 olgunun 9'u (%75) epitelioid tip, 3'ü (%25) sarkomatoid tip idi. IMP3 ile pozitif boyanan 12 olgunun 9'unda (%75) 3+, 2'sinde (%16.66) 2+, 1'inde (%8.33) 1+ boyanma elde edildi. 3+ boyanan toplam 9 olgudan 7'si (%77.78) epitelioid tip, 2'si (%22.22) sarkomatoid tip idi. 2+ olan toplam 2 olgunun 1'i (%50) epitelioid tip, 1'i (%50) sarkomatoid tip idi. 1+ olan 1 (%100) olgu da epitelioid tip idi. Bifazik tipte IMP3 ile boyanan olmadı (Tablo 7).

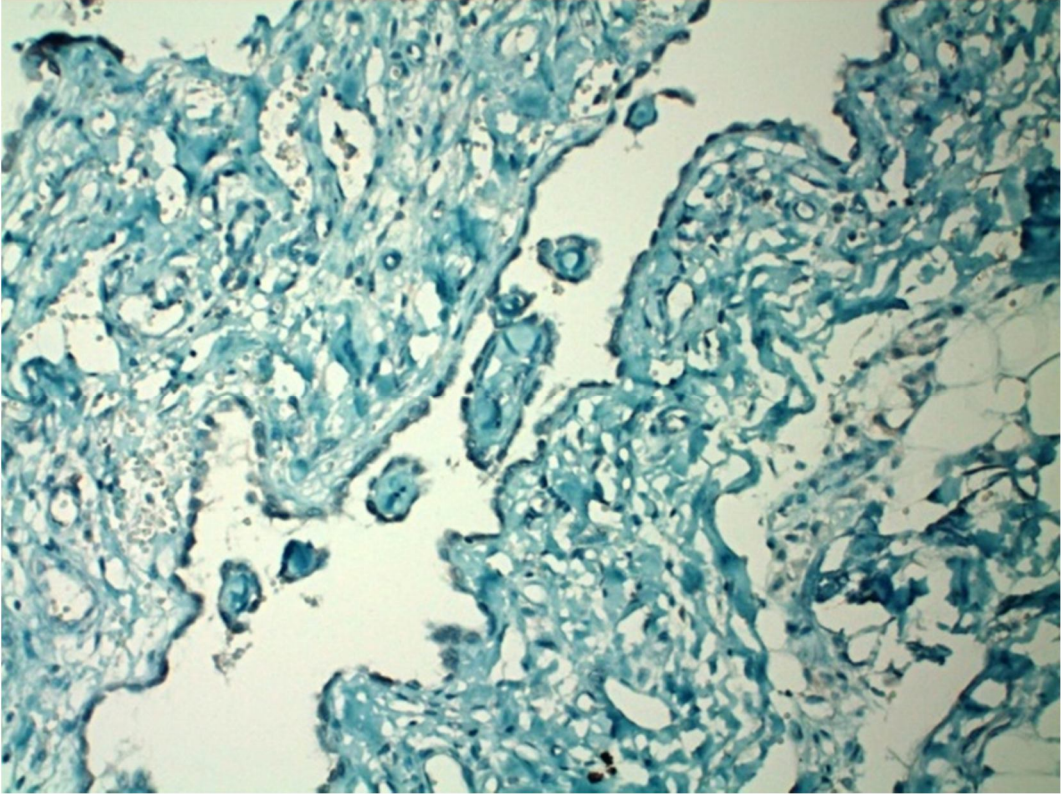
Tablo 7. Mezotelyoma alt tiplerinde p16 ve IMP3 ekspresyonu

İmmün belirteç		Epitelioid tip (n:24)	Sarkomatoid tip (n:4)	Bifazik tip (n:2)	Toplam (n:30)
P16	Pozitif	9	0	1	10(%33.33)
	Negatif	15	4	1	20(%66.67)
IMP3	1+	1	0	0	1(%3.33)
	2+	1	1	0	2(%6.67)
	3+	7	2	0	9(%30)
	Negatif	15	1	2	18(%60)
	Toplam	24	4	2	30

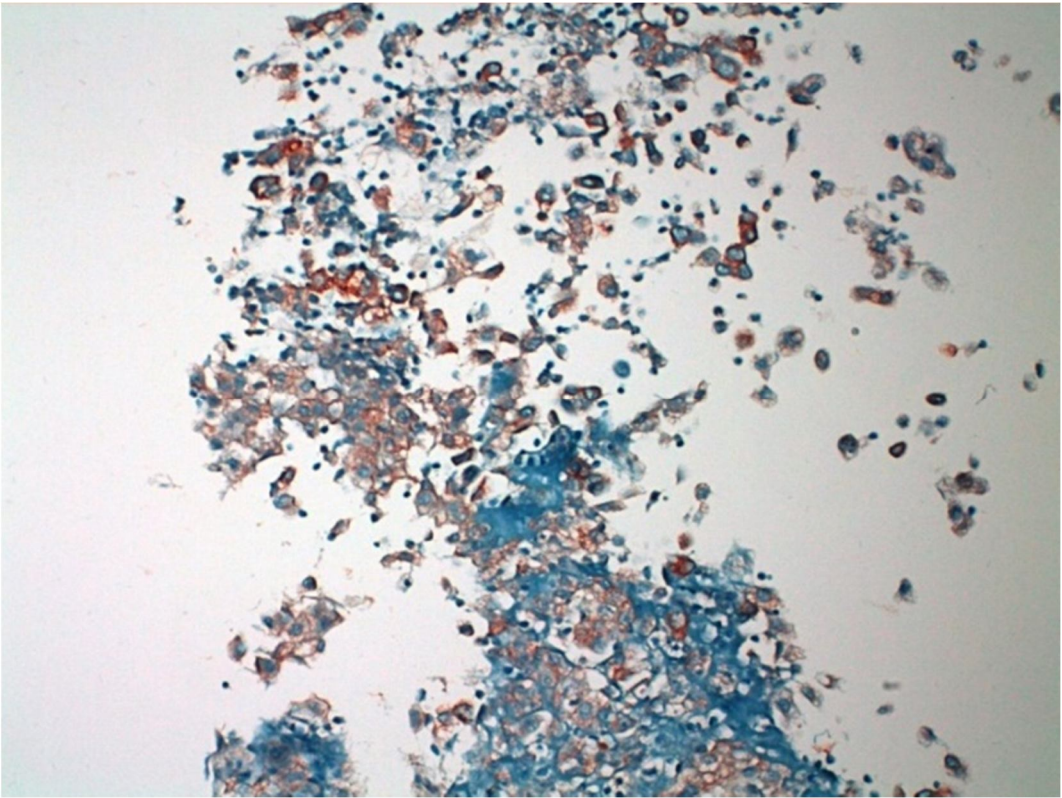
Mezotelyal proliferasyon ile MM olguları IMP3 ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında gruplar arası fark ($p=0.045$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Malign mezotelyomalarda; IMP3 ile pozitif boyanırken p16 ekspresyon kaybı gösteren olgu sayısı 10 idi. Bu değer korelasyon açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

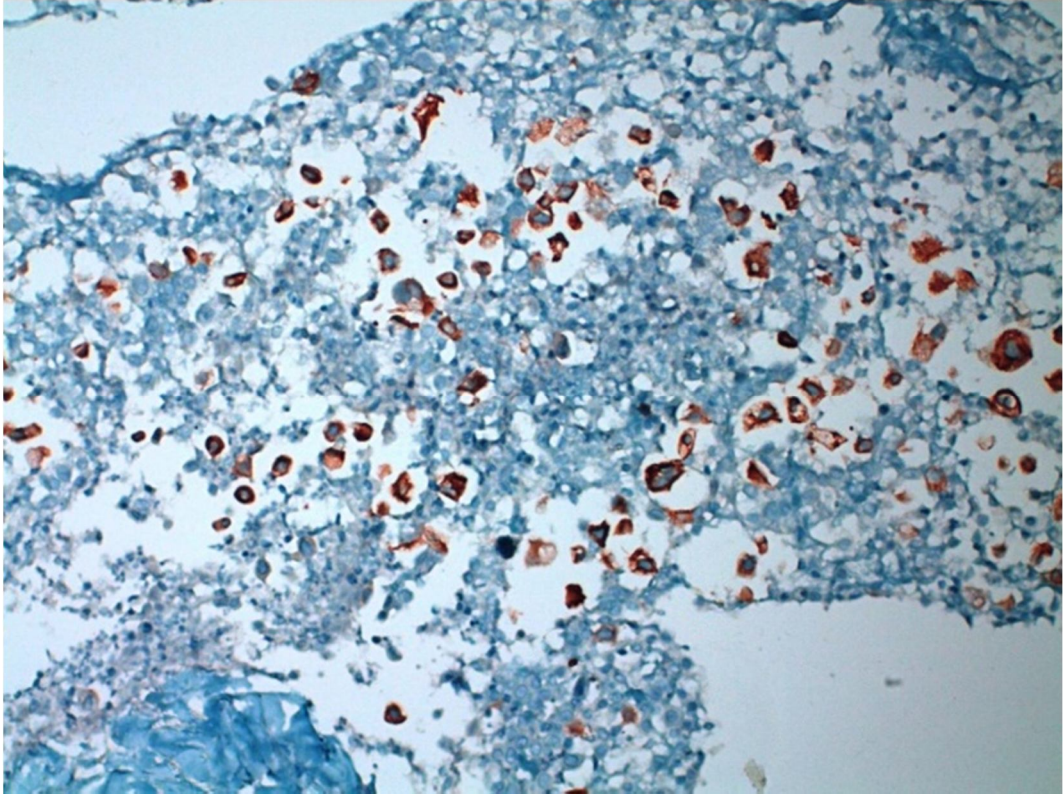
MM'larda sırayla 6.6 ve 11.26 olan mitoz ve PHH3 değerleri IMP3 ile pozitif olan olgularda sırayla 9.5 ve 16.8 olarak bulunmuştur. En yüksek mitoz değeri olan olgu 3+, en yüksek PHH3 değeri olan olgu ise 2+ idi.



