






Prostatın benign, prekürsör ve malign epitelyal proliferasyonlarında ERG ile PTEN ekspresyonlarının araştırılması ve bulguların klinikopatolojik korelasyonu

Investigation of ERG and PTEN expressions in benign, precursor and malignant epithelial proliferations of prostate and clinicopathological correlation of findings

Banu Sarsık Kumbaracı¹  Emre Kanat²  Umut Aykutlu³ 
Fuat Kızılay⁴  Sait Şen¹ 

¹ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

² Uşak Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, Uşak, Türkiye

³ Acıbadem Sağlık Grubu, Altunizade Hastanesi, Patoloji Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

⁴ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

ÖZ

Amaç: Prostat kanseri farklı klinik gidişata ve geniş bir tedavi yelpazesine sahip, klinik ve moleküler olarak oldukça heterojen bir kanser türüdür. Özellikle “prostatik intraepitelyal neoplazi” (PIN), “atipik intraduktal proliferasyon” (AİP) ve “intraduktal karsinom” (İDK) benzer morfolojik özelliklere sahip olması açısından ayırıcı tanı zorluğu yaratan tanılar olup, hasta tedavi ve takibi de farklı olan antitelerdir. Çalışmamızda bu lezyonlarda ERG ve PTEN ekspresyon düzeylerini belirlemeyi ve bu biyobelirteçlerin prognostik ve diagnostik değerini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: EÜTF Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında 2011-2012 yılında radikal prostatektomi veya iğne biyopsi materyallerinde “Adenokarsinom” tanısı almış 87 olgu çalışmaya alındı. Histopatolojik olarak AİP, İDK ve PIN içeren alanlar belirlendi. immunohistokimyasal olarak bu alanlarda ERG ve PTEN ekspresyonları değerlendirildi.

Bulgular: Olguların 6’sında İDK, 29’unda AİP ve 52’sinde PIN belirlendi. İDK AİP, DG 3 ve üstünde olan tümörlerde daha fazla görüldü. İDK ve AİP in eşlik ettiği prostat karsinomlarının sağ kalım süresi daha kısaydı (p=0.043). İDK ve AİP içeren tümörlerde ERG ve PTEN durumu invaziv komponentle uyum içindeydi. Ayrıca tüm İDK alanlarında ERG pozitifliği. PTEN ile heterojen boyanma görülmüş olup, PTEN’in invaziv karsinom ve İDK alanlarında negatifliği daha fazlaydı (p=0,63).

ERG pozitifliği ve PTEN negatifliği istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte AİP tanısını desteklediği dikkati çekti.

Sonuç: Özellikle ayırıcı tanı sorunu yaratan intraduktal lezyonlarda ERG pozitifliği ve PTEN negatifliği klinik öneme sahip prostat karsinomuna eşlik edebileceği için özellikle biyopsilerde gözardı edilmemeli ve hasta tedavi ile takibi buna göre yapılmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Atipik intraduktal proliferasyon, ERG, prostatın intraduktal karsinomu, prostat adenokarsinomu, PTEN.

ABSTRACT

Aim: Prostate cancer is a clinically and molecularly heterogeneous cancer type with different clinical course and a wide range of treatments. Especially "prostatic intraepithelial neoplasia" (PIN), "atypical intraductal proliferation" (AIP) and "intraductal carcinoma" (IDC) are diagnoses that create difficulty in differential diagnosis in terms of having similar morphological features, and they are entities with different patient treatment and follow-up. In our study, we aimed to determine the expression levels of ERG and PTEN in these lesions and to investigate the prognostic and diagnostic value of these biomarkers.

Sorumlu yazar: Banu Sarsık Kumbaracı
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı,
İzmir, Türkiye
E-posta: bsarsik@yahoo.com
Başvuru tarihi: 18.03.2022 Kabul tarihi: 13.05.2022

Materials and Methods: Eighty seven cases diagnosed as "Adenocarcinoma" in radical prostatectomy or needle biopsy materials in the Department of Medical Pathology of EUTF in 2011-2012 were included in the study. Histopathologically, areas containing AIP, IDC and PIN were determined. ERG and PTEN expressions were evaluated in these areas immunohistochemically.

Results: IDC was determined in 6 of the cases, AIP in 29 and PIN in 52 cases. IDC and AIP were more common in tumors with DG 3 and above. Prostate carcinomas accompanied by IDC and AIP had a shorter survival time ($p=0.043$). In tumors containing IDC and AIP, ERG and PTEN status were consistent with the invasive component. In addition, ERG was positive in all IDC areas. Heterogeneous staining was observed with PTEN, and PTEN was more negative in the areas of invasive carcinoma and IDC ($p=0.63$). Although ERG positivity and PTEN negativity were not statistically significant, it was noted that they supported the diagnosis of AIP.

Conclusion: Especially in intraductal lesions that cause differential diagnosis, ERG positivity and PTEN negativity should not be ignored in biopsies that may accompany clinically important prostate carcinoma, and the patient should be followed up with treatment accordingly.

Keywords: Atypical intraductal proliferation, ERG, intraductal carcinoma of the prostate, prostate adenocarcinoma, PTEN.

GİRİŞ

Prostat kanseri küresel popülasyonda kanserle ilişkili mortalitede altıncı sırada yer alırken, erkeklerde en sık rastlanan ikinci malignite konumundadır (1-3). Prostat spesifik antijenin (PSA) tümör belirteci olarak kullanılmaya başlaması, prostat kanserinin tedavi ve takibinde yeni bir çığır açmıştır. PSA'nın yaygın kullanımı ve tarama yöntemleri, tanı sıklığını arttırmış olsa da prostat kanserine bağlı metastaz ve ölümleri belirgin olarak azaltmıştır (4, 5). Günümüzde PSA'nın verimini arttırmak ve yeni tümör belirteçleri bulabilmek için çalışmalar devam etmektedir (4, 6-8).

