

## MALIGN FİBROZ HİSTIOSİTOMLARDA ALFA-1-ANTİTRİPSİN POZİTİFLİĞİNİN DİĞER YUMUŞAK DOKU TÜMÖRLERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Vehbi ŞEKER\*, Kemal KUTLU\*\*

### ÖZET

16'sı malign fibröz histiositom (MFH) olmak üzere toplam 50 yumuşak doku tümöründe avidin-biotin-peroksidaz-kompleks immunohistokimyasal metodla alfa-antitripsin (AAT) çalıştık. Ayrıca buna ilave olarak MFH vakalarında, vimentin, keratin, desmin ve S-100 protein çalıştık. 16 MFH vakasının 11'inde ve diğer 34 sarkomdan sadece 3'ünde AAT varlığı saptadık. MFH vakalarında kullanılan diğer antikorlardan vimentin hariç hiçbirıyla boyanma saptamadık. Sonuçlar AAT'nın diğer antikorlarla birlikte kullanılmasının MFH ve diğer pleomorfik tipteki sarkomlar arasında ayrıca tanıda yardımcı olabileceği ve bu tümörlerde AAT varlığının gösterilmesinin MFH tanısını güçlendirdiğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Malign fibroz histiositom, Alfa-1-antitripsin, immunohistokimya.

### SUMMARY

#### COMPARISON OF ALPHA-1-ANTITRYPSIN (AAT) POSITIVENESS IN MALIGN FIBROUS HISTIOCYTOMA AND OTHER TYPE SOFT TISSUE TUMOURS

Sixteen malignant fibrous histiocytomas (MFH) and 34 other type soft tissue sarcomas were tested for the presence alpha-1-antitrypsin (AAT) by avidin-biotin-peroxidase complex immunohistochemical metod. Besides AAT in MFH, vimentin, keratin, desmin and S-100 protein were tested. The AAT immunoreactivity for other antibodies except vimentin was not found in MFH. The results show that when AAT is used with the other type of antibodies, it has great value in differential diagnosis between pleomorphic type sarcomas and MFH.

**Key Words:** Malignant fibrous histiocytoma, Alpha-1-antitrypsin, immunohistochemical

### GİRİŞ

Malign fibroz histiositom (MFH) yetişkinlerde en sık görülen yumuşak doku sarkomudur (1, 2, 3, 4). Daha önceden pleomorfik rhabdomyosarkon olarak kabul edilen vakaların birçoğunu da MFH olduğuna

\* Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı (Uzm. Dr.)

\*\* Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı (Prof. Dr.)

inanılmaktadır (2, 5, 6). MFH, fibroblast, histiosit ve dev hücrelerden oluşur (1, 2, 7, 8). MFH'in histogenezi hala tam açıklık kazanmamıştır. Bazı yazarlar iki tip hücrenin de primitif mezenkimal hücrelerden kaynaklandığını ileri sürerken (5, 9, 10, 11) diğerleri tüm hücrelerin neoplastik histiositlerden kaynaklandığını ileri sürmektedirler (6, 12). Histiositik orijin tümör hücrelerinin sitoplasmalarında alfa-1-antitripsin (AAT), alfa-1-antikimotripsin ve lizozimin gösterilmesi ile desteklenmiştir (3, 6, 8, 13). Iwasaki ve ark. yaptıkları hücre kültürü çalışmalarında bu tümörlerin plazma membranlarında kompleman ve Ig G molekülünün Fc komponenti için reseptör varlığını göstererek bu tümör hücrelerinin monosit-makrofaj orijinli olduğunu ileri sürmüşlerdir (4). Mononükleer fagositik sistemde bulunan抗jenlerle reaksiyona giren monoklonal antikorların MFH'da tümör hücrelerinde bulunmadığı saptanmıştır (9). Elektron mikroskopik çalışmalar ise MFH'in primitif mezenkimal hücrelerden türediğini göstermiştir (3, 6).

AAT karaciğer hücreleri tarafından üretilen bir glikoproteindir. Monosit ve lenfositlerde de AAT sentezi gösterilmiştir (11). AAT, MFH gibi tümörlerin histiotistik orijinini kanutlamak ve incelemek için kullanılmıştır (11, 14). MFH'larda AAT pozitifliğinin neoplastik hücrelerin histiotistik natürünü gösterdiği düşünülmektedir. Bununla birlikte bu抗jenin varlığı diğer tümörlerde de gösterilmiştir (6, 7, 11, 13). MFH'ların %25-100'ünde AAT pozitiftir (3). Bu çalışmanın amacı, histiotistik bir抗jen olan AAT'yi MFH ve bazı sarkomlarda kullanarak bu tümörlerin natürünü, AAT'nın tanıdaki değerini ve diğer tümörlerdeki dağılımını araştırmaktadır.