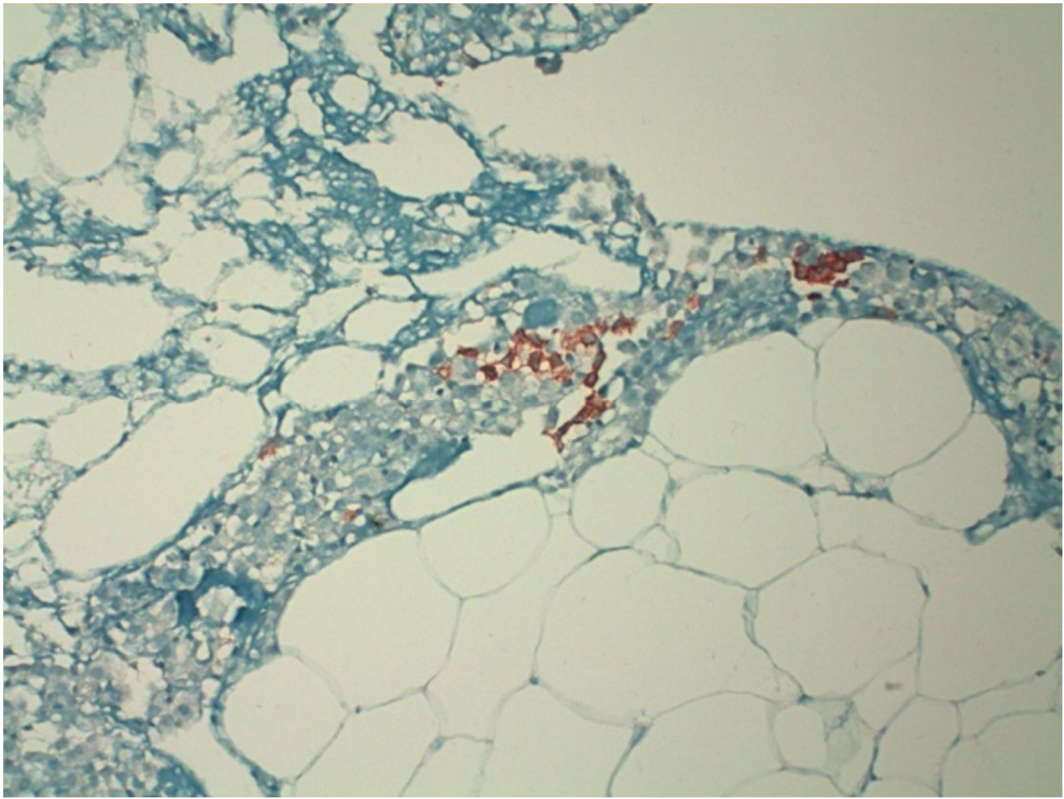
Şekil 22. Normal plevrada IMP3 negatifliği (x200, immünperoksidaz)



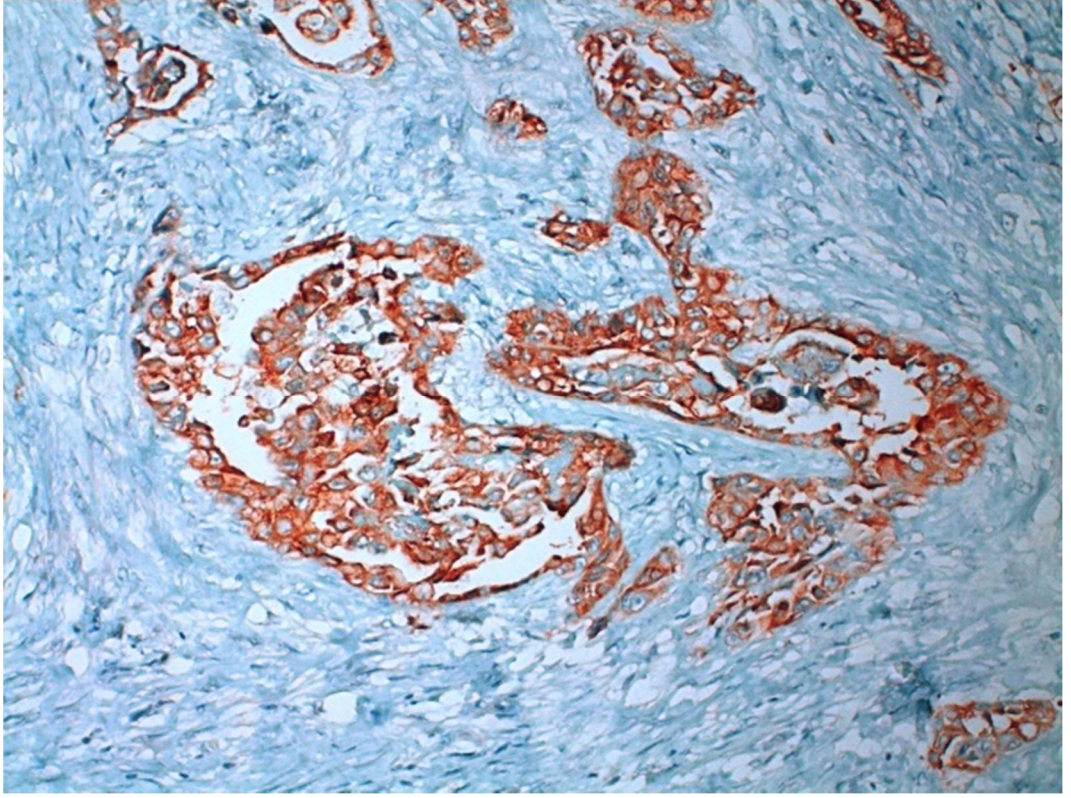
Şekil 23. Mezotelyal proliferasyonda IMP3 ile 3+ boyanma (x200, immünperoksidaz)



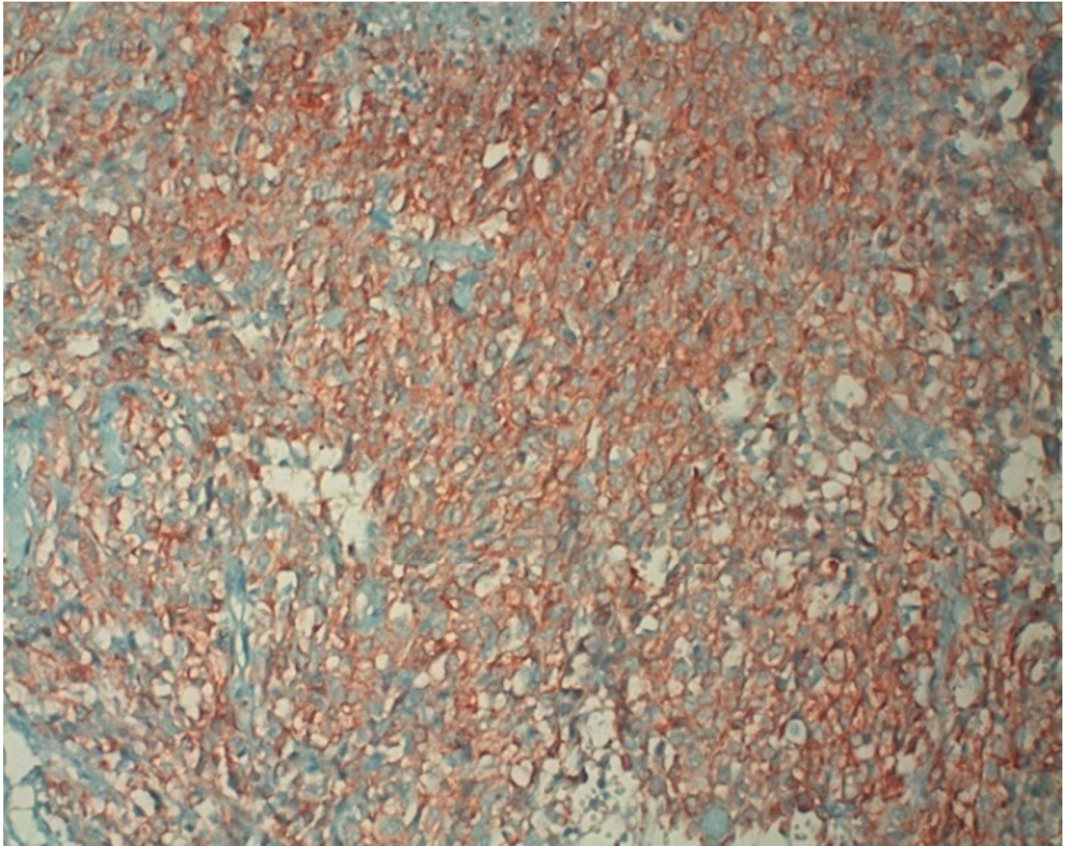
Şekil 24. Mezotelyal proliferasyonda IMP3 ile 2+ boyanma (x200, immünperoksidaz)



