

69893

T.C.
Çukurova Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı

**MALİGN MEZOTELYOMA: MİNERALojİK ANALİZ,
ELEKTRON MİKROSKOPİ, HİSTOKİMYA VE
İMMÜNOHİSTOKİMYANIN TANI VE AYIRICI
TANIDAKİ ROLÜ (50 OLGULUK ÇALIŞMA)**

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. E. Handan ZEREN

Dr. Derya GÜMÜRDÜLÜ

UZMANLIK TEZİ

ADANA - 1998

T.C. YÜCELER YÖNETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

**Bu araştırma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu
tarafından desteklenmiřtir.
TF97U54**

**Bu çalışmaya destek ve katkılarından dolayı başta tez danışmanım Doç.
Dr. E. Handan Zeren olmak üzere, Prof. Dr. İlhan Tuncer, Prof. Dr. Victor
Roggli, Prof. Dr. Philip Cagle, Adana SSK Hastanesi patoloji bölümü doktorları
Dr. Nesibe Candevir, Dr. İnci Akçalı, Dr. Serdar zgr, Adana Numune
Hastanesi patoloji uzmanı İsmihan Türkoėlu, Onkoloji Bilim Dalı'ndan Prof. Dr.
Melek Erkiři, Göğüs Hastalıkları A.B.D'dan Prof. Dr. Ali Kocabař ve ..T.F.
Patoloji A.B.D. teknisyenlerine teřekkür ederim.**

İÇİNDEKİLER

1. Tablo Listesi	iii
2. Şekil Listesi	iv
3. Özet	v
4. Abstract	vi-vii
5. Giriş ve Amaç	1-2
6. Genel Bilgiler	3-30
7. Materyal ve metod	31-36
8. Bulgular	37-51
9. Tartışma	52-58
10. Sonuçlar	59-60
11. Kaynaklar	61-67
12. Ek tablo	68-69

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo no</u>	<u>Sayfa no</u>
Tablo I: Primer serozal tümörlerin histogenezlerine göre sınıflandırılması——	5
Tablo II: Asbest fibrillerinin kimyasal formülleri——	8
Tablo III: Asbest ile ilişkili plevra ve akciğer patolojileri——	10
Tablo IV: Malign mezotelyomanın ayırıcı tanısı ——	19
Tablo V: MM'nin TNM sistemine göre evrelendirilmesi——	26
Tablo VI: Elli MM olgusunun yaş grupları, cinsiyet ve histopatolojik subtiplerine göre dağılımı ——	38
Tablo VII: Olguların immünohistokimyasal ve histokimyasal boyanma sonuçları——	45
Tablo VIII: MM ve kontrol grubu olgularında histokimyasal ve immünohistokimyasal boyanma ve ki kare testi sonuçları ——	45
Ek Tablo I: Çalışmaya alınan olguların yaş, cinsiyet histopatolojik tanı dağılımı ve histokimyasal ve immünohistokimyasal boyanma sonuçları ——	68

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil no</u>	<u>Sayfa no</u>
Şekil 1: Asbest fibrillerinin sınıflandırılması	8
Şekil 2: Türkiye'deki MM olgularının coğrafik dağılımı	30
Şekil 3: MM olgularında histopatolojik subtip dağılımı	38
Şekil 4: Epitelyal MM olgusunda tubulopapiller patern	39
Şekil 5: Tübüler patern gösteren epitelyal MM	39
Şekil 6: Bifazik MM olgusunda adenoid kistik patern gösteren epitelyal komponent	40
Şekil 7: Sarkomatöz MM olgusunda içsi biçimli tümör hücreleri ve arada iltihabi hücreler	40
Şekil 8: Sarkomatöz MM'da yağ dokusu invazyonu	40
Şekil 9 : Epitelyal ve sarkomatöz MM'da keratin pozitifliği	41
Şekil 10 : Epitelyal MM'da EMA ile sitoplazmik ve belirgin membranöz boyanma	42
Şekil 11 : MOC 31 ile normal mezotel hücrelerinde pozitif boyanma	43
Şekil 12 : Adenokarsinoma olgusunda MOC 31 ile sitoplazmik ve ince membranöz boyanma	43
Şekil 13 : HBME-1 ile epitelyal MM'da sitoplazmik, kalın membranöz boyanma ve bronş epiteline pozitif boyanma	44
Şekil 14 : Epitelyal hücre sitoplazmalarında desmozomlar, intermedier filamentler ve glikojen partikülleri	46
Şekil 15 : Epitelyal hücre yüzeylerinde mikrovilluslar ve sitoplazmada organel zenginliği	47
Şekil 16 : Nonspesifik özellikler gösteren indifferansiye hücreler	47
Şekil 17: Akciğerde intertisyel hücre sitoplazmasında asbest fibrilleri	48
Şekil 18: Akciğer dokusunda ferriginöz cisimcikler	49
Şekil 19: Tremolite asbest fibrilinin EDXA grafiği	51
Şekil 20: Actinolite asbest fibrilinin EDXA grafiği	51

1.ÖZET

Türkiye’de asbest ve asbest benzeri fibrillerin inhalasyonu sonucu gelişen malign mezotelyoma (MM) olgularının çoğu çevreseldir. Literatürde, bu önemli problemi detayları ile vurgulayan çalışma sayısının azlığı ise dikkat çekicidir.