## MATERIAL VE METOD

Çalışmaya Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı konulan 16 MFH ve 34 diğer tipte sarkomlar olmak üzere toplam 50 vaka alındı. Tümörlerin dağılımı Tablo I'de görülmektedir. Tüm dokular %10'luk formolinde tespit edilip takip edildikten sonra parafine gömüldü. MFH vakaları Enzinger ve Weiss'e göre sınıflandırıldı (2). Her tümöre rutin hematoksilen eosin dışında alcian blue-periodik asit-Schiff (AB-PAS), Mason's trichrome, fosfatungüstik asit hematoksilen (PTAH) ve retikülin boyaları yapıldı. İmmünohistokimyasal çalışma için her tümörde AAT ve MFH vakalarında buna ek olarak vimentin, keratin, desmin ve S-100 protein antikorları kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyama Hsu ve ark. (15)'nın tarif ettiği şekilde yapıldı. Parafin bloklardan 5

mikron kalınlığında kesitler alındı, deparafinize edildi ve alkollerden geçirildi. %2.5 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- metanol solusyonunda endojen peroksidaz aktivitesi giderildi. Dokular %0.1'lik tripsin solusyonu ile muamele edildi. Monoklonal primer antikorlardan önce dokular normal tavşan serumu ile inkube edildi. Daha sonra primer antikor ile oda sıcaklığında 1 saat, biotinli anti-mouse immunglobulin ile 30 dak. ve horseradish peroksidase conjugated streptavidin ile 30 dak. inkube edildi.

Tablo I: Malign Fibroz Histiositom: Klinik Bulgular

Vaka No:	Yaş	Cins	Yeri	Tipi
1.	24	E	?	Storiform/pleomorfik
2	?	E	Önkol	Storiform/pleomorfik
3.	?	E	Sırt	Storiform/pleomorfik
4.	?	E	Sırt	Storiform/pleomorfik
5.	65	K	Bacak	Storiform/pleomorfik
6.	34	E	Sırt	Storiform/pleomorfik
7.	13	K	Retroperiton	Miksoid
8.	58	K	Mezenter	Dev hücreli
9.	?	E	Uyluk	Storiform/pleomorfik
10.	64	E	Önkol	Storiform/pleomorfik
11.	55	K	Uyluk	Dev hücreli
12.	45	E	Inguinal	Storiform/pleomorfik
13.	58	K	Inguinal	Storiform/pleomorfik
14.	70	K	Dudak	Dev hücreli
15.	?	E	?	Storiform/pleomorfik
16.	60	E	Kol	Storiform/pleomorfik

İşlemler arasında dokular fosfat tamponlu salin (PBS) içinde çalkalandı. Kromojen olarak 3-amino-9-etil-karbazol (AEC) kullanıldı. Dokular sulu ortamda kapatıldı. Sonuçlar pozitif hücre oranına göre %0:0, %25>:\*\*\*%25-50:\*\*\*ve%50>:\*\*\* olarak değerlendirildi. İmmünohistokimyasal boyama için kullanılan antikor ve immunglobulinler Diagnostic Products Corporation Los Angeles California tarafından üretilmiş olup sadece AAT poliklonal tiptedir. Diğerleri ise monoklonaldır.

## BULGULAR

MFH'ların klinik özellikleri Tablo I'de özetlenmiştir. Vakaların 10'u erkek, 6'sı kadındı. Yaşı dağılımı 13 ila 70 arasında değişmekte olup yaş ortalaması 49.06 idi. Tümörlerin 5'i alt ekstremitede yerleşti. Bunu 3'er vaka ile üst ekstremiten ve gövde izlemektedir.

Morfolojik olarak MFH'ların 12'si storiform-pleomorfik, 3'ü dev hücreli ve 1'i miksoid idi. Tümörlerde Histokimyasal boyama metodları sonucu hiçbir tümörde Mason's trichrome ve PTAH boyama ile cross-striasyon gösterilemedi. AB/PAS, boyama ile miksoid tiptekinde yaygın olmak üzere 8 vakada stromada fokal boyanma saptandı.