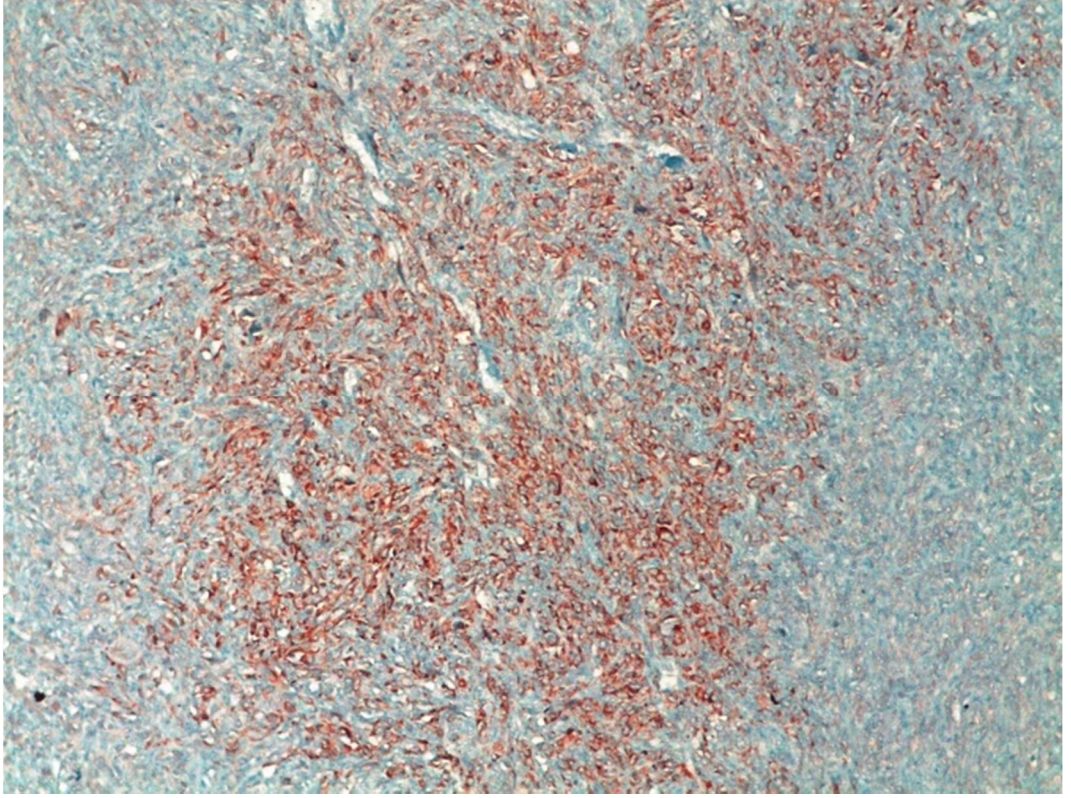
Şekil 25. Mezotelyal proliferasyonda IMP3 ile 1+ boyanma (x200, immünperoksidaz)



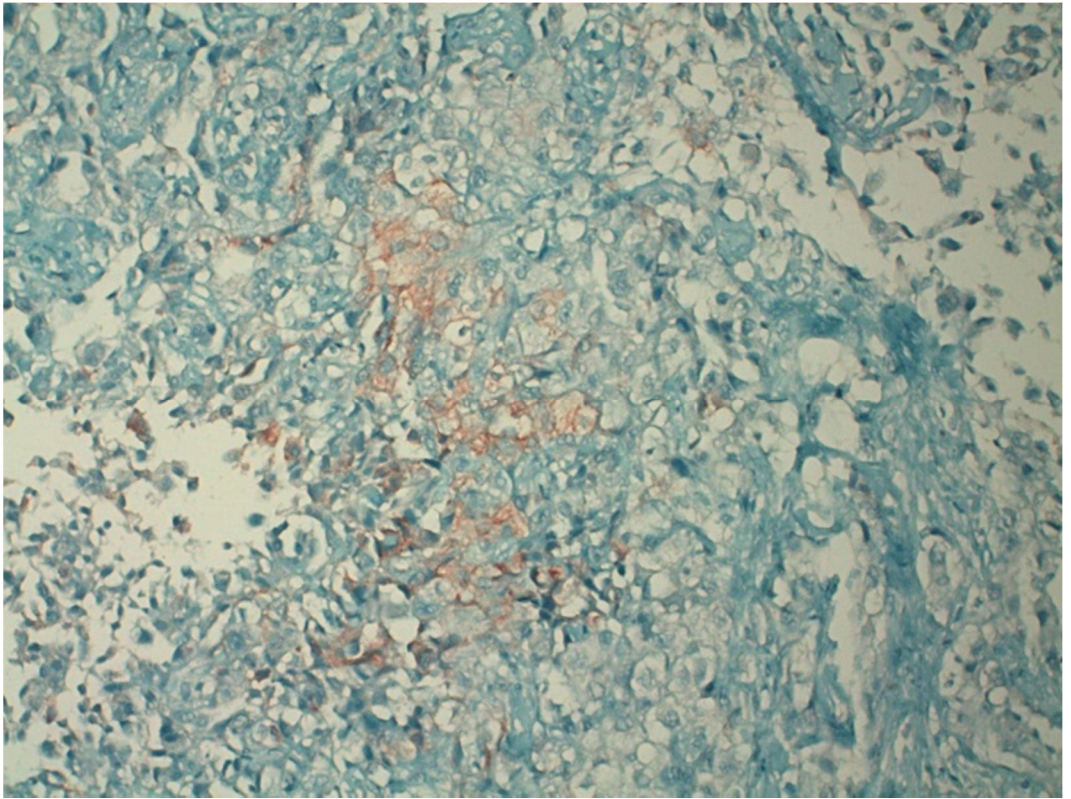
Şekil 26. Epitelioid mezotelyomada IMP3 ile 3+ boyanma (x200, immünperoksidaz)



Şekil 27. Sarkomatoid mezotelyomada IMP3 ile 3+ boyanma (x200, immünperoksidaz)



Şekil 28. Sarkomatoid mezotelyomada IMP3 ile 2+ boyanma (x200, immünperoksidaz)



Şekil 29. Epitelioid mezotelyomada IMP3 ile 1+ boyanma (x200, immünperoksidaz)

Tablo 8. Değerlendirilen parametrelerin gruplara göre dağılımı

Özellik		Normal plevra (n:10)	Mezotelyal Proliferasyon (n:30)	Malign Mezotelyoma (n:30)	Toplam (n:70)
Cinsiyet	Kadın	1 (%10)	14 (%46.7)	12 (%40)	27 (%38.6)
	Erkek	9 (%90)	16 (%53.3)	18 (%60)	43 (%61.4)
Yaş	En düşük	16	1	27	1
	En yüksek	75	88	78	88
	Ortalama	47.90	53.53	59.23	55.17
Mitoz	En yüksek	0	5	30	
	En düşük	0	0	0	
	Ortalama	0	0.76	6.60	
PHH3	En yüksek	0	10	45	
	En düşük	0	0	0	
	Ortalama	0	1.76	11.26	
P16	Pozitif	3(%30)	8(%22.67)	10(%33.33)	21
	Negatif	7(%70)	22(%73.33)	20(66.67)	49
IMP3	Toplam				
	pozitif	0	5	12	17
	1+	0	3	1	4
	2+	0	1	2	3
	3+	0	1	9	10
	Negatif	10	25	18	53
	Toplam	10 (%100)	30 (%100)	30 (%100)	70 (%100)

5.TARTIŞMA

Çoğu diffüz malign mezotelyoma rutin H&E ile tanınır veya güçlü şüphe duyulur (1-3). DMM tanısı histopatoloji, klinik ve radyolojik bulgular ile cerrahın izleniminin korele edilmesi temeline dayanır. DMM geniş bir histopatolojik paterne sahiptir ve bu nedenle potansiyel olarak diğer kanser tiplerini taklit edebilir ve tersi de doğrudur (4). Diğer kanser tiplerinin klinik, radyolojik ve gross bulguları DMM'yı taklit edebileceği için immunohistokimya sıklıkla MM veya diğer kanser tiplerini ayırmada ek destek olarak uygulanmaktadır (5,6). Diğer yandan benign reaktif mezotelyal proliferasyon ile DMM ayrımı serozal membran biyopsilerinde ara sıra olabilen ancak patologlarca iyi bilinen tanısal ikilem ve çıkmazdır. Aynı zamanda bunun hastalar için ciddi anlamı vardır. Malign mezotelyoma tanısı demek; hastalar için kaçınılmaz ölüm ve bazen RT ve/veya KT, radikal cerrahi ve/veya yeni tedaviler demektir ki bunların hepsi önemli morbiditeye sahiptir (7).