Bu çalışmada Ç.Ü.T.F Patoloji Anabilim Dalı, Adana SSK ve Numune Hastaneleri ve özel bir patoloji laboratuvarında tanı almış MM olguları yeniden değerlendirilmiş, histopatolojik subtipleri belirlenmiş, olanaklar çerçevesinde hasta takipleri yapılmıştır. Bir plevral fibröz plak olgusu da çalışmaya dahil edilmiştir. Aynı zamanda akciğer doku örnekleri mevcut olan olgularda EDXA ile mineralojik analiz yapılarak fibril tipi saptanmıştır. Dört olguda elektron mikroskopik inceleme yapılmış, tüm olgulara tanıya yardımcı histokimyasal (PAS, D-PAS, müsikarmen) ve immünohistokimyasal (keratin, EMA, CEA) yöntemler yeni kullanıma girmiş bazı antikorların da (MOC 31, HBME-1) eklenmesi ile uygulanmıştır. Çalışmada kontrol grubu olarak 20 adenokarsinoma olgusu kullanılmıştır.

Olguların 36’sı epitelyal, yedisi bifazik, altısı sarkomatöz ve biri de desmoplastik tip olarak sınıflandırılmıştır. Takipleri olan on olguda ortalama yaşam süresi 14 ay olarak saptanmıştır. Mineralojik analiz sonucunda, üç olgudan ikisinde tremolite, actinolite, birinde ise bu iki fibril yanısıra erionit de bulunmuştur. Ultrastrüktürel incelemede MM epitelyal hücrelerinin uzun, ince mikrovilluslarının olduğu, hücre bağlantılarının iyi geliştiği ve intrasitoplazmik glikojen partikülleri içerdikleri görülmüştür. Yapılan çalışmalarda CEA, MOC 31, D-PAS ve müsikarmenin adenokarsinomalarda, HBME-1’in ise MM’da istatistiksel olarak anlamlı sonuç verdikleri, dolayısıyla ayırıcı tanıdaki önemleri ortaya konmuştur.

Malign mezotelyoma ve adenokarsinoma ayırıcı tanısında hiçbir antikorun tekbaşına yeterli olmadığı, panel uygulamasının gerekliliği yanısıra klinik-radyolojik- patolojik korelasyonun önemi bu çalışma ile irdelenmektedir.

Anahtar kelimeler: Malign mezotelyoma, mineralojik analiz, elektron mikroskopi, histokimya, immünohistokimya

ABSTRACT

Malignant mesothelioma: The role of mineralogical analysis, electron microscopy, histochemistry and immunohistochemistry in differential diagnosis (A study on 50 cases)

Environmental exposure to asbestos and asbest-like fibers is a major cause in the development of malignant mesothelioma(MM) in Turkey. However, a literature review showed the ignorance of such an important problem.

In this study, 50 cases diagnosed as MM in three major hospitals and one private laboratory have been reviewed, reclassified histologically and follow- ups of the patients have been observed by contacting the patients and their families. A pleural fibrous plaque was also included in this series. Twenty cases of adenocarcinomas were used as controls. Lung tissues obtained in three patients have been analyzed mineralogically by using an EDXA (energy dispersive X-ray analysis) technique. Ultrastructural examination was available in four cases. Histochemical (PAS, D-PAS,Mucicarmen) and immunohistochemical (keratin, EMA, CEA) stains with an additional recently published antibodies (MOC 31, HBME-1) have been performed to each case.

Thirty-six cases were classified as epithelial MM, whereas seven cases were diagnosed as biphasic, six as sarcomatous and one as desmoplastic MM. The mean survival time of ten cases was 14 months. Mineralogical analysis on three cases revealed tremolite, actinolite type of asbestos fibers with an additional erionite fibers in the pleural plaque case. Ultrastructural examination showed long and thin microvilli, well-developed cell junctions, and intracytoplasmic glycogen particles in epithelial MM cells. Immunohistochemical studies pointed statistically significant results for CEA, MOC 31, d-PAS and mucicarmen in adenocarcinomas, whereas HBME-1 was a significant marker for MMs.

In this study, it can be concluded that environmental asbestosis is a common problem in southern Turkey that should not be ignored. We also showed that in the diagnosis of MM, any single antibody is not sufficient and a panel of antibodies must be used.

Keywords: Malignant mesothelioma, mineralogical analysis, electron microscopy, histochemistry, immunohistochemistry



2.GİRİŞ VE AMAÇ

Malign mezotelyoma (MM), plevra, periton ve perikard gibi seröz zarların mezotelyal hücre kökenli primer, diffüz malign tümörüdür. Etiyolojide en önemli faktör asbest ve asbest benzeri fibril inhalasyonudur. Asbest ve asbest benzeri fibriller, MM yanısıra plevral efüzyon, diffüz plevral fibrozis, fibröz plak, akciğerde diffüz intertisyel fibrozis ve akciğer karsinomu gibi patolojilere de neden olmaktadır.^{34,,35,56}

Ülkemizde çevresel asbest ve asbest benzeri fibrillere bağlı MM ve diğer patolojiler üzerinde en fazla çalışmayı Barış ve arkadaşları yapmışlardır. Bu araştırmacılar, İç Anadolu'da Kapadokya bölgesi yanısıra Konya Ereğlisi, Yozgat, Eskişehir, Çankırı gibi bazı yörelerde çalışmalar yapmışlar, bazı toprak, ev badana ve sıva örneklerinde mineralojik analiz ile erionit, chrysotile, actinolite ve crocidolite saptamışlardır.^{5,6,7,8,9,11,60} Diyarbakır yöresinde ise Yazıcıoğlu ve arkadaşlarının^{74,75} özellikle Çermik ilçesinde yapmış oldukları çalışmalar literatürde yer almaktadır.