Prostat kanseri doku biyobelirteçlerinin asıl amacı tanısal ve prognostik doğruluğun iyileştirilmesidir. Son zamanlarda, çelişkili sonuçlar elde edilmiş olsa da transkripsiyonel regülatör ERG (ERG), fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN), gibi biyolojik belirteçler faydalı prognostik faktörler olarak değerlendirilmiştir (7-10). ERG füzyonu ve PTEN kaybının, prostat kanserinin erken biyokimyasal rekürrensini bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir (8, 9, 10). Prostat karsinogenezinin erken safhasındaki ERG füzyonunun ve birlikte PTEN kaybının, daha agresif bir tümör fenotipine yön veren ek bir belirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir (11, 12).

Prostat karsinomu prekürsör lezyonu olduğu kabul edilen prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) ile yeni tanımlanan intraduktal karsinomun (İDK) ayırımında özellikle iğne biyopsilerde zorluk yaşanmaktadır. Agresif bir tümör olan İDK'un ayırımı hasta yönetimi açısından önemlidir. Ayrıca PIN ve İDK tanı kriterlerini karşılamayan yeni bir grup "atipik intraduktal proliferasyonlar" (AIP) tanımlanmaya ve bu konuda çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (13-17).

Çalışmamızda; İDK ve AIP'nin Türk hasta popülasyonundaki insidansı yanı sıra ERG ve

PTEN ekspresyonlarının prognostik değerini ve morfolojik özellikleri nedeniyle ayırıcı tanı zorluğu yaratabilecek PIN, AIP ve İDK patogenezinde bu biyobelirteçlerin katkısını araştırmayı amaçladık. Çalışmamızın ikinci amacı ise; Dünya Sağlık Örgütü (DSO) tarafından 2016 yılında yayınlanan yeni tanımlanan prostat karsinomu derecelendirme sistemine göre olgularımızı geriye dönük yeniden değerlendirerek, bu derecelendirme sisteminin tümör prognozu ile ilişkisini belirlemeyi amaçladık.

Genel bilgiler

Prostat kanseri farklı klinik gidişata ve geniş bir tedavi yelpazesine sahip, klinik ve moleküler olarak oldukça heterojen bir kanser türüdür. Bu sebeple, tedavi seçiminde klinisyene yardımcı olacak prognostik, prediktif ve diagnostik biyobelirteçlerin olması önemlidir. Prostat spesifik antijenin (PSA) tümör belirteci olarak kullanılmaya başlanması, prostat kanserinin tedavi ve takibinde yeni bir çığır açmıştır (4, 5). PSA'nın yaygın kullanımı, tanı sıklığını arttırmış olsa da prostat kanserine bağlı metastaz ve ölümleri belirgin olarak azaltmıştır (2, 3, 5). Aynı zamanda prostat kanserinin hormonoterapiye yanıtı da yaşam süresini uzatmaktadır. Ancak bilindiği gibi zamanla tedaviye direnç gelişmesi, bu tedavi direncini belirleyebilmek ve yeni hedefe yönelik tedavi modalitelerini geliştirebilmek için doku bazlı moleküler biyobelirteçlerin yoğun bir şekilde araştırılmasına neden olmuştur. Son zamanlarda, transkripsiyonel regülatör ERG, PTEN gibi biyobelirteçlerin tanısal ve prognostik değerini araştıran çalışmalar yayınlanmıştır (7-17).

PTEN 10q23.3 kromozomal bölgede yer alan bir tümör baskılayıcı gendir (18). Özellikle ileri evre prostat kanserinde PTEN inaktivasyonu daha sık görülmektedir (19). PTEN kaybı tümörlerin %30-70'inde bildirilmiş ve yüksek dereceli PIN'de de

oldukça nadir olduğu gösterilmiştir (18-20). DSÖ 2016 yılında tanımladığı oldukça agresif klinik gidişata sahip intraduktal karsinomun gerek etiyojisini ortaya koymak gerekse ayırıcı tanısını yapabilmek açısından PTEN'in katkı sağladığını ileri süren yayınlar vardır (22-24). TMPRSS2- ERG gen füzyonunun ise prostat kanserine olan yüksek spesifitesi nedeni ile prostat kanserinin ayırıcı tanısı için kullanılacak bir biyomarker olabileceği bildirilmektedir (25, 26). Çalışmaların bazılarında füzyonun daha yüksek tümör evresi, Gleason skoru ve ölüme yol açan agresif kanser fenotipinin gelişmesine neden olduğu bildirilmiştir (26-28). Bunun aksine radikal prostatektomi ile tedavi edilen hastalarda gen füzyonu ve prognoz arasında ilişki bulunmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur.

ERG füzyonu ve PTEN kaybının, prostat kanserinin erken biyokimyasal rekürrensini bir göstergesi olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca prostat karsinogenenezinin erken safhasındaki ERG füzyonu ile PTEN kaybının, daha agresif bir tümör fenotipine yön verdiğini öne sürmüşlerdir. Lotan ve arkadaşları immunohistokimya (IHK) kullanarak, Gleason 3 + 3 = 6 iğne kor biyopsisindeki PTEN kaybının, radikal prostatektomide Gleason 7 üstüne yükseltme ile ilişkili olduğunu göstermiştir (21).

GEREÇ ve YÖNTEM

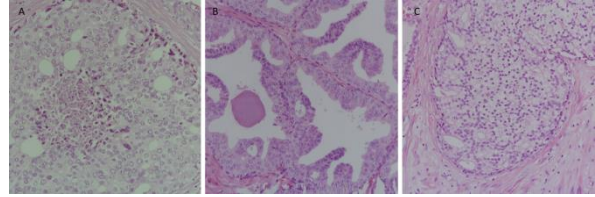
Olgu ve doku seçimi

Ege Üniversitesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirilen, öncelikle radikal prostatektomi materyalinde, radikal materyali yoksa iğne biyopsi materyalinde prostat karsinomu tanısı almış toplam 100 olguya ait hematoksilen-eozin boyalı preparatlar retrospektif olarak değerlendirildi. Gleason skoru 6-10 arasında olan olgular bir üropatolog tarafından gözden geçirilerek, her biyopside benign alan, prostatik intraepitelyal neoplazi içeren alan ve intraduktal karsinom, invaziv karsinom içeren alanları işaretleyerek parafin bloklar seçmiştir. Blokda yetersiz doku olan 13 olgu çalışma dışı kalmış olup, toplam 87 olgu çalışmaya dahil edilebildi. Seksen yedi olguya ait yaş, PSA değeri gibi verilere hastane bilgi sisteminden ve Üroloji Anabilim Dalı'nda hasta dosyalarından, sağkalım analizleri için ise hastalara telefonla ulaşıldı.