Reaktif mezotelyal hiperplaziye neden olan çok sayıda durum vardır ve bunlar kendi kendini sınırlayıcıdır veya kolay tedavi edilebilir. Bunlar; enfeksiyonlar, ilaç reaksiyonları, pulmoner infarkt, pnömotoraks, kollajen vasküler hastalıklar, cerrahi ve travma gibi durumlardır. Reaktif mezotelyal proliferasyonda; sellularite artışı, sitolojik atipi, mitoz, yapısal atipi (papiller yapılar, lümenler ve psödoinvazyon) gibi malignensiye benzer histolojik özellikler görülebilir. Çeşitli histolojik özellikler malignensiye destekler. Bunlar tümör nodülü, nekroz, tüm duvar kalınlığı boyunca sellularite artışı ve özellikle alttaki akciğer parankimi ve yağ dokuya tümör invazyonudur. Çoğu vakada; klinik, radyolojik ve gross bulgular tanıda yardımcıdır, ancak nadiren reaktif süreçler malignensiye çok benzeyebilir. Literatürde belirtildiği

gibi minimal invazyon gösteren çok erken DMM bazen klinik olarak MM şüphesi olmadığında insidental olarak veya tesadüfen cerrahi spesimenlerde bulunabilir (8). Diğer lezyonlar; hastada varlığı düşünülen ancak tanı için güvenilir kriter içermeyen; premalign veya preinvaziv mezotelyal neoplazmlar, mezotelyoma insitu dahil lezyonlardır ve bunların malignite için spesifik özelliklerin olmadığı yerden örneklenmiş olabileceği varsayılmaktadır (2,3).

Uluslararası Mezotelyoma Paneli bu kavramları ve bunların diagnostik kriterlerini araştırmaktadır ve bunun gibi malign/benign ayrımı yapılamayan durumlar için “atipik mezotelyal proliferasyon” terimini önermektedir (3).

Çoğu epitelioid mezotelyoma aldatici bir şekilde sakin ve monoton görünümüne sahiptir. Benzer şekilde desmoplastik mezotelyomayı fibröz plöritten ayırmak net sarkomatöz alanlar veya komşu yapılara invazyon yok ise zordur (78).

Fibröz plöritte yalancı yağ alanları olabilir ve bunlar çevresinde pankeratin ile horizontal oryante pozitif hücreler görülebilir. Uniform büyüme, plevranın uniform kalınlığı, yüzey atipisi yanında derinde matürasyon ve perpendiküler ince duvarlı damarlar reaktif fibröz plörit için tipiktir, tersine desmoplastik mezotelyomada disorganize büyüme paterni ve değişken kalınlık görülür. Yardımcı bir ipucu desmoplastik mezotelyomalarda değişik büyüklükte ekspansil nodül varlığıdır ve nodül ile çevre doku arasında sellülarite açısından sert bir geçiş vardır (69).

Benign–malign mezotelyal proliferasyonu ayırmak için öncelikle sürecin mezotelyal olduğunu ayırmak gerekir. İmmunohistokimya mezotelyal orijini seçebilir ancak benign/malign mezotelyal proliferasyonu ayırmada tam olarak güvenilir bir belirteç yoktur (78).

Mezotelyomada en sık genetik değişiklik 9p21 bölgesindeki CDKN2A, CDKN2B ve MTAP’den oluşan gen kümesinin homozigot delesyonudur (13-15).

Displazi içermeyen normal hücrelerde p16 proteini oldukça düşük seviyededir ve immunhistokimyasal olarak tespit edilemez (96). Yetişkinlerde normal proliferatif endometriumda, meme duktal epitelinde, serviksin tubal metaplazik epitelinde, özofageal skuamöz epitelde, tükürük bezinde ve antral gastrik bezlerde ekspresyonu

vardır. Ayrıca pankreasın Langerhans hücreleri, testisin Leydig ve Sertoli hücrelerinde de eksprese edilebilir. İnfantlarda timik Hassal korpusküllerinde sınırlıdır; nadiren pankreas epitel hücrelerinde görülür (97,98).

Çeşitli sitogenetik ve moleküler çalışmalar p16/CDKN2A delesyonunu primer mezotelyomaların %72'sinde bildirmişlerdir. Böylece, p16/CDKN2A delesyonunun FISH ile gösterilmesi sitolojik ve cerrahi spesimenlerde mezotelyoma tanısını doğrulamak için yardımcı ve uygulanabilir olabilecektir. Bu gözlem cerrahi patoloğlar için mezotelyal patolojideki tanısal ikilemleri çözmek için yeni bir yol açmıştır (16).

İmmunohistokimyasal çalışmalar ise malign mezotelyomalarda 9p21 homozigot delesyonunun p16 ekspresyon kaybı ile korele olduğunu bildirmişlerdir (99,100).

Bu çalışmada ise çalışmaya dahil edilen mezotelyomaların %66.67'sinde (20/30) P16 ekspresyon kaybı izlendi.

Wu D. ve ark. yaptıkları çalışmada FISH yöntemiyle %81.3 (39/48) MPM vakasında homozigot delesyon saptamıştır. Epitelioid mezotelyomalarda %55.6 (10/18), bifazik mezotelyomalarda oran %87.5 (7/8), sarkomatoid mezotelyomalarda %100 (22/22) homozigot delesyon saptanmıştır. Fibröz plöritlerde nukleusların %0-%7.4'ünde homozigot delesyon paterni görülmüştür. Bu sonuçlar ile p16 FISH analizinin MPM'larda tanıya rehberlik edecek ve hastaların tedavi kararında yararlı bir test olduğunu göstermişlerdir (101).

Mevcut çalışmada epitelioid mezotelyomaların %62.5'inde (15/24), sarkomatoid mezotelyomaların %100'ünde (4/4), bifazik mezotelyomaların %50'sinde (1/2) p16 ekspresyon kaybı görülmüş olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir ($p>0.05$).

Ayrıca primer plevral mezotelyomalarda histolojik subtip bağli olarak %80'e varan (sarkomatoid %90-%100, epitelioid ve mikst %70) p16/CDKN2A delesyonu ile ilgili çeşitli sitogenetik ve moleküler çalışmalar rapor edilmiştir (69,102).

Mevcut çalışmada; epitelioid tipte %62.5 (15/24), bifazik tipte %50 (1/2) p16 ekspresyon kaybı izlendi. Sarkomatoid tipte p16 ile boyanma olmadı. Ancak çalışmaya

dahil edilen sarkomatoid tip ve bifazik tip olgu sayısı az olduğu için daha fazla olgu ile çalışmalar yapılması gerekebilir.

Chung CT ve ark. yaptıkları çalışmada FISH yöntemi ile MPM'ların %43'ünde (23/54) homozigot p16/CDKN2A delesyonu saptamışlardır, %18 vakada ise hemizigot delesyon varlığını bildirmişlerdir (78). Homozigot delesyon yanında nokta mutasyonları ve DNA metilasyonu da aynı genetik lokusta daha az sıklıkla görülmektedir (69). P16 tüm normal hücrelerde bulunur, hücre siklusu için önemlidir ve kaybı malignite tanısında yardımcı olabilir. P16/CDKN2A homozigot delesyonunun sadece malign mezotelyomalarda ortaya çıktığı, nokta mutasyonlar ve DNA metilasyonunun ise benign mezotelyal hücrelerde ortaya çıkabileceği gösterilmiştir (69).

Illei ve ark. 32 plevral, perikardial ve peritoneal efüzyon sitoloji spesimeninde FISH yönetimini kullanarak yaptıkları çalışmada sitolojisi malign olan vakaların %85,7'sinde (6/7), sitolojisi şüpheli olan vakaların %100'ünde (6/6) homozigot delesyon saptamış; sitolojik olarak negatif olan vakalarda ise delesyon görülmemiştir (102). Diğer bir çalışmalarında 95 MPM olgusunun taze imprint materyallerine FISH uygulamış ve olguların %74'ünde (70/95) homozigot delesyon, %5'inde hemizigot delesyon bildirmişlerdir (14).