Son derece malign bir tümör olan malign mezotelyoma ile ilgili diğer bir problem ise bu tümör ile plevral invazyon oluşturan diğer malign tümörler arasındaki ayırıcı tanı güçlüğüdür. Bu amaçla elektron mikroskopik, histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılmaktadır.^{13,15,35}

Bu çalışmada, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Adana'nın diğer iki büyük hastanesine, Güney ve Güneydoğu Anadolunun çeşitli illerinden gelen MM olguları tekrar değerlendirilmiş ve histopatolojik subtipleri belirlenmiştir. Üç olgunun akciğer dokusuna mineralojik analiz uygulanmıştır. Dört olguda elektron mikroskopik çalışma yapılmıştır. Ayrıca 20 akciğer adenokarsinomu ve plevral metastaz olgusu kontrol grup olarak çalışmaya dahil edilmiş, olgulara PAS, D-PAS, müsikarmen özel boyaları ve keratin, CEA, MOC 31, EMA, HBME-1 monoklonal antikorları uygulanmıştır. Bu

özel boya ve antikorların MM tanı ve ayırıcı tanısındaki yeri ve önemi araştırılmıştır.

Bu çalışmada amacımız, Güney ve Güneydoğu Anadolu bölgesindeki çevresel asbestozis problemine dikkat çekmek ve MM tanısına yardımcı olabilecek yöntemleri yeni literatür bilgileri ışığında gözden geçirmektir.



3.GENEL BİLGİLER

3.1. Plevranın anatomi ve histolojisi

Plevral kavite, mezoderm orijinli seröz kavitelerden biri olup embriyolojik olarak çöломik kaviteden gelişir.^{13,57}

Plevranın, interlober fissürleri de içerecek şekilde akciğerleri bütünüyle saran kısmı visseral plevra; torasik duvarı, mediasten lateral bölümünü, torasik girintileri, diyafragmanın torasik yüzeyini örten kısmı da parietal plevradır. Visseral ve parietal plevralar akciğer hilusunda birleşirler.¹³

Visseral plevra bronşial arterlerden, parietal plevra sistemik sirkülasyondan (interkostal, internal mamarial, frenik arterlerden) kanlanır. Venöz dönüş de buna paralel seyreder. Her iki plevranın da yoğun lenfatik pleksusları vardır. Visseral plevranın lenfatikleri hiler; anterior parietal plevranınkiler interkostal lenf nodlarıdır. Diyafragmatik plevranın lenf akımı alt mediastinal lenf nodlarına, alt parietal plevranın lenfatikleri adrenal ve böbrek bölgesindeki retroperitoneal lenf nodlarına olur. Akciğer parankiminden visseral plevraya doğru, lenfatiklerdeki valvler aracılığı ile oluşan bir lenf akımı vardır. Bu, akciğerdeki tümörlerin visseral plevraya yayılımını açıklar.¹³

Visseral plevrayı N.Vagus ve sempatik kökler innerve eder ve ağrı liflerinden yoksundurlar. Parietal plevraya interkostal sinirlerden duyusal lifler gelir. Diyafragmanın santral bölgesini frenik sinir, alt interkostal ve karın duvarı sinirleri innerve ederler. Malign mezotelyomanın (MM) sık izlenen bir bulgusu olan göğüs ağrısı, parietal plevranın irritasyonu ve inflamasyonu sonucu ortaya çıkar.¹³

Bütün seröz membranlar bazal membran üstünde tek sıralı mezotelyal hücreler ve değişik kalınlıkta konnektif dokudan oluşan submezotelyal tabakadan oluşur. Mezotelyal hücreler 16-40 mikron çapında, geniş sitoplazmalı, santralde yerleşmiş yuvarlak nukleus ve küçük bir nukleolus

içeren hücrelerdir. Submezotelyal tabakadaki konnektif doku kollajen, elastik lifler, fibroblast benzeri hücreler, lenfatik ve kapillerler içerir.^{3,57}

Elektron mikroskopik (EM) olarak; mezotel hücre sitoplazması, granüllü endoplazmik retikulum, glikojen partikülleri ve orta derecede mitokondria içerir. Hücreler birbirine desmosomlarla bağlanmıştır. Mezotel hücreleri arasında "stomata" adı verilen boşluklar vardır. Bu hücrelerin en önemli özelliği yüzeylerinde uzun ve silendir şeklinde mikrovilluslar içermeleridir. Mikrovilluslar normal şartlarda 3 mikron uzunluğunda, 0.1 mikron çapındadırlar. İki plevra yaprağı arasında, respirasyon sırasında sürtünmeyi azaltan hiyalürinik asit için geniş yüzey oluşturdıkları öne sürülmektedir. İncinme ile ortaya çıkan mezotel hücre hipertrofi ve hiperplazisinde mikrovillusların uzunlukları da artar.^{13,28}