Histopatolojik değerlendirme

Bazal hücrelerin bulunduğu büyük asini ve duktusları genişleten malign epitel hücreleri ile solid veya yoğun kribriform yapı oluşturan tümörler ve bu özellikler mevcut değilse, iki veya daha fazla bezi tutan fokal olmayan

komedonekroz veya nükleusların komşu benign bezlerin nükleuslarından en az altı katı kadar büyük olan, belirgin nükleer atipi içeren tümörler İDK olarak değerlendirildi (Şekil-1A). Yüksek dereceli PIN, "tafting" veya mikropapiller intraduktal proliferasyon, kribriform paternin yokluğu ve 20'lik büyütmeye kolayca görülebilen nükleoller olarak standart kriterler kullanılarak tanımlandı (Şekil-1B). Düz yüksek dereceli PIN gösteren durumlar dahil edilmedi. AİP ise bu İDK ve PIN kriterlerini karşılamayan ara intraduktal proliferasyonlar olarak gruplandırıldı (Şekil-1C).



Şekil-1. İnaduktal lezyonların hematoksilen&eosin ile mikroskopik görünümü.

A: İnaduktal karsinom; periferde bazal hücrelerin varlığı ve santralde nekroz içeren belirgin nükleer atipi içeren intraduktal malign hücre proliferasyonu. **B:** Yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi; kolayca görülebilen nükleoller içeren, periferde bazal hücrelerin bulunduğu "tafting" veya mikropapiller paterde intraduktal proliferasyon. **C:** Atipik intraduktal proliferasyon; İnaduktal karsinom ve yüksek dereceli PIN kriterlerini karşılamayan, periferde bazal hücrelerin devam ettiği atipik intraduktal proliferasyonlar.

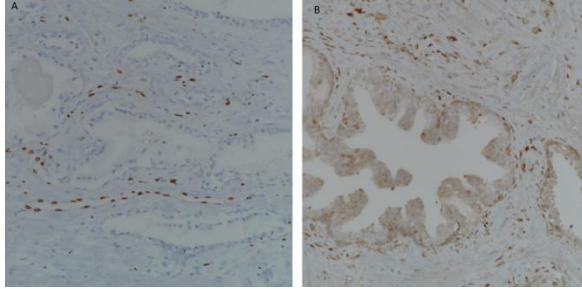
Dünya Sağlık Örgütü'nün 2016 yılında yeni tanımlamış olduğu prostat karsinomu derecelendirme sistemine göre, invaziv karsinom paternleri Gleason skorlama sistemi yeniden yapıldı ve derece grupları oluşturuldu. Ayrıca radikal prostatektomi materyalinde tümörün ekstraprostatik yayım (EPY), perinöral invazyon (PNI), veziküloseminalis invazyon (VSI) varlığı ile cerrahi sınır pozitifliği kaydedildi.

İmmunohistokimyasal değerlendirme

Seçilen uygun preparatlara ait arşivimizde bulunan formalin tespitli parafine gömülü doku bloklarından H&E boyaması için bir adet, immunohistokimyasal (IHK) yöntemle ERG ve PTEN çalışılmak üzere bir adet 4 mikron kalınlığındaki seri kesitler pozitif yüklü lam üzerine hazırlandı. Ventana BenchMark XT (Roche Diagnostics-Ventana Medical Systems, Tucson, AZ) cihazında OptiView diaminobenzidine IHC detection kit'i (Ventana) ile ERG (mouse monoclonal; CM421C, 1:50; BioCare Medical, Concord, CA) antikoru ve PTEN (rabbit monoclonal; clone D4.3, #9188,

1:50; Cell Signaling Technologies, Beverly, MA) primer antikorunu ile çalışıldı. İHK protokolü için kesitler 76 derecede deparafinize edildi. Cell Conditioner 1 (EDTA pH=8,4) ile 64 dakika ön işleme tabi tutularak primer antikorlar 37 derecede 16 dakika uygulandı. Ardından 4 dakika OptiView Amplifier ve 8 dakika OptiView HRP Multimer inkübasyonu sonrasında ise kesitler hematoksilin ile 8 dakika karşıt boyandı. Mavileştirici solüsyon ile 4 dakika muamele edilerek işlem tamamlandı.

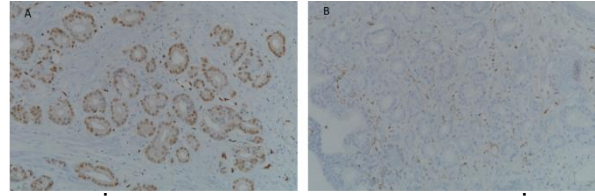
Işık mikroskopunda ERG değerlendirmesi için pozitif kontrol olarak endotelin nükleer boyanması (Şekil-2A), PTEN'de ise fibroblast sitoplazmik ya da nükleer boyanması kabul edilmiştir (Şekil-2B).



Şekil-2. Işık mikroskopunda ERG değerlendirmesinde, pozitif kontrol olarak endotelin nükleer boyanması (A), PTEN değerlendirmesinde, pozitif kontrol olarak fibroblast sitoplazmik ya da nükleer boyanması (B).

ERG intraduktal lezyonlarda ve invaziv karsinomda "homojen nükleer boyanma" pozitif olarak (Şekil-3A), boyanma olmaması negatif olarak ve bezlerin bazılarında pozitif, bazılarında negatif boyanma ise mikst boyanma kabul edilerek "heterojen pozitif" olarak değerlendirildi. PTEN de ise boyanma olmaması "homojen

kayıp" (Şekil-3B), boyanma olması pozitif olarak, mikst boyanma olması ise "heterojen kayıp" olarak değerlendirildi.