Daha sonra formalin fikse parafine gömülü dokularda ve doku mikroarray yöntemiyle elde edilen dokularda yapılan çalışmada FISH ile %67 (35/52) MPM olgusunda, %25 (5/20) peritoneal mezotelyoma olgusunda ve %0 plöritte p16/CDKN2A homozigot delesyonu bildirilmiştir. MM'larda subtipler arasında fark bulunmamıştır. Aynı çalışmada İHK ile plevral mezotelyomada %38.46, peritoneal mezotelyomada %70, plöritte ise %15 ekspresyon kaybı rapor etmişlerdir. Çalışmada İHK ile FISH çok az oranda korele bulunmuştur (99).

Mevcut çalışmada; normal plevra dokularının 7/10'unda (%70) p16 ile negatif sonuç elde edilmiş olup RMH'lerin 22/30'unda (%73.33) p16 ile ekspresyon izlenmemiştir. MM'larda 20/30 olguda (%66.67) p16 ekspresyonunun kaybı görülmüştür ve homozigot delesyon varlığına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Normal doku ve RMH'lerdeki negatifliğin ise normal dokulardaki p16 proteininin çok düşük seviyede olması ve immunhistokimyasal olarak tespit edilemeyeceğine bağlı olabileceği düşünüldü (96).

Bu çalışmada p16 ile MM'larda %66.67 ekspresyon kaybı ve RMH'lerde %73.33 olguda negatif sonuç elde edilmesi istatistiksel olarak benign/malign proliferasyon ayırımında anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çok sayıda çalışma immunohistokimyasal PHH3 seviyesi ile H&E boyalı kesitlerde sayılan mitoz sayısı arasında güçlü korelasyon olduğunu göstermişlerdir (93,94).

Hasteh F. ve ark. hücre bloğunda 52 MM ve 64 reaktif mezotelyal proliferasyon olgusuna uyguladıkları Ki67 immunohistokimyasal boyamasında; reaktif mezotelyal proliferasyonların %9'unda (6/64), MM'ların %16'sında (8/49) %40'ın üzerinde mezotelyal hücrede güçlü nükleer pozitiflik elde etmişlerdir ($p=.38$). Bu çalışmada; Ki67 proliferatif indeksi açısından MM ile RMH olguları arasında önemli fark olmadığı gösterilmiştir (20).

Schönherr A. ve ark. yaptıkları çalışmada 20 MM, 20 non-neoplastik nedenli plevral efüzyonda Ki67'nin neoplastik mezotelyoma hücrelerini seçmekte yardımcı olup olmadığını ve proliferasyon oranı ile sağ kalım arasında ilişki varlığı açısından araştırmıştır. Ki67 proliferasyonu MM hücrelerinde %2.3-%70 arasında görülürken; reaktif mezotelyal hücrelerin %1.8-%25.5'inde görüldü. Bu iki grup arasında önemli fark ($p=0.05$) bulundu. Eşik değeri olarak %26 varsayıldığında sensitivite %25 ve spesifite %100 olarak bulunmuştu. Yine de bu marker; sensitivitesi düşük olduğu için ayırıcı tanıda yararlı bulunmamıştır (21).

Taheri ZM. ve ark.'nın yaptıkları çalışmada malign mezotelyoma ile benign reaktif hiperplazi olgularına proliferasyon belirteçleri olan Ki-S2 (repp86) ve Ki-S5 (Ki67) uygulanmış ve Ki67 için MM'larda ortalama %24,6 (%1-%66) ve benign reaktif hiperplazilerde ortalama %6.23 (%0-%25) sonuç elde edilmiştir. repp86 için ise MM ve benign reaktif hiperplazide sırayla %26.3 (%0-%50) ve %3.26 (%0-%21) sonuç elde edilmiştir. Ortalama proliferatif hücre sayısı reaktif mezotelyal hiperplazilerle kıyaslandığında MM'larda önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ($P<0.0001$). Ki-67 ve repp86 için eşik değeri %9 olduğunda sensitivite sırayla %88 ve %92, spesifiteleri %92 ve %94 olarak elde edilmiştir. Sonuçta Ki67 ve repp86'nın kombine kullanımı MM ile benign RMH'yi ayırmada yararlı olduğunu bildirmişlerdir (22).

Bu çalışmada mezotelyal proliferasyonlarda ortalama mitoz sayısı 0,73/10 BBA ve ortalama PHH3 sayısı 1,7/10 BBA olarak bulundu. MM'larda ise ortalama mitoz sayısı 6,6/10 BBA, ortalama PHH3 sayısı ise 11,26/10 BBA idi. Sonuçta mitoz ve PHH3 değerleri MM ile RMH ayırımında yardımcı bir yöntem olabilir. Özellikle yüksek mitoz (>5/10 BBA) ve yüksek PHH3 (>10/10 BBA) değerlerinde spesifite %100'e kadar çıkmaktadır.

Çalışmada ayrıca ortalama en yüksek mitoz ve PHH3 değerleri (sırayla 15.25 ve 20.75) sarkomatoid tipte, en düşük (sırayla 4.71 ve 9.71) epitelioid tipte görülmüştür.

Çakır C. ve ark. yaptıkları çalışmada 66 MM ve 22 benign mezotelyal lezyona uyguladıkları Ki67 ile proliferatif aktivite ve hTERT ile telomeraz aktivitesini değerlendirmişlerdir. Ki67 proliferasyon indeksi ortalama değeri MM'larda benign mezotelyal lezyonlardan daha yüksek bulunmuştur. Bifazik tipte daha yüksek Ki67 değerleri elde etmişlerdir. Ki67; MM tanısında %74 sensitivite, %86 spesifite, ve %94 pozitif prediktif değere sahiptir. Sonuçta proliferatif belirteç olan Ki67 malign ve benign mezotelyal lezyon ayırımında kullanılabileceğini göstermişlerdir (103).

Bossard C ve ark. meme adenokarsinomlarında mitoz sayısının histopatolojik derecelemede önemli olması nedeniyle mitoz sayısını belirlemede güvenilir bir antikor olduğunu araştırmak için yaptıkları çalışmada 39 meme kanserli olgu PHH3 boyaması ile incelenmiş, meme kansinomlarında PHH3 ile mitoz sayısı arasında güçlü korelasyon olduğu bildirmişlerdir (93). Bu çalışmada mitoz sayısı ile PHH3 sayısı; RMH ve MM olgularında ayrı ayrı ve tüm olgularda, birbiri ile uyumluluk açısından karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.000).

Michel RN ve ark. yaptıkları çalışmada malign melanom ile benign melanositik lezyon ayırımında PHH3 İHK boyamasını malign melanom, spitz nevus, displastik nevus ve compound nevuste çalışmışlar ve PHH3'ün mitozu belirlemede yararlı olduğunu göstermişlerdir (95).

Ribalta T ve ark. meningiomlarda mitotik figürleri daha hızlı tespit etmek ve güvenilir bir şekilde dereceleme için yaptıkları çalışmada PHH3'ün yararlılığını test etmişlerdir. 54 meningiom vakasına (26 benign, 20 atipik, 8 anaplastik) İHK'sal PHH3 boyaması uygulanmış ve aynı dokularda H&E kesitlerde mitoz sayılmıştır. PHH3 boyalı

dokularda mitotik figürler kolayca seçilmiş ve en yüksek mitotik figür bulunan alanlar hızlıca tespit edilmiştir. Ortalama mitoz sayıları bu iki yöntem arasında güçlü bir korelasyon göstermiştir. Sonuçta PHH3 boyamasının; meningiomların derecelemesini hızlı ve güvenilir bir şekilde kolaylaştırdığını ve mitotik olarak aktif alanlara dikkatli odaklanmayı sağladığını bildirmişlerdir (94).

Bu çalışmada önce H&E kesitlerde mitoz sayılmış, daha sonra PHH3 boyaması aynı dokularda değerlendirilmiştir. Bulunan sonuçların istatistiksel olarak çok anlamsız çıkması üzerinde PHH3 boyalı kesitler ve H&E boyalı kesitler tekrar değerlendirilmiş ve PHH3'ün en yüksek olduğu alanlarda mitoz sayısı belirlenmiş ve PHH3 ile mitoz arasında güçlü korelasyon elde edilmiştir. Bu da göstermiştir ki; PHH3 dokuda mitozun en yüksek olduğu alanları daha doğru bir şekilde değerlendirmede son derece önemlidir.

Üçer Ö. ve ark. MM, RMH ve akciğer adenokarsinomu olgularında yaptıkları çalışmada IMP3'ün adenokarsinom ile MM arasında ayırım yapamayacağını ancak RMH ile MM ayırımında yardımcı olabileceğini göstermişlerdir (83).

Hanley KZ. ve ark. plevral, peritoneal ve perikardial seröz efüzyon sitolojisi hücre blokları üzerinde yaptıkları çalışmada malign sitolojilerin 47/60'ında IMP3 pozitif bulmuşlar ve efüzyon sitolojilerinde malign hücreleri reaktif mezotel hücrelerinden ayırmada IMP3'ün önemli bir değere sahip olduğunu göstermişlerdir (84).