Visseral ve parietal plevralar arası boşluk 5-10 mikron genişliktedir. Burada glikozaminoglikanlar özellikle hiyalürinik asit içeren bir sıvı ve serbest hücreler bulunur. Serozal kapillerlerdeki hidrostatik basınç ve kolloidal osmotik basınç kandan plevral boşluğa sıvı taşınmasında etkilidir. Plevral sıvının %10-20'si parietal plevranın lenfatiklerine geçer. Büyük moleküller, özellikle proteinler direkt olarak lenfatiğe geçerler. Lenf akımının çeşitli partiküller, fibrozis veya neoplasmlar ile bloke olması plevral efüzyona neden olur.¹³

3.2. Mezotel hücre hiperplazisi ve fibrozis

Mezotel hücre hiperplazisi ve fibrozis kalıcı serozal incinmelerde sık görülen reaksiyonlardır. Küçük biyopsi materyallerinde, mezotel hücre hiperplazisini epitelyal tip mezotelyomadan, skar dokusunu fibröz veya desmoplastik mezotelyomadan ayırt etmek güçtür. Hiperplastik mezotel hücreleri, genellikle büyük, sitoplazma dansitesi ve nukleus sitoplazma oranı artmış, sitoplazmik vakuolizasyon içeren hücrelerdir. Nükleer kromatinleri düzensizdir. Psödoglandüler yapılar oluşturabilirler. Binükleasyon ve bazen mitoz içerirler. Bu sitolojik özellikler iyi diferansiye mezotelyomalarda da görülür ve ayırıcı tanıda sorun yaratır. Hipersellülarite, belirgin atipi ve invazyon lezyonun neoplastik olduğunu gösterir. Prolifere mezotel hücreleri atipi içeriyor

ancak invazyon göstermiyorsa atipik mezotel hücre hiperplazisi deyimi kullanılır^{13,15,35}

Son yıllarda yapılan çalışmalar p53 tümör supressör gen mutasyonunun mezotelyomaların büyük bir kısmında bulunduğunu, hiperplastik mezotel hücrelerinde ise olmadığını göstermiştir. İmmünohistokimyasal yöntemle p53 proteinine karşı oluşan pozitif reaksiyonun gösterilmesi tanıda oldukça önemlidir.¹⁹

3.3. Primer serozal tümörler

Primer serozal tümörler diffüz ve lokalize olmak üzere iki gruba ayrılır. Diffüz tümörler mezotel hücrelerinden köken alır; sıklıkla epitelyal ve hemen tamamı maligndir. Lokalize tümörler submezotelyal konnektif dokudan gelişir; genellikle fibröz ve benignidir (Tablo I).¹³

Tablo I: Primer serozal tümörlerin histogenezlerine göre sınıflandırılması¹³

I. Lokalize Tümörler

A. Mezotel hücre kökenli tümörler

1. Adenomatoid tümör
2. Benign kistik mezotelyoma(multiloküler peritoneal inklüzyon kisti)
3. Mezotelyal kist
4. Lokalize MM

B. Submezotelyal doku kökenli tümörler

1. Lokalize fibröz tümör
2. Malign fibröz tümör
3. Anjioma, anjiosarkoma
4. Diğer yumuşak doku tümörleri

II. Diffüz Tümörler

A.Mezotelyal

1. Malign mezotelyoma
2. Peritonun seröz papiller karsinomu
3. Peritonun borderline seröz papiller karsinomu
4. İyi diferansiye papiller mezotelyoma, periton
5. Kistik malign mezotelyoma

B.Submezotelyal

1. Anjiosarkom
2. Epiteloid hemanjiyoendotelyoma

3.4. Malign mezotelyoma

Plevra, periton, ve perikard gibi seröz zarların mezotel hücre kökenli, primer, diffüz malign tümörüdür. Seröz zarların tümörleri 19. yüzyılda endotelyoma, endotelyal kanser, plevral kanser, plevral sarkom olarak tanımlanmıştır. Mezotelyum terimi ilk olarak 1890'da Minot, mezotelyoma terimi ise 1909'da Adami tarafından kullanılmıştır.¹³

3.4.1.Etiyoloji ve patogenezi: En önemli etiyolojik faktör asbest ve asbest benzeri fibrillerin inhalasyonudur. MM ve asbest birlikteliği 1960'ta Wagner ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Bu araştırmacılar Güney Afrika'dan crocidolite asbestin neden olduğu plevral mezotelyoma serisi bildirmişlerdir.^{13,33,38,70}

Asbest patogeneziinde iki mekanizma söz konusudur:

1. Hücreler ile asbest fibrillerinin direkt etkileşimi.

2. Makrofajlar tarafından salgılanan kimyasal mediatörler ve sitokinlerin indirekt etkisi. (Alveoler ve intertisyel makrofajlardan salgılanan kemotaktik faktörler ve fibronektin, trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), insüline benzeyen büyüme faktörü 1 (IGF-1) gibi spesifik fibrojenik sitokinlerin oluşturduğu hasar).^{13,41}