Şekil-3. İnvaziv karsinomda ERG pozitifliği (A). İnvaziv karsinomda PTEN negatifliği (B) (homojen kayıp).

İstatistiksel değerlendirme

İstatistiksel incelemede PC tabanlı program SPSS (version 25.0) kullanılarak; intraduktal lezyonların klinik, histopatolojik ve immunohistokimyasal bulgularının karşılaştırılmasında Pearson Chi-square veya Fisher's exact testi ve Mann-Whitney U testi, sağkalım analizlerinde ise Kaplan-Meier testi kullanıldı. P değeri <0.05 anlamlı kabul edilmiştir. Çalışmamız Ege Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 18 TIP 002 proje numarası ile etik kurul onayı aldı.

BULGULAR

Klinikopatolojik Bulgular

Olguların klinikopatolojik bulguları Tablo-1'de verilmiştir. Olguların yaş ortalaması 71,4±8,43 (min:52-max:91 yaş) idi. Preoperatif ortalama PSA değerleri 6,19±2,67 ng/ml saptandı. İDK ve AİP içeren olguların preoperatif PSA değerleri PİN içeren olgulardan daha yüksekti (p=0,041).

Tablo-1. Klinikopatolojik bulgular.

		İNTRADUKTAL LEZYONLAR			
		İDK (n=6)	AİP (n=29)	PİN (n=52)	İNVAZİV KARSİNOM (n=87)
İNVAZİV KARSİNOM DERECE GRUP	DG 1	0	0	17	20
	DG 2	0	4	16	16
	DG 3	3	7	10	11
	DG 4	1	9	8	21
	DG 5	2	9	1	19
KLİNİKOPATOLOJİK PROGNOSTİK BULGULAR	YAŞ	67,8± 6,45	73,03±9,318	66,50±7,34	71,4±8,43 yıl
	PSA	9,81	8,54	6,22	8,19±2,67
		ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
	SAĞ KALIM SÜRESİ	72,9±4,28	76,62±6,43	94,18±2,08	81,2±3,47
	EPY	ay	ay	ay	ay
	VSİ	6	12	15	23
	VNİ	4	6	6	8
	PNİ	4	22	23	42
	CS	3	9	17	19

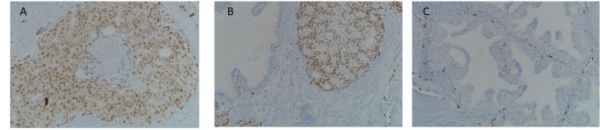
Olguların ortalama sağkalım süresi 81,2±3,47 ay olarak saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte derece grubu ve Gleason skoru yükseldikçe sağkalım süresi azalmaktaydı (p=0,47). Çalışmaya alınan 87 olgunun 54'üne radikal prostatektomi, 3'üne sistoprostatektomi ve 30'una prostat iğne biyopsi uygulanmıştı. Sistoprostatektomi olan üç olgunun ürotelyal karsinomuna insidental olarak prostat karsinomu eşlik etmekte ve Gleason skoru 6/10 (derece grubu I) idi. İğne biyopsi materyalindeki tümörlerin tümünün Gleason skoru 9/10 (derece grubu V) idi.

Yeni derecelendirme sistemine göre tümörlerin %23'ü (20/87) derece grubu I, %18'i (16/87) derece grubu II, %12'si (11/87) derece grubu III, %23'ü (20/87) derece grubu IV ve %22'si (19/87) derece grubu V olarak değerlendirildi (Tablo-1). Olguların altısına İDK (6/87), 29'una (29/87) AİP ve 52'sine (52/87) PİN eşlik etmekte idi. İDK içeren invaziv karsinom olguları derece grubu III ve üstündeki tümörlerde saptandı (p=0,038) İDK içeren tümörlerin tümünde EPY ve PNI dikkati

çektii ve bunların da %50'sinde VSi ve cerrahi sınır pozitifliği mevcuttu (Tablo-1).

İmmunohistokimyasal bulgular

Olguların dağılımları ve immunohistokimyasal bulguları Tablo-2'de verilmiştir. İnvaziv tümörlerin 25'inde (%30) ERG pozitif olup, İDK içeren 6 tümörün hem İDK hem de AİP alanında ERG pozitif iken, PİN alanında ERG negatif idi (p=0,75). (Şekil-4) PTEN homojen kaybı, İDK'ların %66'sında, AİP'lerin %75'inde ve PİN'lerin %28'inde görüldü. ERG pozitifliği, İDK'ların %100'ünde, AİP'lerin %48'inde ve PİN'lerin %6'sında görüldü.



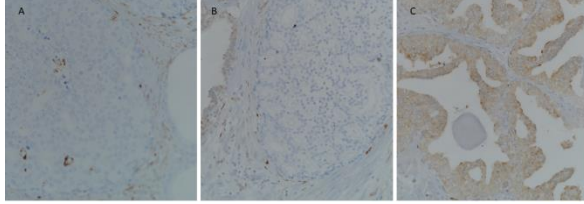
Şekil-4. İmmunohistokimyasal incelemede ERG; intraduktal karsinom alanında (A) ve atipik intraduktal proliferasyon alanında (B) ERG pozitifliği, yüksek dereceli PİN alanında (C) ERG negatifliği.

Tablo-2. İntraduktal lezyonlar ile invaziv karsinom arasındaki ERG ve PTEN uyumu.