Ikeda K. ve ark. efüzyon sitolojileri üzerinde yaptıkları çalışmada malignensi için IMP3'ün spesifitesini %94, sensitivitesini %72,6 olarak bildirmişler ve reaktif mezotelyal hücreleri neoplastik hücrelerden ayırmada yararlı olabileceğini göstermişlerdir (82).

Lee AF. ve ark. yaptıkları çalışmada MM ve RMH'lerde IMP3 boyamış ve MM'ların %53'ünde, RMH'lerin ise %27'sinde pozitiflik elde ederek IMP3 ekspresyonunun MM'larda RMH'lerden daha yüksek pozitif olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada epitelioid tipte %53, sarkomatoid tipte %50 pozitif sonuç elde etmişlerdir (19). Shi M. ve ark. yaptıkları çalışmada MM'ların %73'ünde, RMH'lerin %0'ında IMP3 ile ekspresyon bildirmişlerdir. Bu çalışmada epitelioid mezotelyomaların %81'inde, sarkomatoid mezotelyomaların %100'ünde, bifazik mezotelyomaların %75'inde pozitif

reaksiyon elde etmişlerdir. Bu çalışma ile IMP3'ün MM'da yeni bir pozitif biomarker olduğu ve RMH ile MM ayrımında yardımcı bir yöntem olabileceği gösterilmiştir (18).

Mevcut çalışmada; MM olgularının %40 (12/30), RMH olgularının %16.7'sinde (5/30) IMP3 ile pozitif sonuç elde edildi ve MM ile RMH ayrımında yararlı bir belirteç olabileceği gösterildi. Bu çalışmada epitelioid tipte %37.5 (9/24), sarkomatoid tipte %75 (3/4) pozitif sonuç elde edildi.

Bu çalışmada; MM'larda sırayla 6.6 ve 11.26 olan mitoz ve PHH3 değerleri, IMP3 ile pozitif olan olgularda sırayla 9.5 ve 16.8 olarak bulunmuş ve IMP3 pozitif olan vakalarda proliferasyon yüksekliği nedeniyle kötü prognoz olabileceği düşünülmüştür.

Chang S. ve ark. MM, RMH ve adenomatoid tümörlerde yaptıkları çalışmada IMP3'ün tek başına kullanıldığında sensitivitesini %37 olarak bulmuşlardır. Sonuçta IMP3'ün EMA ile kombinasyonunun tek başına kullanmaktan daha yararlı olduğunu bildirmişlerdir (104). Minato H. ve ark. MM ve RMH olgularına uyguladıkları IMP3, GLUT1, EMA ve CD146 immunohistokimyasal boyama sonucunda IMP3 için sensitivite %94, spesifite %78 olarak bulunmuş, IMP3 ile GLUT1 kombinasyonunun RMH ve MM ayrımında en uygun olduğu gösterilmiştir (105).

Bu çalışmada P16 ve IMP3 immunohistokimyasal boyamaları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Sonuçta bu çalışma göstermiştir ki; bir proliferasyon belirteci olan PHH3; RMH ile MM ayrımında, özellikle yüksek değerlerde yardımcı bir yöntem olarak kullanılabilir. Ayrıca IMP3 de RMH ile MM ayrımında yararlı bulunmuştur ve sorunlu olgularda ayırıcı tanıda yardımcı olabilir. P16'nın immunohistokimyasal olarak kaybının değerlendirilmesi bu ayrımında yardımcı değildir.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada 30 malign mezotelyoma, 30 mezotelyal proliferasyon, 10 plevra dokusuna p16, PHH3 ve IMP3 immunohistokimyasal boyaması uygulandı ve Hematoksilen&Eozin kesitlerde 10 büyük büyütme sahasında mitoz sayıldı. Parametreler gruplar arasında farklılık açısından değerlendirildi.

1. Malign mezotelyoma ileri yaşta görülmektedir.
2. Malign mezotelyoma daha çok erkeklerde görülmektedir.
3. Malign mezotelyomada en sık görülen tip epitelioid tiptir.
4. Mitoz ve PHH3 ile belirlenen proliferatif aktivite değerlendirilmesi malign mezotelyoma ile reaktif mezotelyal proliferasyon ayrımında yardımcıdır. Özellikle eğer var ise yüksek değerlerde daha değerli bir bulgudur.
5. Mitoz ile PHH3 immunohistokimyasal boyaması sonucu elde edilen değerler birbiri ile korelasyon göstermektedir ve PHH3 mitoz sayılması gereken durumlarda mitozu göstermektedir ve dokuda en aktif alanı daha kolay ve doğru bir şekilde bulmaya yardımcıdır.
6. Sarkomatoid tipte ortalama mitoz sayısı ve ortalama PHH3 değerleri daha yüksektir.
7. p16 immunohistokimyasal boyaması malign mezotelyoma ile reaktif mezotelyal hiperplazi ayrımında yardımcı bir yöntem değildir.

8. p16 boyaması normal plevra dokusunda, malign mezotelyomada ve mezotelyal proliferasyonda birbirine yakın oranda negatif sonuç vermiştir.
9. Sarkomatoid tipte p16 ekspresyon kaybı diğer alt tiplere göre daha yüksek orandadır.
10. IMP3 malign mezotelyoma ile benign mezotelyal proliferasyon ayırımında yardımcı bir yöntemdir.
11. IMP3 pozitif iken p16 negatifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamamıştır.
12. IMP3 pozitif olan dokularda ortalama mitoz ve PHH3 değerleri daha yüksektir.

KAYNAKLAR

1. Churg A, Roggli V, Galateau-Salle F, et al. Tumours of the pleura: mesothelial tumours. In: Travis WD, Brambilla E, Harris CC, Muller-Hermelink HK (eds). World Health Organization Classification of Tumours, Pathology and Genetics: Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. IARC: Lyon, 2004, pp 128–136.
2. Galateau-Salle F, Brambilla E, Cagle PT. Classification and histologic features of mesothelioma. In: Galateau-Salle F (ed). Pathology of Malignant Mesothelioma. London, United Kingdom: Springer-Verlag; 2006: 68–131.
3. Churg A, Cagle PT, Roggli VL. Tumors of the Serosal Membranes. Atlas of Tumor Pathology Fascicle. ARP Press: Silver Spring, MD, 2006.
4. Allen TC. Recognition of histopathologic patterns of diffuse malignant mesothelioma in differential diagnosis of pleural biopsies. Arch Pathol Lab Med 2005;129:1415-1420.
5. Granville LA, Younes M, Churg A, et al. Comparison of monoclonal vs polyclonal calretinin antibodies for immunohistochemical diagnosis of malignant mesothelioma. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2005;13:75–79.
6. Butnor KJ, Nicholson AG, Allred DC, et al. Expression of renal cell carcinoma-associated markers erythropoietin, CD10 and renal cell carcinoma marker in diffuse malignant mesothelioma and metastatic renal cell carcinoma. Arch Pathol Lab Med 2006;130:823–827.
7. Cagle PT, Churg A. Differential diagnosis of benign and malignant mesothelial proliferations on pleural biopsies. Arch Pathol Lab Med 2005;129:1421–1427.
8. Kerrigan SA, Cagle PT, Churg A. Malignant mesothelioma of the peritoneum presenting as an inflammatory lesion: a report of four cases. Am J Surg Pathol 2003;27:248–253.

9. Cagle PT, Brown RW, Lebovitz RM. p53 immunostaining in the differentiation of reactive processes from malignancy in pleural biopsy specimens. *Hum Pathol* 1994;25:443–448.
10. Kato Y, Tsuta K, Seki K, et al. Immunohistochemical detection of GLUT-1 can discriminate between reactive mesothelium and malignant mesothelioma. *Mod Pathol* 2007;20:215–220.
11. 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.
12. King J, Thatcher N, Pickering C, et al. Sensitivity and specificity of immunohistochemical antibodies used to distinguish between benign and malignant pleural disease: a systematic review of published reports. *Histopathology*. 2006;49:561-568.
13. Musti M, Kettunen E, Dragonieri S, et al. Cytogenetic and molecular genetic changes in malignant mesothelioma. *Cancer Genet Cytogenet* 2006;170:9–15.
14. Illei PB, Rusch VW, Zakowski MF, et al. Homozygous deletion of CDKN2A and codeletion of the methylthioadenosine phosphorylase gene in the majority of pleural mesotheliomas. *Clin Cancer Res* 2003;9:2108–2113.
15. Lopez-Rios F, Chuai S, Flores R, et al. Global gene expression profiling of pleural mesotheliomas: overexpression of aurora kinases and p16/CDKN2A deletion as prognostic factors and critical evaluation of microarray-based prognostic prediction. *Cancer Res* 2006;66:2970–2979.
16. Prins JB, Williamson KA, Kamp MM, et al. The gene for the cyclin-dependent-kinase-4 inhibitor, CDKN2A, is preferentially deleted in malignant mesothelioma. *Int J Cancer* 1998;75:649–653.