Karsinogenezde asbest fibrillerinin boyutu ve şekli çok önem taşır. Sekiz mikrondan uzun, 0.25 mikrondan küçük çaplı ince fibriller kısa ve kalın olanlara göre daha potent karsinojendir. Diğer faktör fibrillerin uzun ve latent period boyunca akciğer ve plevradaki dayanıklılığıdır. Chrysotil fibriller zamanla çözünür veya parçalanırken, amphiboller kalıcıdır.^{13,16,33,34,35,37,54,76}

Asbestin sitotoksik, genotoksik ve proliferatif etkileri kısmen aktif oksijen türleri aracılığı ile ortaya çıkar. Bu reaktif oksijen metabolitleri karsinojenik uzun fibrillere cevap olarak fagositik hücreler tarafından üretilir ve fibröz yüzeylerde demir ile katalize edilir. Fibrillerin demir içeriğinin artması kronik inflamasyon ve proliferasyon oluşmasını artırır. Kısa fibriller nispeten daha az aktiftir. Demir varlığı asbest sitotoksitesinde, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarında oldukça kritik ve gerekli bir faktördür. Asbest fibrilinden demirin mobilizasyonu biyolojik etkilerini artırır.^{13,35,50}

Asbest hem kromozomal bozukluklara hem de morfolojik değişikliklere neden olur. MM'da kromozom 1, 3, 6, 9 ve 22'de kayıp ve/veya delesyonlar vardır. Kromozom 9p21'de bulunan p15 ve p16 tümör supressör genlerinde delesyonun spindle hücre morfolojisi ile birlikteliği saptanmıştır. Sarkomatoid ve bifazik malign mezotelyomada görülmektedir.^{38,73}

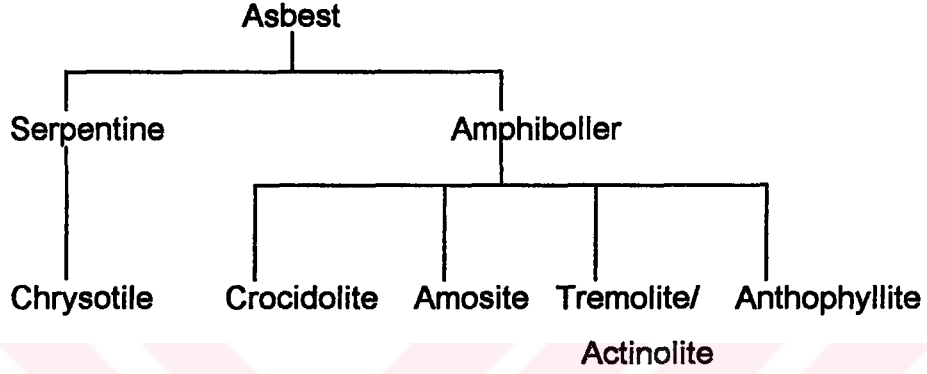
Asbest, doza bağımlı olarak c-fos ve c-jun protoonkogen salınımını da artırmaktadır. Crocidolit asbest chrysotile göre daha potentdir.³⁷

Sigara ve asbest akciğer karsinomu oluşumunda birbirlerinin etkilerini artırmaktadır. Ancak MM'nın sigara ile ilişkisi saptanmamıştır.^{13,56}

3.4.2. Asbest ve asbest benzeri fibriller

Fibriller doğal ve sentetik olmak üzere 2 ana gruba ayrılır. Doğal grupta asbest ailesi ve attapulgit, sepiolite ve zeolit (erionit) gibi asbest benzeri fibriller vardır. Sentetik grupta glass fibril, rock wool, slag wool, seramik fibriller gibi 70'ten fazla mineral bulunur.^{11,13,70}

Asbest ailesinde 2 ana grup vardır (şekil 1).



Şekil 1: Asbest fibrillerin sınıflandırılması

Chrysotile, crocidolite ve amosite endüstride yaygın olarak kullanılır. Asbest fibrillerinin kimyasal, fiziksel ve biyolojik özellikleri farklıdır.¹³ (Tablo II)

Tablo II. Asbest fibrillerinin kimyasal formülleri¹³

Asbest Tipi	Kimyasal Formül
Chrysotile	$Mg_3 Si_2 O_5 (OH)_4$
Crocidolite	$Na_2 Fe_{3++} Fe_{2+++} Si_8 O_{22} (OH)_2$
Amosite	$(Fe-Mg)_7 Si_8 O_{22} (OH)_2 Fe >_5$
Tremolite	$Ca_2 Mg_5 Si_8 O_{22} (OH)_2$
Anthophyllite	$(Mg-Fe)_7 Si_8 O_{22} (OH)_2 Mg >_6$
Actinolite	$Ca_2 Mg Fe_5 Si_8 O_{22} (OH)_2$

Chrysotile: Zayıf karsinojenik veya nonkarsinojeniktir. Chrysotile ile MM oluşumu bazı chrysotile yataklarının tremolite ile kontamine olmasına bağlanmıştır. Yalnızca chrysotile bağlı MM oluştuğunu bildiren çalışmalarda olgu sayısı yeterli değildir.^{33,35,67}

Crocidolite: Asbest tipleri içinde en karsinojenik olanıdır. İnsidansı % 5.1'dir. İlk olarak Wagner ve arkadaşları Güney Afrika'dan crocidolite bağlı MM vakaları bildirmişlerdir. İngiltere'deki MM'ın çoğundan crocidolite sorumludur.^{13,33,35,70}