Çalışmamızı oluşturan tümörlerin dağılımı ve bu tümörlerdeki AAT pozitifliği Tablo II'de gösterilmiştir. İncelenen tümörlerin %28'inde (14/50) AAT pozitif bulundu. 16 MFH vakasının 11'inde AAT varlığı gösterildi (Resim 1). Bu tümörlerde AAT ile boyanma yoğunluğu 4 tümörde (\*\*), 4 tümörde (\*\*) ve 3 tümörde (\*) idi. MFH vakaları dışında sadece 3 tümörde pozitiflik saptandı. Bunlardan ikisi leiomyosarkom ve

Tablo II: Yumuşak Doku Tümörlerinde Alfa-1-antiripsin Dağılımı.

Cinsi	Toplam	-	*	**	***
Malign fibroz histiositom	16	5	3	4	4
Leiomyosarkom	12	10		2	
Fibrosarkom	6	6			
Liposarkom	6	5	1		
Nörosarkom	2	2			
Sinovyal sarkom	2	2			
Endometrial stromal sarkom	3	3			
Rabdomiosarkom	2	2			
TOPLAM:	50	36	4	6	4

biri liposarkomdu. Bu tümörlerde boyanma (\*\*) ve (\*) yoğunlukta idi. Bunların dışında kalan diğer tümörlerde herhangi bir boyanma saptanmadı.

MFH vakalarında diğer tümörlerden ayrı olarak vimentin, keratin, desmin ve S-100 protein çalışıldı. Tümörlerin hepsinde vimentin gösterilerek mezenkimal köken karutlandı. Kesitlere uygulanan diğer antikorların hiçbirile boyanma saptanmadı (Tablo III).

**Tablo III: Malign Fibroz Histiositom: İmmünohistokimyasal Bulgular.**

Vaka No:	Vimentin	Keratin	Desmin	S-100 protein	AAT
1	3	0	0	0	0
2	3	0	0	0	1
3	3	0	0	0	0
4	3	0	0	0	3
5	3	0	0	0	2
6	2	0	0	0	3
7	1	0	0	0	2
8	3	0	0	0	3
9	2	0	0	0	0
10	3	0	0	0	3
11	3	0	0	0	2
12	3	0	0	0	0
13	1	0	0	0	0
14	3	0	0	0	1
15	3	0	0	0	1
16	1	0	0	0	2

Not: AAT: alfa-1-antitripsin 0: (-) 1: (\*) 2: (\*\*) 3: (\*\*\*)

AAT Histiotik neoplaziler disinda bazi timorlerde de gosterilmiştir. Bazi karsinom, lenfoma ve MFH disinda bazi sarkomlar da AAT pozitifliği bildirilmiştir (6,11). Buna benzer bize MFH disinda 3 timor-

vakasının 11'inde AAT varlığıni gösterdi. MFH vakasının timünde AAT varlığıni göstermiştir (5). Biz ise 16 MFH ve ark. ise daha once pleiomorfik rhabdomyosarkom tanisi konulan 5 12 MFH vakasının 10'unda AAT varlığıni göstermişlerdir (11). Molenaar (6), Lawson ve ark. galistikleri vakalarını timünde (10), Soni ve ark. ise larada bulumusstır (6,13,17). Roholl ve ark. MFH larada degisik orantılı olarak düzgünümektedir (16). AAT pozitifliği, MFH larada givener bir marker ositteli yüksek oranda boyadığı için MFH tanisında givener bir marker pleiomorfik tipkeki sarkomla karışabilir (7). AAT normal ve malignt histi-