17. Zheng W, Yi X, Fadare O, et al. The oncofetal protein IMP3: a novel biomarker for endometrial serous carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2008;32:304-15.
18. Shi M, Fraire AE, Chu P, et al. Oncofetal protein IMP3, a new diagnostic biomarker to distinguish malignant mesothelioma from reactive mesothelial proliferation. *Am J Surg Pathol*. 2011;35:878-82.
19. Lee AF, Gown AM, Churg A. IMP3 and GLUT-1 immunohistochemistry for distinguishing benign from malignant mesothelial proliferations. *Am J Surg Pathol*. 2013;37:421-6.
20. Hasteh F, Lin GY, Weidner N, et al. The use of immunohistochemistry to distinguish reactive mesothelial cells from malignant mesothelioma in cytologic effusions. *Cancer Cytopathol*. 2010;118:90-6.
21. Schönherr A, Bayer M, Böcking A. Diagnostic and prognostic value of Ki67 proliferation fraction in serous effusions. *Cell Oncol*. 2004;26:57-62.
22. Taheri ZM, Mehrafza M, Mohammadi F, et al. The diagnostic value of Ki-67 and repp86 in distinguishing between benign and malignant mesothelial proliferations. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132:694-7.
23. Lee KF Olak J. Anatomy and physiology of the pleural space. *Chest Surg Clin N Am* 1994;4:391-403
24. Finley DJ, Rusch VW. Anatomy of the pleura. *Thorac Surg Clin*. 2011;21:157-63.
25. Bernaudin JF, Fleury-Feith J. Structure and physiology of the pleura and the pleural space. *Rev Pneumol Clin* 2006;62:73-77
26. Wang NS. Anatomy of the pleura. *Clin Chest Med* 1998;19:229-40.
27. Yılmaz N. Plevranın anatomi ve histolojisi. *Plevra hastalıkları özel sayı, Solunum* 2002;4:73-75.
28. Robinson BWS, Musk AW, Lake RA. Malignant mesothelioma. *Lancet* 2005;366:397-08.

29. Tüberküloz ve Toraks Dergisi 2003;51:310-319.
30. Wagner JC, Sleggs CA, Marchand P. Diffuse pleural mesothelioma and asbestos exposure in the North Western Cape Province. *Brit J Indust Med* 1960;17:260-71.
31. Aisner J. Current approach to malignant mesothelioma of the pleura. *Chest* 1995;107:332-44.
32. Larson T, Melnikova N, Davis S, et al. Incidence and descriptive epidemiology of mesothelioma in the United States, 1999-2002. *Int J Occup Environ Health* 2007;13:398-403.
33. Selçuk ZT, Coplu I, Emri S, et al. Malignant pleural mesothelioma due to environmental mineral fiber exposure in Turkey. Analysis of 135 cases. *Chest* 1992;102:790-6.
34. Şenyigit A, Bayram H, Babayigit C. Malignant pleural mesothelioma caused by environmental exposure to asbestos in the southeast of Turkey: CT findings in 117 patients. *Respiration* 2000;67:615-22.
35. Metintaş S, Metintaş M, Ucgun I, et al. Malignant mesothelioma due to environmental exposure to asbestos: follow-up of a Turkish cohort living in a rural area. *Chest* 2002;122:2224-9.
36. TC Sağlık Bakanlığı Kanserele Savas Dairesi Başkanlığı Ulusal Mezotelyoma Kurulu internet sitesi. <http://www.mesothelioma-tr.org/saglik/meztanim.php> erişim tarihi; 02.04.2015
37. Azzoli CG, Baker S Jr, Temin S, et al. American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline update on chemotherapy for stage IV non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27:6251-66.
38. Robinson BM. Malignant pleural mesothelioma: an epidemiological perspective. *Ann Cardiothorac Surg* 2012;1:491-96.

39. Delgermaa V, Takahashi K, Park EK, et al. Global mesothelioma deaths reported to the World Health Organization between 1994 and 2008. *Bull World Health Organ* 2011;89:716-24.
40. Bianchi C, Bianchi T. Malignant mesothelioma: global incidence and relationship with asbestos. *Ind Health* 2007;45:379-87.
41. Stermann DH, Albelda SM. Advances in the diagnosis, evaluation and management of malignant pleural mesothelioma. *Respirology* 2005;10:266-83.
42. Najib MR, Nabeel JA, Gail Brown, et al. Local anaesthetic thoracoscopy: British Thoracic Society Pleural Disease Guideline 2010. *Thorax* 2010;65:54-60.
43. Metintaş M, Hillerdal G, Metintaş S: Malignant mesothelioma due to environmental exposure to erionite: follow-up of a Turkish emigrant cohort. *Eur Respir J* 1999;13:523-26.
44. 12. Eser S, Olcayto E, Karakılınç H. Ve ark. Sağlık Bakanlığı Kanserele Savaş Dairesi Başkanlığı (Epidemiyoloji ve Koruma Sube Müdürlüğü). Nüfus tabanlı kanser kayıt merkezleri veri havuzu: sekiz il, 2004-2006 değerlendirilmesi. 31 <http://www.kanser.gov.tr/folders/file/8iL-2006-SON.pdf>-erisim tarihi 03.01.2015).
45. Antmann KH. Natural history and epidemiology of malignant mesothelioma. *Chest* 1993;103:373-6.
46. De Klerk NH, Musk AW, Williams V, et al. Comparison of measures of exposure to asbestos in former crocidolite workers from Wittenoom Gorge, W. Australia. *Am J Ind Med* 1996;30:579-87.
47. Hodgson JT, Darnton A. The quantitative risks of mesothelioma and lung cancer in relation to asbestos exposure. *Ann Occup Hyg* 2000;44:565-601.
48. Bielefeldt OH, Jarnick AG, Fitzpatrick DR. Molecular pathobiology and immunology of malignant mesothelioma. *J Pathol* 1996;178:369-78.

49. Metintaş M, Özdemir N, Solak M, et al. Chromosome analysis in pleural effusions. *Respiration* 1994;61:330-5.
50. Manning CB, Cummins AB, Jung MW, et al. A mutant epidermal growth factor receptor targeted to lung epithelium inhibits asbestos-induced proliferation and proto-oncogene expression. *Cancer Res* 2002;62:4169-75.
51. Craighead JE, Kane AB. The pathogenesis of malignant and nonmalignant serosal lesions in body cavities consequent to asbestos exposure. Jauren MC, Bignon J, eds. *Mesothelial cell and mesothelioma*. New York: Marcel Dekker, 1994:79-101.
52. Barış B, Demir AU, Shehu V, et al. Environmental fibrous zeolite (erionite) exposure and malignant tumors other than mesothelioma. *J Environ Path Tox Oncol* 1996;15:183-9.
53. Baris Y, Sahin A, Özesini M, et al. An outbreak of pleural mesothelioma and erionite fibrosing pleurisy in the Village of Karain Urgup in Anatolia, *Thorax* 1978;33:181-92.
54. Hubbard R. The aetiology of mesothelioma: are risk factors other than asbestos exposure important *Thorax* 1997;52:496-7.
55. Vilchez RA, Kozinetz CA, Arrington AS, et al. Simian virus 40 in human cancers. *Am J Med* 2003;114:675-684.
56. Carbone M, Rizzo P, Grimley PM, et al. Simian virus 40-like DNA sequences in human pleural mesothelioma. *Oncogene* 1994;9:1781-1790.
57. Cicala C, Pompetti F, Carbone M. SV40 induces mesotheliomas in hamsters. *Am J Pathol* 1993;142:1524-1533.
58. Tward JD, Wendland MM, Shrieve DC, et al. The risk of secondary malignancies over 30 years after the treatment of non-hodgkin lymphoma. *Cancer* 2006;107:108.
59. Learman Y, Schachter P, Herceg H, et al. Radiation associated malignant pleural mesothelioma. *Thorax* 1991;46:463-4.

60. Gülmez I, Kart L, Balkanlı S, et al. Evaluation of malignant mesothelioma in central Anatolia: a study of 67 cases. *Can Respir J* 2004;11:287-290.
61. Light RW: Tumors of the pleura. *Textbook of Respiratory Medicine* (2nd ed). In: Murray JF, Nadel JA (eds) Philadelphia, W.B Saunders Company 1994;2222-35.
62. Carbone M, Kratzke RA, Testa JR. The pathogenesis of mesothelioma. *Semin Oncol*. 2002;29:2-17.
63. Boutin C, Dumortier P, Rey F, et al. Black spots concentrate oncogenic asbestos fibers in the parietal pleura. Thoracoscopic and mineralogic study. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:444-49.
64. Tanaka S, Choe N, Hemenway DR, et al. Asbestos inhalation induces reactive nitrogen species and nitrotyrosine formation in the lungs and pleura of the rat. *J Clin Invest*. 1998;102:445-54.
65. Yang H, Rivera Z, Jube S, et al. Programmed necrosis induced by asbestos in human mesothelial cells causes high-mobility group box 1 protein release and resultant inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:12611-6.
66. Quelle DE, Zindy F, Ashmun RA, et al. Alternative reading frames of the INK4A tumor-suppressor gene encode 2 unrelated proteins capable of inducing cell-cycle arrest. *Cell*. 1995;83:993-1000.
67. Illei PB, Rusch VW, Zakowski MF, Ladanyi M. Homozygous deletion of CDKN2A and codeletion of the methylthioadenosine phosphorylase gene in the majority of pleural mesotheliomas. *Clin Cancer Res*. 2003;9:2108-13.
68. Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science*. 1994;264:436-440.
69. Husain AN, Colby T, Ordonez N, et al. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma: 2012 update of the consensus statement from the International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137:647-67.