Amosite: Mezotelyomaların % 1.9'unu oluşturur. Crocidolitten daha az karsinojeniktir. Amosite bağlı MM'ın çoğu peritonealdir.^{33,35}

Tremolite / Actinolite: Ticari değeri çok azdır. Sıklıkla chrysotil, vermicullit ve talc gibi diğer mineraller ile kontamine olarak bulunur. Bu fibriller hem çevresel hem de mesleki mezotelyomalara yol açar. İ. Barış ve arkadaşları,^{6,7} Çankırı'nın Çaparkayı köyünden 4 mezotelyoma vakası bildirmişler, bir hastaya ait akciğer dokusunda ve duvar sıva örneklerinde tremolite saptamışlardır. Yazıcıoğlu ve arkadaşları,⁷⁵ Diyarbakır'da yaptıkları çalışmada bir hastanın akciğer biyopsisinde tremolite saptamışlardır,^{13,35}

Anthophyllite: Mezotelyoma oluşturma potansiyeli düşüktür. Diğer amphibollerden daha büyük fibrillerdir.^{13,33}

3.4.3.Malign mezotelyomanın diğer nedenleri

Erionit: Asbest benzeri bir mineral olan zeolitin fibröz formudur, volkanik taşlarda bulunur. Ülkemizde Kapadokya yöresindeki Tuzköy, Sarıhıdır ve Karain köylerinde MM, akciğer kanseri, diffüz plevral kalınlaşma, lokal plevral fibrozis, plevral kalsifikasyon, plevral efüzyon, diffüz akciğer fibrozisinin yüksek oranda görüldüğü, özellikle MM'nın genel popülasyona göre 1000 kat fazla olduğu saptanmıştır. Toprakta, ev badana ve sıvalarında, hastalardan alınan akciğer ve plevra örneklerinde yüksek oranda erionit bulunmuş ve bu köylere "erionit köyleri" adı verilmiştir. Erionit asbestten daha potent bir karsinojendir.^{2,3,5,8,9,10,60,70}

Sentetik mineral fibrilleri: Asbestten daha karsinojeniktir.³⁵

Familial mezotelyoma: Bazı yayınlarda aynı ailede iki veya daha fazla MM olgusu bildirilmiştir. Bu ailelerde tek aile bireyi dışında mesleki asbest inhalasyonu öyküsü saptanmamıştır. İş elbiselerinin eve getirilmesinin asbest ile temasa neden olduğu düşünülmekle beraber MM'ya genetik yatkınlığın olduğu da öne sürülmektedir.^{33,35,36,38}

Kronik inflamasyon ve skar: Kronik ampiyem ve pnömotoraksa sekonder gelişen plevral skar dokusunda yıllar sonra MM gelişebilir.³⁵

Radyoterapi: Radyoterapiye sekonder yıllar sonra MM gelişmiş vakalar bildirilmiştir.³⁵

Herbisidler: Bitki ilaçlarının da MM'yı başlattığı düşünülmektedir.³⁵

Virüsler: Günümüzde yapılan deneysel çalışmalarda simian virus 40 (SV 40)'ın hayvanlarda MM oluşumunu indüklediği saptanmıştır. Bu konuda çalışmalar halen sürmektedir.²⁰

3.4.4.Asbest ile ilişkili diğer patolojiler

Asbeste maruz kalma, MM dışında, plevra ve akciğerde diğer bazı patolojilere de neden olur (Tablo III).

Tablo III: Asbest ile ilişkili plevra ve akciğer patolojileri

- Malign mezotelyoma
- Plevral efüzyonlar
- Diffüz plevral fibrozis
- Fibröz plaklar
- Akciğerde diffüz intertisyel fibrozis (Asbestozis)
- Akciğer kanseri

Plevral efüzyonlar: Asbeste maruz kaldıktan sonra ilk on yıl içinde görülen en yaygın lezyonlardır. Tek veya iki taraflı oluşabilir. Sıklıkla bir tarafta oluşuktan sonra diğer tarafta da görülür. Genellikle asemptomatiktir ancak sıvı miktarı çok fazla ise nefes darlığı ortaya çıkar. Sıvı eksuda niteliğinde ve hemorajiktir. Hastaların % 25'inde eozinofili saptanır. Efüzyonlar genellikle

nüks eder. Üç ile altı ayın sonunda rezolüsyon veya kronik plevral kalınlaşma gelişebilir. ^{34,35,56}

Diffüz plevral fibrozis: Tipik olarak visseral plevrada görülür. Tek veya iki taraflı görülebilir. Plevranın kalınlığı beş mm'ye ulaşabilir. Tüm akciğeri çevreler ve fissürler içine uzanabilir. Parietal ve visseral plevra arasında yapışıklıklar mevcuttur ve plevral boşluk oblitere olabilir. Diffüz plevral fibrozis direkt mezotelyal hasar sonucu veya efüzyonların sekeli olarak ortaya çıkar. Mikroskopik olarak yoğun kollajenöz doku ve lenfosit, makrofaj, plazma hücrelerinden oluşan kronik inflamatuvar hücreler görülür. ^{34,35,56}