		İNVAZİV KARSİNOM PTEN DURUMU		
IDK		PTEN pozitif	PTEN negatif	Heterojen
PTEN durumu		n (%)	n (%)	n (%)
TOPLAM				
6 OLGU	PTEN pozitif	1	0	0
	PTEN negatif	0	4	1
	Heterojen	0	0	0
	Toplam	1 (%16)	4 (%66)	1 (%16)
AİP				
PTEN durumu		PTEN pozitif	PTEN negatif	Heterojen
		n (%)	n (%)	n (%)
TOPLAM	PTEN pozitif	1	2	2
29 OLGU	PTEN negatif	0	20	2
	Heterojen	0	0	2
	Toplam	1 (%3)	22 (%75)	6 (%21)
PİN				
PTEN durumu		PTEN pozitif	PTEN negatif	Heterojen
		n (%)	n (%)	n (%)
TOPLAM	PTEN pozitif	1	12	5
52 OLGU	PTEN negatif	0	12	3
	Heterojen	0	4	15
	Toplam	1 (%2)	28 (%53)	23 (%44)
		İNVAZİV KARSİNOM ERG DURUMU		
IDK		ERG Pozitif	ERG Negatif	Heterojen
ERG durumu		n (%)	n (%)	n (%)
TOPLAM				
6 OLGU	ERG pozitif	5	0	0
	ERG negatif	0	1	0
	Heterojen	0	0	0
	Toplam	5 (%83)	1 (%17)	0
AİP				
ERG durumu		ERG pozitif	ERG negatif	Heterojen
		n (%)	n (%)	n (%)
TOPLAM	ERG pozitif	12	1	1
29 OLGU	ERG negatif	1	13	1
	Heterojen	0	0	0
	Toplam	13 (%45)	14 (%48)	2 (%7)
PİN				
ERG durumu		ERG pozitif	ERG negatif	Heterojen
		n (%)	n (%)	n (%)
TOPLAM	ERG pozitif	2	0	1
52 OLGU	ERG negatif	10	37	2
	Heterojen	0	0	0
	Toplam	12 (%23)	37 (%71)	3 (%6)

ERG heterojen pozitifliği sadece üç olgunun invaziv karsinomunun farklı iki alanında saptanmıştır. Yani bu üç olguda iki farklı invaziv tümör komponenti olup, birinde ERG pozitif iken, diğerinde negatif bulunmuştur. Bu üç olgunun PİN alanlarında ERG negatif iken, AİP alanlarında da ERG pozitif bulunmuştur.

İnvaziv tümörlerin 54'ünde (%62) PTEN homojen kaybı görülmüştür. İDK içeren tümörlerden biri hariç, 5'inde de İDK ve AİP alanında PTEN homojen kayıp gösterirken, PİN alanında PTEN pozitif izlendi (Şekil-5).



Şekil-5. İmmunohistokimyasal incelemede PTEN; intraduktal karsinom alanında (A) ve atipik intraduktal proliferasyon alanında (B) PTEN homojen kayıp gösterirken, yüksek dereceli PİN (C) alanında PTEN pozitifliği.

AİP içeren 29 olgunun, 22'sinin (%69) AİP alanında homojen PTEN kaybı saptanırken, PİN içeren 52 olgunun 15'inin (%28) PİN alanında homojen PTEN kaybı izlenmedi. AİP içeren alanların %69'unda PTEN homojen negatif olup, bunların da %41'inde ERG pozitif saptandı.

Radikal operasyon olan 54 olgudan 17'sinde (%31) EPY ve PNI göstermekte olup, bunların tümünün invaziv komponentinde PTEN kaybı görülürken, 11'inde ise ERG pozitif saptandı.

ERG pozitif ve PTEN kaybı gösteren olguların sağkalım süresi, PTEN bakılmaksızın ERG negatif olgulara göre daha kısa idi ($p=0,05$).

TARTIŞMA

İnvaziv prostat karsinomlarının moleküler patogenezi açıklamaya yönelik yapılan çalışmalar, PTEN kaybını invazyonun gerçekleştiği basamakta kazanıldığını ileri sürmektedir (21, 22). Bazal hücre kaybı invaziv karsinomun kesin morfolojik kriterlerinden biridir. Ancak son yıllarda bazal hücre kaybı göstermeyen "intraduktal karsinom" tanısı DSÖ kitabında yerini almıştır (13). Bu lezyonlar geçmişte yüksek dereceli prostat intraepitelyal neoplazisi (YDPIN) ve duktal tip prostat karsinomu olarak tanımlanmıştır (29-31). McNeal

ve arkadaşları ilk olarak, invaziv karsinomla birlikte görülen bu paternin agresif bir prostat karsinom formunu temsil ettiğini ve bu paternle görülen invaziv karsinomun da yüksek dereceli ve büyük hacimli olduğunu bildirdi (30).

Cohen ve arkadaşları ise, orijinal McNeal sınıflandırmasına dayanan beş major ve birkaç minör kriter önerdi (32, 33). McNeal'in kriterlerinin aksine, Cohen'in kriterleri, normal çevreleyen periferik zon bezlerinin çapının iki katından daha fazla tutulmuş bezlerle lezyonun ekspansil yapısını içeriyordu. Minör kriterler, dik açılarda dallanan, düzgün konturlara sahip olan ve periferde daha atipik hücelere sahip çift hücreli bir popülasyonu ve lümenin merkezine doğru olgunlaşmayı içeren bezleri içeriyordu (32).

Guo ve Epstein tarafından ise, bazal hücrelerin korunduğu büyük asini ve duktusları genişleten malign epitel hücreleri ile solid veya yoğun kribriform yapı oluşturan tümörler, İDK olarak önerilmiştir (34). Bu özellikler mevcut değilse, iki veya daha fazla bezi tutan fokal olmayan komedonekroz veya nükleusların komşu benign bezlerin nükleuslarından en az altı katı kadar büyük olan, belirgin nükleer atipi içeren tümörler de İDK olarak tanımlanmıştır (34).

Ancak bu histolojik özellikler İDK tanısı için oldukça spesifik, ama duyarlı değildir. Literatürde Guo ve Epstein'in tanımlarının yetersiz kaldığı daha düşük dereceli özelliklere sahip, YDPİN taklit edebilen lezyonlar ise "atipik intraduktal proliferasyon (AİP)" olarak tanımlanmıştır (13-17). Düşük dereceli sitolojiye sahip bu lezyonların İDK'un morfolojik yapısının düşük dereceli bir bölümünü temsil ettiği bildirilmektedir. Bu nedenle, morfolojik olarak birbirine oldukça benzeyen, prostat kanserinin öncül lezyonu olan YDPİN'in, daha agresif davranış gösteren AİP ve İDK ayrımı son derece önemlidir. Son çalışmalar, ERG protein ekspresyonu ve/veya atipik kribriform lezyonda PTEN kaybı İDK tanısını destekleyeceğini göstermiştir (35-39).