70. Henderson DW, Rödelsperger K, Woitowitz HJ, et al. After Helsinki: a multidisciplinary review of the relationship between asbestos exposure and Lung cancer, with emphasis on studies published during 1997-2004. *Pathology* 2004;36:517-50.
71. Chirieac LR, Pinkus GS, Pinkus JL, et al. The immunohistochemical characterization of sarcomatoid malignant mesothelioma of the pleura. *Am J Cancer Res.* 2011;1:14-24.
72. Galateau-Salle F, Cagle PT. Nonmalignant Versus Malignant Proliferations on Pleural Biopsy. In: Cagle PT, Allen CT (eds), *Diagnostic pulmonary pathology* (2nd ed) New York, 2008, pp. 575-85.
73. Galateau-Salle F, Vignaud JM, Burke L, et al. Well-differentiated mesothelioma of the pleura: a series of 24 cases. *Am J Surg Pathol* 2004;28:534-540.
74. Wolanski KD, Whitaker D, Shilkin KB, et al. 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;82:583-589.
75. Lagana SR, Taub RN, Borczuk AC. Utility of glucose transporter 1 in the distinction of benign and malignant thoracic and abdominal mesothelial lesions. *Arch Pathol Lab Med.* 2012;136:804-809
76. Hirama T, Koeffler HP. Role of the cyclin dependent kinase inhibitors in the development of cancer. *Blood.*1995;86:841-54.
77. Dabbs D, *Diagnostic immunohistochemistry; Theranostic and genomic applications*, Saunders elsevier, 2010;Chapter 15.
78. Chung CT, Santos GC, Hwang DM, et al. FISH assay development for the detection of p16/CDKN2A deletion in malignant pleural mesothelioma. *J Clin Pathol.* 2010;63:630-4.
79. Robins ve Cotran, *Hastalığın Patolojik Temeli*, Güneş Tıp Kitabevi, 2009;269-293.

80. Kiledjian M, Wang X, Liebhaber SA. Identification of two KH domain proteins in the alpha-globin mRNA stability complex. *EMBO J.* 1995;14:4357-64.
81. Müller-Pillasch F, Lacher U, Wallrapp C, et al. Cloning of a gene highly overexpressed in cancer coding for a novel KH-domain containing protein. *Oncogene.* 1997;14:2729-33.
82. Ikeda K, Tate G, Suzuki T, et al. IMP3/L523S, a novel immunocytochemical marker that distinguishes benign and malignant cells: the expression profiles of IMP3/L523S in effusion cytology. *Hum Pathol.* 2010;41:745-50.
83. Üçer Ö, Dağlı AF, Kiliçarslan A, Artaş G. Reaktif Mezotel Hiperplazisi, Malign Mezotelyoma ve Akciğer Adenokarsinomu Ayırıcı Tanısında Glut-1 ve Koc'un Yeri. *Türk Patoloji Derg.* 2013;29:94-100.
84. Hanley KZ, Facik MS, Bourne PA, et al. Utility of anti-L523S antibody in the diagnosis of benign and malignant serous effusions. *Cancer.* 2008;114:49-56.
85. Istvanic S, Fanger GR, Fraire AE, et al. Spectrum of KOC (K homology domain containing protein overexpressed in cancer) immunostaining among carcinomas of different sites. *Mod Pathol.* 2005;18:298-299
86. Tetzlaff MT, Curry JL, Ivan D, et al. Immunodetection of phosphohistone H3 as a surrogate of mitotic figure count and clinical outcome in cutaneous melanoma. *Mod Pathol.* 2013;26:1153-60.
87. Perez-Cadahia B, Drohic B, Davie JR. H3 phosphorylation: dual role in mitosis and interphase. *Biochem Cell Biol* 2009;87:695–709.
88. Nowak M, Svensson MA, Carlsson J, et al. Prognostic significance of phosphohistone H3 in prostate carcinoma. *World J Urol.* 2014;32:703-7.
89. Shibata K, Inagaki M, Ajiro K. Mitosis-specific histone H3 phosphorylation in vitro in nucleosome structures. *Eur J Biochem.* 1990;192:87-93.
90. Sun A, Zhou W, Lunceford J, et al. Level of phosphohistone H3 among various types of human cancers. *BMJ Open.* 2012;12:2(5).

91. Hendzel MJ, Wei Y, Mancini MA, et al. Mitosis-specific phosphorylation of histone H3 initiates primarily within pericentromeric heterochromatin during G2 and spreads in an ordered fashion coincident with mitotic chromosome condensation. *Chromosoma*. 1997;106:348-60.
92. Voss SM, Riley MP, Lokhandwala PM, et al. Mitotic count by phosphohistone H3 immunohistochemical staining predicts survival and improves interobserver reproducibility in well-differentiated neuroendocrine tumors of the pancreas. *Am J Surg Pathol*. 2015;39:13-24.
93. Bossard C, Jarry A, Colombeix C, et al. Phosphohistone H3 labelling for histoprostic grading of breast adenocarcinomas and computer-assisted determination of mitotic index. *J Clin Pathol*. 2006;59:706-10.
94. Ribalta T, McCutcheon IE, Aldape KD, et al. The mitosis-specific antibody anti-phosphohistone-H3 (PHH3) facilitates rapid reliable grading of meningiomas according to WHO 2000 criteria. *Am J Surg Pathol*. 2004;28:1532-6.
95. Nasr MR, El-Zammar O. Comparison of pHH3, Ki-67 and survivin immunoreactivity in benign and malignant melanocytic lesions. *Am J Dermatopathol*. 2008;30:117-22.
96. Carozzi F, Cecchini S, Confortini M, et al. Role of P16(INK4a) expression in identifying CIN II or more severe lesions among HPV-positive patients referred for colposcopy after abnormal cytology. *Cancer* 2006 ;108:119-23.
97. O'Neill JC, Mc Cluggage WG. p16 Expression in the female genital tract and its value in diagnosis. *Adv Anat Pathol* 2006; 13:8-15.
98. Dray M, Russell P, Dalrymple C, et al. p16(INK4a) as a complementary marker of high-grade intraepithelial lesions of the uterine cervix : Experience with squamous lesions in 189 consecutive cervical biopsies. *Pathology*. 2005 ;37:112-124.
99. Chiosea S, Krasinskas A, Cagle PT, et al. Diagnostic importance of 9p21 homozygous deletion in malignant mesotheliomas. *Mod Pathol*. 2008;21:742-7.

100. Krasinskas A, Bartlett D, Cieply K, et al. CDKN2A and MTAP deletions in peritoneal mesotheliomas are correlated with loss of p16 protein expression and poor survival. *Modern Pathology* (2010) 23, 531-538.
101. Wu D, Hiroshima K, Matsumoto S, et al. Diagnostic usefulness of p16/CDKN2A FISH in distinguishing between sarcomatoid mesothelioma and fibrous pleuritis. *Am J Clin Pathol*. 2013;139:39-46.
102. Illei PB, Ladanyi M, Rusch VW, et al. The use of CDKN2A deletion as a diagnostic marker for malignant mesothelioma in body cavity effusions. *Cancer*. 2003;99:51-6.
103. Cakir C, Gulluoglu MG, Yilmazbayhan D. Cell proliferation rate and telomerase activity in the differential diagnosis between benign and malignant mesothelial proliferations. *Pathology*. 2006;38:10-5.
104. Chang S, Oh MH, Ji SY, et al. Practical utility of insulin-like growth factor II mRNA-binding protein 3, glucose transporter 1, and epithelial membrane antigen for distinguishing malignant mesotheliomas from benign mesothelial proliferations. *Pathol Int*. 2014;64:607-12.
105. Minato H, Kurose N, Fukushima M, et al. Comparative immunohistochemical analysis of IMP3, GLUT1, EMA, CD146, and desmin for distinguishing malignant mesothelioma from reactive mesothelial cells. *Am J Clin Pathol*. 2014;141:85-93.

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Serdal Sadet Özcan'a ait “Mezotelyoma ile Mezotelyal Proliferasyon Ayrımında IMP3, PHH3 ve P16 belirteçlerinin immunohistokimyasal yöntemle değerlendirilmesi” adlı çalışma, jürimiz tarafından Patoloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: .../.../...15

Başkan :

Üye :

Üye :