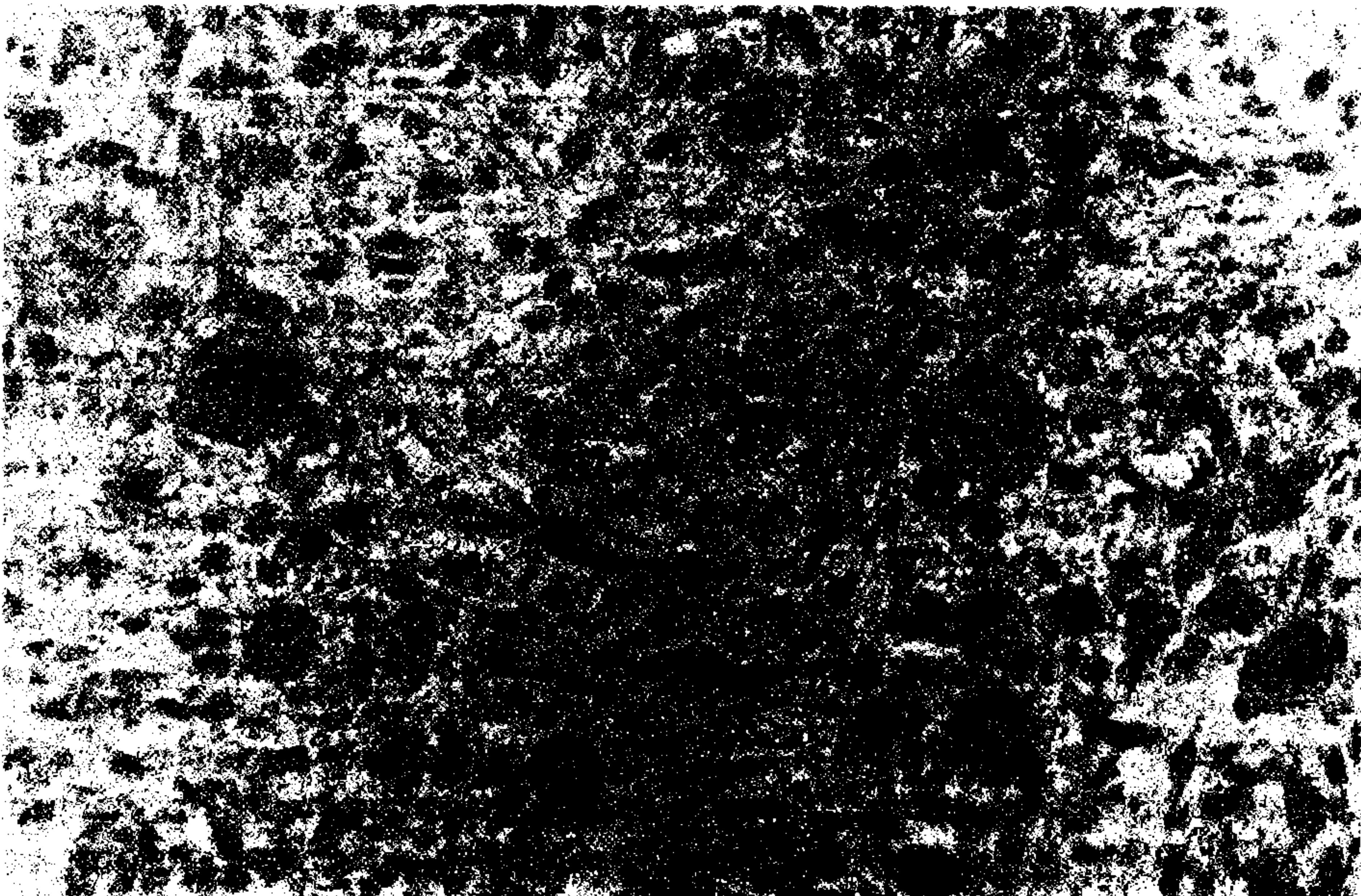
MFH basita pleiomorfik rhabdomyosarkom olmak üzere bir çok iğesi ve vakasının 11'inde AAT varlığıni gösterdi.

Bu galismamızda basita MFH olmak üzere bir çok yumusak doku ti-

## TARTISMA

varlığı (AEC X 400).

Resim 1. Malignt fibroz histiotom vakasında iğsi ve dev hücrelerde alfa-1-antitripsin



de AAT varlığını gösterdik. Bunlardan ikisi leiomyosarkom ve biri liposarkomdu. Bu tümörlerden liposarkomdaki boyanma fokal olmakla birlikte leiomyosarkom vakalarındaki boyanma hücrelerinin %50'sine yakınınu içermekteydi.

MFH'larda ultrastrüktürel ve immünohistokimyasal çalışmalarda myofibroblastik diferansiasyon tanımlanmıştır. Lawson ve ark. bu tümörlerde desmin pozitifliği bildirmektedir (10). Biz ise vakalarımızın hiçbirinde desmin varlığını gösteremedik. Bizi destekler şekilde daha önce rabdomiosarkom tanısı konmuş olup MFH olduğuna inanılan bazı tümörlerde de desmin varlığı gösterilememiştir (5).

Soini ve ark. MFH'larda AAT varlığının MFH'in histiositik natüründen kaynaklanmadığını, AAT varlığının diğer birçok karsinom ve melanomda da tümörlerdeki histiositik diferansiasyonla bağlantılı olmadığını ileri sürmektedirler (11). Roholl ve ark. ise MFH'daki fibroblastların AAT içermediğini göstermişlerdir (6). Bizim çalışmamızda yer alan 6 fibrosarkom vakasının hiçbirinde AAT varlığının gösterilememesi AAT pozitifliğinin histiositik orjini desteklediğini göstermektedir.