Çalışmamızda literatürle benzer şekilde İDK VE AİP, derece grubu III ve üstünde olan tümörlerde daha fazla görülmüştür ($p=0,038$). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, İDK ve AİP in eşlik ettiği prostat karsinomlarının sağ kalım süresi daha kısaydı. İDK ve AİP içeren tümörlerde ERG ve PTEN durumu invaziv komponentle uyum içindeydi. (Tablo-2). Ayrıca tüm İDK alanlarında ERG pozitifliği. Bu bulgumuz da ERG'nin kötü prognostik bir biyobelirteç olduğunu desteklemektedir (39, 40).

PİN'de PTEN pozitifliği bildiren yayınlar yanısıra negatif ve heterojen boyanma bildiren yayınlar da mevcuttur (35, 38). Bizim serimizde de PTEN heterojen boyanma gösterdi. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte PTEN invaziv karsinom ve İDK alanlarında negatifliği daha fazlaydı. ERG pozitif ve PTEN negatifliği istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte İDK ve AİP tanısını desteklediği dikkati çekti. Ayrıca PTEN homojen kaybı, İDK'ların %66'sında, AİP'lerin %75'inde ve PİN'lerin %28'inde görüldü. ERG pozitifliği, İDK'ların %100'ünde, AİP'lerin %48'inde ve PİN'lerin %5'inde görüldü. Bu bulgu ise AİP'nun İDK'un düşük dereceli bir öncül lezyonu olduğunu ve ERG proteinini karsinogenezin daha geç bir basamağında kazandığını düşündürmektedir.

Bunun dışında invaziv karsinomlarda %10-70 oranlarında ERG pozitifliğini bildiren yayınlar mevcuttur (37,39). Biz de literatür ile uyumlu olarak intraduktal karsinomlarda PTEN kaybını ve ERG pozitifliğini saptadık. Bu ekspresyon kayıp ve kazançları, sağ kalım süresini de etkilemekte idi.

PİN tanısına karşı intraduktal karsinom tanısının çok farklı klinik sonuçları göz önüne alındığında, intraduktal karsinom için çoğu morfolojik kriter duyarlılıktan çok özgülüğü vurgulamıştır. Yüksek dereceli PİN, en yaygın olarak, 20x büyütmede kolayca görülebilen orta, ancak belirgin olmayan sitolojik atipi ve nükleollere sahip püsküllü veya mikropapiller bir yapıya sahiptir (1). İnaduktal karsinomun aksine, solid patern ve komedonekroz PİN'de asla görülmez, ancak daha gevşek kribriform intraduktal proliferasyonların sınıflandırılması tartışmalıdır (2, 4, 6, 7, 9-11)

ERG FISH'in gerçekleştirilmesi pahalı ve zaman alıcı olduğundan ve geleneksel PİN vakalarının bir alt kümesinde ERG yeniden düzenlenmesi görülebildiğinden, PİN'i radikal prostatektomide intraduktal karsinomdan ayırt etmek için kombine PTEN ve ERG immünohistokimyasının kullanımına odaklanılmıştır (22, 25, 41). İmmünohistokimya ile PTEN kaybının (altta yatan bir PTEN delesyonunun varlığı ile yüksek oranda uyumludur) intraduktal karsinomun (Epstein kriterleri ile tanımlanan) %80'inden fazlasında meydana geldiğini ve morfolojik olarak tipik yüksek dereceli PİN'de görülmediğini gösteren çalışmalar mevcuttur (42). PTEN kaybının intraduktal karsinomda yaygın olarak görülmesi, sadece bu lezyon için potansiyel bir belirteç sağlamakla kalmaz, aynı zamanda intraduktal

karsinomla ilişkili tümörlerin agresif davranışı için moleküler bir mekanizma önerir. İnaduktal karsinom kriterlerini karşılamayan, ancak invaziv karsinoma bitişik olan, gevşek lümenli kribriform atipik intraduktal proliferasyonları inceleyen bir çalışmada, bu lezyonların hepsinde PTEN kaybını göstermiştir (43). Bu sonuç da mevcut kriterleri kullanarak bazı intraduktal karsinom vakalarını yeterince tanımlayamayan olabileceğimizi kuvvetle düşündürmektedir. Çalışmamızda ERG, intraduktal karsinomların tümünde pozitif ve sıklıkla PTEN kaybı ile uyumluydu. İnaduktal lezyonlarla ilgili önceki moleküler çalışmalar, radikal prostatektomi materyalinde intraduktal karsinom ve PİN arasındaki ayrımı incelemiştir. Sınırlı sayıda iğne biyopsi inceleyen çalışma mevcuttur. Radikal prostatektomi çalışmasından elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu olarak, eşzamanlı invaziv adenokarsinom ile ortaya çıkan morfolojik olarak tanımlanmış intraduktal karsinomların PTEN protein kaybı gösterdiğini bulduk. İğne biyopsisinde eş zamanlı invaziv tümör olmaksızın örneklenen izole intraduktal karsinomda, PTEN kaybı oranı ile benzerdir. ERG biyopside genel olarak intraduktal karsinomların tümünde eksprese edildi ve ekspresyonu olan 5 olgu da PTEN kaybı mevcuttu. İlginç bir şekilde, bu biyopsi çalışmasında incelenen 6 olgu dışında, PİN vakasında ERG ekspresyonu görmedik. Önceki çalışmalar, PİN vakalarının %20 kadarında ERG ekspresyonu olduğunu göstermiştir, ancak daha yaygın olarak invaziv kansere bitişik PİN'de (44,45) veya daha sonra invaziv kanser teşhisi konan hastalardan alınan iğne biyopsilerinde teşhis edilen izole PİN'de görülür (46) Önceki çalışmalarla uyumlu olarak intraduktal karsinomlu radikal prostatektomi olguları da genellikle yüksek riskli (EPY, VSİ ve PNI) patolojik özelliklere sahip invaziv tümör içermekteydi (21).