Hashimoto ve ark. 25 leiomyosarkom vakasının 4'ünde AAT varlığını göstermişlerdir (18). Biz de buna benzer şekilde 2 leiomyosarkom vakasında AAT ile pozitif boyanma saptadık. Bu tümörler pleomorfik tipte hücreler içermelerine rağmen diğer alanları leiomyosarkomun tipik görünümüne sahipti ve immünohistokimyasal olarak desmin varlığı göstererek myojenik orijini kanıtlanmıştır. Bu nedenle bu tümörler AAT içermelerine rağmen leiomyosarkom olarak değerlendirildi. Hashimoto ve ark. da az diferansiyel bir tümörü MFH olarak değerlendirmek için histiositik hücreler içermesinin yeterli bir koşul olmadığını ileri sürmektedirler (18).

Sonuç olarak, AAT'nin diğer antikorlarla birlikte kullanıldığında MFH ve diğer pleomorfik tipteki sarkomlar arasında ayırcı tanıda yardımcı olabileceği ve bu tümörlerde AAT varlığının gösterilmesinin MFH tanısını güçlendirdiği söylenebilir.

## KAYNAKLAR

1. Enjoji M., Hashimoto H.: *Diagnosis of soft tissue sarcomas*. Path Res Pract 178: 215-226, 1984.
2. Enzinger F.M., Weiss S.W.: *Soft Tissue Tumors*. 2nd. edition. St. Louis. The C.V. Mosby Company, 269-300, 1988.

3. Fletcher C.D.M., *Malignant fibrous histiocytoma*: Histopathology 11: 433-437, 1987.
4. Iwasaki H., Yoshitake K., Ohjimi Y., et al.: *Malignant fibrous histiocytoma*. Proliferative compartment and heterogeneity of "histiocytic" cells. Am J Surg Pathol 16: 735-745, 1992.
5. Molenaar W.M., Oosterhuis A.M., Ramaekers F.C.S.: *The rarity of Rhabdomyosarcomas in the adult*. A morphologic and immunohistochemical study. Path Res Pract 180: 400-404, 1985.
6. Rohol P.J.M., Kleyne J., Elbers H., et al.: *Characterization of tumour cells in malignant fibrous histiocytomas and other soft tissue tumours in comparison with malignant histiocytes*. I. immunohistochemical study of paraffin sections. J Pathol 147: 87-95, 1985.
7. Du Boulay C.E.H.: *Immunohistochemistry of soft tissue tumors*: A review. J Pathol 146: 77-94, 1985.
8. Miettinen M.: *Immunohistochemistry of soft-tissue tumors*. Possibilities and limitations in surgical pathology. Pathol Annu 25: 1-36, 1990.
9. Brecher M.E., Franklin W.A.: *Absence of mononuclear phagocyte antigens in malignant fibrous histiocytoma*. Am J Clin Pathol 86: 344-348, 1986.
10. Lawson C.W., Fisher C., Gatter K.C.: *An immunohistochemical study of differentiation in malignant fibrous histiocytoma*. Histopathology 11: 375-383, 1987.
11. Soini Y.B., Miettinen M.: *Alpha-1-antitrypsin and lysozyme*. Their limited significance in fibrohistiocytic tumors. Am J Clin Pathol. 91: 515-521, 1989.
12. Strauchen J.A., Dimitriu-Bona A.: *Malignant fibrous histiocytoma*. Expression of monocyte/macrophage differentiation antigens detected with monoclonal antibodies. Am J Pathol 124: 303-309, 1986.
13. Roholl P.J.M., De Jong A.S.H., Ramaekers F.C.S.: *Application of markers in the diagnosis of soft tissue tumors*. Histopathology 9: 1019-1035, 1985.
14. Russo J.: *Immunohistochemistry in tumor diagnosis*. In: Morales AR, Gould EW, Nadji M. Immunohistochemistry of soft tissue tumors. Boston. Martinus Nijhoff Publishing, p.372, 1985.
15. Hsu S.M., Raine L., Fanger H.: *The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics*. Am J Clin Pathol 75: 816-821, 1981.
16. Isaacson P., Wright D.H., Jones D.B.: *Malignant lymphoma of true histiocytic (monocyte/macrophage) origin*. Cancer 51: 80-91, 1983.
17. Du Boulay C.E.H.: *Demonstration of alpha-1-antitrypsin and alpha-1-antichymotrypsin in fibrous histiocytomas using the histiocytomas using the immunoperoxidase technique*. Am J Surg Pathol. 6: 559-564, 1982.
18. Hashimoto H., Daiamaru Y., Tsuneyoshi M., Enjoji M.: *Leiomyosarcome of the external soft tissues*. A clinicopathologic, immunohistochemical and electron microscopic study. Cancer 57: 2077-2088, 1986.