Radikal prostatektomi materyallerinde saptanan atipik intraduktal proliferasyonların büyük çoğunluğunun invaziv, sıklıkla yüksek dereceli karsinomun yakınında meydana geldiğini bulmuşlardır. İlginç bir şekilde, invaziv tümörlerin yakınında meydana gelen AİP'lerin yaklaşık yarısında ERG yeniden düzenlendiği ve bu alanlarda PTEN kaybının da eşlik ettiği saptanmıştır. Bu nedenle özellikle iğne biyopside saptanan atipik intraduktal proliferasyonların ERG pozitifliği ve PTEN negatifliği klinik öneme sahip prostat karsinomuna eşlik edebileceği biyopsilerde göz ardı edilmemeli ve hasta tedavi ile takibi buna göre yapılmalıdır.

Kaynaklar

1. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kanser Daire Başkanlığı <http://kanser.gov.tr/mobile/kanser/kanser-turleri/52-prostat-kanseri.html>
2. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E and Forman D: Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90.
3. Siegel R, Ma J, Zou Z and Jemal A: Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 64: 9-29, 2014.
4. Yakupoğlu YK, Bostancı Y, Özden E, Prostat Kanseri Dışı Tümör Belirteçleri, Üroonkoloji Bülteni.2012 (2): 96-102.
5. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225-49
6. Tefekli AH, Prostat Kanseri Dışı Belirteçler ve Phi Skoru, Türk Üroloji Seminerleri 2012; 3: 61-69
7. Bjartell A, Montironi R, Berney DM, Egevad L. Tumour markers in prostate cancer II: Diagnostic and prognostic cellular biomarkers, *Acta Oncologica* 2011; 50: 76-84.
8. Noh BJ, Sung JY, Kim YW, Chang SG, Park YK: Prognostic value of ERG, PTEN, CRISP3 and SPINK1 in predicting biochemical recurrence in prostate cancer, *Oncology Letters* 11 (2016), s:3621-30.
9. Güncel Durum Değerlendirilmesi, Üroonkoloji Bülteni 2015; 14, s: 102-7.
10. Krohn A, Dieder T, Burkhardt L, Mayer PS, De Silva C, Kornblum MM et al. Genomic Deletion of PTEN Is Associated with Tumor Progression and Early PSA Recurrence in ERG Fusion-Positive and Fusion-Negative Prostate Cancer, *American Journal of Pathology*. 2012, 181; (2): 401-12.
11. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 2005; 310, s: 644-8.
12. King JC, Xu J, Wongvipat J, Hieronymus H, Carver BS, Leung DH, et al. Cooperativity of TMPRSS2-ERG with PI3-kinase pathway activation in prostate oncogenesis. *Nat Genet*. 2009; 41: 524–6.
13. Shah RB, Yoon J, Liu G, Tian W. Atypical intraductal proliferation and intraductal carcinoma of the prostate on core needle biopsy: a comparative clinicopathological and molecular study with a proposal to expand the morphological spectrum of intraductal carcinoma. *Histopathology*. 2017 Nov; 71 (5): 693-702.
14. Hickman RA, Yu H, Li J, Kong M, Shah RB, Zhou M, Melamed J, Deng FM. Atypical Intraductal Cribriform Proliferations of the Prostate Exhibit Similar Molecular and Clinicopathologic Characteristics as Intraductal Carcinoma of the Prostate. *Am J Surg Pathol*. 2017 Apr; 41 (4): 550-6.
15. Russell DH, Epstein JI. Intraductal Adenocarcinoma of the Prostate With Cribriform or Papillary Ductal Morphology: Rare Biopsy Cases Lacking Associated Invasive High-grade Carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2021 Oct 7. doi: 10.1097/PAS.0000000000001819.
16. Shah RB, Nguyen JK, Przybycin CG, Reynolds JP, Cox R, Myles J, Klein E, McKenney JK. Atypical intraductal proliferation detected in prostate needle biopsy is a marker of unsampled intraductal carcinoma and other adverse pathological features: a prospective clinicopathological study of 62 cases with emphasis on pathological outcomes. *Histopathology*. 2019 Sep; 75 (3): 346-53.
17. Shah RB, Zhou M. Atypical cribriform lesions of the prostate: clinical significance, differential diagnosis and current concept of intraductal carcinoma of the prostate. *Adv Anat Pathol*. 2012 Jul;19(4):270-8.
18. Baydar, D.E., Özen, H., Saraçbaşı, O., Karabulut, E., PTEN Expression in Primary Prostate Carcinoma in Turkish Patients, *Turk J Med Sci*, 2008, 38 (5), s:387-97.
19. McMenamin, M.E., Soung, P., Perera, S., Kaplan, I., Loda, M., Sellers, W.R., Loss of PTEN expression in paraffin-embedded primary prostate cancer correlates with high Gleason score and advanced stage, *Cancer Res.*, 1999; 59, 4291–6.
20. Mithal P, Allott E, Gerber L et al. PTEN loss in biopsy tissue predicts poor clinical outcomes in prostate cancer. *Int J Urol*. 2014, 21(12):1209-14.doi: 10.1111/iju.12571.
21. Lotan TL, Carvalho FL, Peskoe SB et al PTEN loss is associated with upgrading of prostate cancer from biopsy to radical prostatectomy. *Mod Pathol*. 2015 Jan; 28 (1): 128-37.
22. Carlos L. Morais, Liana B. Guedes, Jessica Hicks, Alexander S. Baras, Angelo M. De Marzo, Tamara L. Lotan. ERG and PTEN Status of Isolated High Grade PIN Occurring in Cystoprostatectomy Specimens Without Invasive Prostatic Adenocarcinoma. *Hum Pathol*.2016; 55: 117–25.
23. Perner S, Demichelis F, Beroukhi R, et al. TMPRSS2-ERG fusion associated deletions provide insight into the heterogeneity of prostate cancer. *Cancer Res* 2006; (66): 8337-41.
24. Gopalan A, Leversha MA, Satagopan JM, et al. TMPRSS2-ERG gene fusion is not associated with outcome in patients treated by prostatectomy. *Cancer Res* 2009;69, s:1400-6.
25. Shah RB, Bentley J, Jeffrey Z, Demarzo AM Heterogeneity of PTEN and ERG expression in prostate cancer on core needle biopsies: implications for cancer risk stratification and biomarker sampling. *Hum Pathol*.2015; 46 (5): 698–706.
26. Ahearn TU, Pettersson A, Ebot EM, et al. A prospective investigation of PTEN loss and ERG expression in lethal prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2016; 108: 1–9.

27. Cuzick J, Yang ZH, Fisher G et al Prognostic value of PTEN loss in men with conservatively managed localised prostate cancer. *Br J Cancer* 2013; 108 (12): 2582–9.
28. Tosoian JJ, Almutairi F, Morais CL, Glavaris S, Hicks J, Sundi D, Humphreys E, Han M, De Marzo AM, Ross AE, Tomlins SA, Schaeffer EM, Trock BJ, Lotan TL, Prevalence and Prognostic Significance of PTEN Loss in African-American and European-American Men Undergoing Radical Prostatectomy, *European Urology* 2017; 71: 697–700.
29. McNeal JE, Bostwick DG. Intraductal dysplasia: a premalignant lesion of the prostate. *Hum Pathol.* 1986 Jan;17(1):64-71.
30. McNeal JE, Reese JH, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Cribriform adenocarcinoma of the prostate. *Cancer.* 1986 Oct 15; 58 (8): 1714-9.
31. McNeal JE, Yemoto CE. Spread of adenocarcinoma within prostatic ducts and acini. morphologic and clinical correlations. *Am J Surg Pathol.* 1996; 20: 802–14.
32. Cohen RJ, Wheeler TM, Bonkhoff H, Rubin MA. A proposal on the identification, histologic reporting, and implications of intraductal prostatic carcinoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2007; 131:1103–9.
33. Cohen RJ, McNeal JE, Baillie T. Patterns of differentiation and proliferation in intraductal carcinoma of the prostate: significance for cancer progression. *Prostate.* 2000 Apr 1; 43 (1): 11-9.
34. Guo CC, Epstein JI. Intraductal carcinoma of the prostate on needle biopsy: Histologic features and clinical significance. *Mod Pathol.* 2006; 19: 1528–35.
35. Han B, Suleman K, Wang L, Siddiqui J, Sercia L, Magi-Galluzzi C, et al. ETS gene aberrations in atypical cribriform lesions of the prostate: Implications for the distinction between intraductal carcinoma of the prostate and cribriform high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2010; 34: 478–85.
36. Lotan TL, Gurel B, Sutcliffe S, Esopi D, Liu W, Xu J, Hicks JL, et al. PTEN protein loss by immunostaining: Analytic validation and prognostic indicator for a high risk surgical cohort of prostate cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2011; 17: 6563–73.
37. Chaux A, Albadine R, Toubaji A, Hicks J, Meeker A, Platz EA, De Marzo AM, Netto GJ. Immunohistochemistry for ERG expression as a surrogate for TMPRSS2-ERG fusion detection in prostatic adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol.* 2011; 35: 1014–20.
38. Dawkins HJ, Sellner LN, Turbett GR, Thompson CA, Redmond SL, McNeal JE, Cohen RJ. Distinction between intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P), high-grade dysplasia (PIN), and invasive prostatic adenocarcinoma, using molecular markers of cancer progression. *Prostate.* 2000; 44: 265–70.
39. Bettendorf O, Schmidt H, Staebler A, Grobholz R, Heinecke A, Boecker W, Hertle L, Semjonow A. Chromosomal imbalances, loss of heterozygosity, and immunohistochemical expression of TP53, RB1, and PTEN in intraductal cancer, intraepithelial neoplasia, and invasive adenocarcinoma of the prostate. *Genes Chromosomes Cancer.* 2008; 47: 565–72.
40. Zhou E, Zhang B, Zhu K, Schaafsma E, Kumar RD, Cheng C. A TMPRSS2-ERG gene signature predicts prognosis of patients with prostate adenocarcinoma. *Clin Transl Med.* 2020 Dec;10(8): e216. doi: 10.1002/ctm.2.216
41. Albuquerque CGP, Morais CL, Carvalho FLF, Peskoe SB, Hicks JL, Ludkovski O, et al. In prostate cancer needle biopsies, detections of PTEN loss by fluorescence in situ hybridization (FISH) and by immunohistochemistry (IHC) are concordant and show consistent association with upgrading, *Virchows Arch.* 2016; 468:607–17.
42. Lotan TL, Gumuskaya B, Rahimi H, Hicks JL, Iwata T, Robinson BD, Epstein JI, De Marzo AM. Cytoplasmic PTEN protein loss distinguishes intraductal carcinoma of the prostate from high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol.* 2013; 26: 587–603.
43. Morais CL, Han JS, Gordetsky J, Nagar MS, Anderson AE, Lee S et al. Utility of PTEN and ERG immunostaining for distinguishing high-grade PIN from intraductal carcinoma of the prostate on needle biopsy. *Am J Surg Pathol.* 2015; 39 (2): 169-78.
44. Mosquera JM, Perner S, Genega EM, Sanda M, Hofer MD, Mertz KD, et al Characterization of TMPRSS2-ERG fusion high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and potential clinical implications. *Clin Cancer Res.* 2008; 14: 3380–5.
45. Zhang S, Pavlovitz B, Tull J, Wang Y, Deng FM, Fuller C. Detection of TMPRSS2 gene deletions and translocations in carcinoma, intraepithelial neoplasia, and normal epithelium of the prostate by direct fluorescence in situ hybridization. *Diagn Mol Pathol.* 2010; 19: 151–6.
46. Park K, Dalton JT, Narayanan R, Barbieri CE, Hancock ML, Bostwick DG, Steiner MS, Rubin MA. TMPRSS2: ERG gene fusion predicts subsequent detection of prostate cancer in patients with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *J Clin Oncol.* 2014; 32: 206–11.