Plevral fibröz plak : Asbeste bağlı, en sık görülen benign plevral lezyondur. Plaklar, tipik olarak parietal plevrada göğüs duvarının alt kısmının posterolateral yüzünde ve diyafragmanın üst kısmında oluşur. Bilateral plaklar asbeste maruz kalmanın patognomonik bulgusudur. Tek taraflı plaklara da neden olabilir, ancak bu durumda öncelikle organize hemotoraks, eskimiş ampiyem veya tüberküloz plöritis düşünülmelidir. Plakların boyutları değişkendir, altı cm çapta veya daha büyük olabilir. Yüzeyi düz veya nodüler olabilir. ^{13,34,35,40,56,57}

Mikroskopik olarak yoğun ,hiyalinize kollajen doku hücreden fakir veya asellülerdir. Lenfositlerden oluşan küçük odaklar ve yüzeyde fibrin görülebilir. Kalsifikasyon odakları yaygındır. Işık mikroskobu ile plaklarda asbest cisimcikleri görülmez ancak çıplak fibriller elektron mikroskobu ile saptanabilir. Plevral plakların MM'nin öncü lezyonu olduğunu gösteren bulgu yoktur. ^{13,34,35,40,58}

Akciğerde diffüz intertisyel fibrozis (Asbestozis): Asbestozis, akciğer parankimi içinde, asbest fibrillerinin inhalasyonu ve birikimi sonucu oluşan bir pnömokonyozdur. Diğer patolojilerde olduğu gibi 15 yıl ve daha uzun süren bir latent period vardır. Klinik olarak nefes darlığı, öksürük, akciğer bazalinde raller, ilerlemiş olgularda parmaklarda çomaklaşma, siyanoz, takipne görülür. Bazı hastalar asemptomatik olabilir. ^{34,41,58}

Radyolojik olarak akciğer tabanında daha belirgin olmak üzere, küçük düzensiz opasiteler görülür. Akciğerde bal peteği görünümü, plevrada diffüz

fibrozis ve plaklar da bulunabilir. Akciğer fonksiyon testleri restriktif patern gösterir. Vital kapasite, diffüzyon kapasitesi ve total akciğer kapasitesi azalmıştır.^{34,56}

Makroskopik olarak, erken dönemlerde normal ancak ileri dönemlerde küçük, sert, fibrotik ve bal peteği görünümündedir. Fibrotik alanlarda kistik değişiklikler vardır.^{34,56}

Mikroskopik olarak, respiratuar bronşiol duvarında fibrozis görülür. İleri dönemlerde terminal bronşiolde, alveol duvarlarında, septumda, visseral plevra ve perivasküler alanlarda da fibrozis gelişir. Fibrotik duvarlı, kuboidal epitel ile döşeli kistik boşluklar bal peteği görünümü oluşturur. Bu boşluklar muköz sekresyon ile doludur. İntertisyumda ve alveoller içinde asbest cisimcikleri bulunur. Asbest cisimcikleri asbest inhalasyonunun bir göstergesidir. Demir, protein ve mukopolisakkarid bir madde ile kaplı fibrillerdir. Dokuda altın sarısı - kahve renkte, boncuk, halter veya davul tokmağı şeklinde görülür. Demir içerdikleri için prusya mavisi histokimyasal boyası ile pozitif boyanırlar. Ortalama beş mikron çapında, 20 mikron boyundadırlar. Asbest cisimcikleri korlarının şeffaf, fibröz görünümleri karakteristiktir, diğer feriginöz cisimciklerden ayırmada önemlidir.^{22,34,40,41,56}

Ayırıcı tanıda diğer mineraller ile oluşan fibrozis, idiopatik pulmoner fibrozis, deskuamatif intertisyel pnömonitis, radyoterapi ve sitotoksik ilaçlara sekonder gelişen fibrozis yer almaktadır. Dokuda asbest cisimciklerinin görülmesi ve mineralojik analiz yardımcıdır.^{34,40,56}

Akciğer kanseri: Asbeste maruz kalma ve sigara akciğer kanseri oluşturmada sinerjik etkilidirler ve birbirlerinin etkilerini artırır. Sigara ve asbest birlikteliğinde normal popülasyona göre 55 kat fazla akciğer kanseri oluşmaktadır. Asbestin akciğer kanseri oluşturma etkisi doza bağlıdır. Akciğer kanseri gelişen hastaların çoğunda asbestozis vardır.^{13,34,56}

Sigara öyküsü olmaksızın asbeste bağlı akciğer kanseri gelişme riski de normal popülasyona göre beş kat fazladır. Asbeste bağlı olarak akciğerde skuamöz hücreli, küçük hücreli, büyük hücreli karsinoma ve adenokarsinoma

gelişir. Herhangi bir histopatolojik tipin daha fazla görüldüğüne dair yeterli bulgu yoktur.^{34,40,56}

Abeste bağlı olarak gastrointestinal sistem, larinks, böbrek, karaciğer, pankreas, over ve hemopoetik sistem maligniteleri de görülebilir.^{13,56}

3.4.5.Klinik:

Malign mezoyelyoma genellikle 50-70 yaş arasında görülür, erkeklerde daha sıktır. Çocuklarda nadir olup literatürde 80 vaka bildirilmiştir. Asbeste maruz kalma ile MM gelişimi arasında 10-70 yıl ortalama 30-40 yıllık bir latent periyod vardır. MM'nin %65-75'i plevrada, %25'i peritonda, %2 perikard ve çok az bir kısmı tunika vaginalis testiste gelişir.^{13,15,35,40,41}

Hastalığın başlangıcı sinsidir. Plevral efüzyona bağlı nefes darlığı ve göğüs ağrısı ilk semptomlardır. Öksürük, kilo kaybı, ateş de bulunur. Bazı hastalarda kronik plörezi, spontan pnömotoraks, kitle olmaksızın milier yayılım veya aynı taraf supraklavikuler lenf nodlarında büyüme görülebilir. Daha az görülen semptomlar üşüme, terleme, yorgunluk, güçsüzlük, anoreksi, göğüste dolgunluk ve ağırlık hissi, disfaji, ses kısıklığı, miyalji, abdominal distansiyon, sağ üst kadranda basınç hissi, taşikardi, baş ağrısı, bulantı, ağızda kötü tad ve balgam çıkarmadır. Hastalığın ileri dönemlerinde göğüs duvarının infiltrasyonuna bağlı ağrı sık görülür.^{13,15,35,40,41,57}

Fizik muayenede plevral efüzyon veya kitleye bağlı bulgular saptanır. Efüzyon fazla ise mediasten karşı tarafa itilir. Geç dönemde ise mediastinal çekilme olur. Hastaların %10'nunda plevral efüzyon olmaksızın tümörün radyolojik bulgusu vardır. Akciğer grafilerinde ve bilgisayarlı tomografide diffüz, nodüler veya irregüler plevral kalınlaşma, hiler veya mediastinal kitle veya akciğer orijinli gibi görünen kitleler vardır. Radyolojik görünüm kısa süre içinde belirgin değişiklik gösterebilir. Plevral plaklar sıktır. Efüzyonlar genellikle kanlı ve masiftir, sık sık boşaltmak gerekir. Hastalığın ileri dönemlerinde plevranın ileri derecede kalınlaşması ve plevral kavitenin obliterasyonu ile efüzyonlar azalır. Bazı durumlarda tümör göğüs duvarında bir kitle olarak bulunur veya pancoast tümörünü taklit eder. Geç dönemde tümör peritoneal, perikardial

kavitelere, karşı taraf plevral boşluğa ve mediastene yayılır. Superior vena kava obstrüksiyonu, frenik veya servikal sinir tutulumu görülebilir.^{13,35,40}

Peritoneal MM'da asbeste maruz kalma daha uzun ve ağırdır, fakat istatistik olarak belirgin düzeyde değildir. Peritoneal mezotelyoma hemen daima asbestozis ile birlikte.^{13,35}

Peritoneal MM'nın klinik gidişi, erken dönemde plevral MM'dan daha az spesifiktir. Abdominal rahatsızlık, ağrı ve gastrointestinal bozukluklar erken bulgulardır. Asit sık görülür. Lokalize abdominal kitleler palpe edilebilir. İntestinal obstrüksiyon geç dönemde oluşur. Peritonun diffüz kalınlaşması ve mezenterde çok sayıda nodül veya kitle olabilir. Ekstraperitoneal yayılım nadirdir, tümör herni kesesinde veya uzaktaki lenf nodunda bulunabilir.^{13,35}

3.4.6. Patoloji

Makroskopik özellikler

Plevral MM sağ plevral kavitenin daha geniş olmasından dolayı, sağ tarafta daha sık görülür. Genellikle başlangıçta tek taraflıdır. Aynı anda bilateral plevral tümörler nadirdir.³⁵

Erken dönemde parietal plevrada sert, gri-beyaz renkte multipl tümör odakları vardır. Başlangıçta ince birikimler veya küçük nodüller şeklindeyken zamanla bu odaklar birleşir, büyür ve akciğeri örter. Tümör sıklıkla nodülerdir ve birkaç cm kalınlıktadır. Tümör kitlesinin büyümesi ile plevral kavite oblitere olur ve tümörün oijinini saptamak zorlaşır. Geç dönemde perikard, miyokard, mediasten, ve göğüs duvarı infiltrasyonu sıktır. Otopsi yapılan vakaların 1/3'ünde peritoneal tutulum saptanmıştır. Karşı taraf plevral kavitenin tutulumu sık değildir ancak görülebilir. Tümör ana bronşları, aorta ve özefagusu çevreler.^{13,35}

Tümörün yayılımı histolojik tipine bağlıdır. Epitelyal mezotelyomalar mediastinal, abdominal, servikal ve aksiller lenf nodlarına metastaz yapar. Hematojen yayılım sarkomatöz mezotelyomalarda daha yaygındır. Beyin, karaciğer, böbrek, pankreas, sürrenal, vertebra ve karşı taraf akciğere metastaz görülür. Karaciğer direkt invazyon ile de tutulabilir.^{13,35}

Peritoneal mezotelyomayı, peritonitis karsinomatozadan ayırmak zordur. Tümör genellikle multinodülerdir. Omentum, alt abdominal kavite ve pelviste 25 cm'nin üstünde çok büyük kitleler oluşturur. Diffüz peritoneal kalınlaşma ve plaklar da sık görülür. Geç dönemde karaciğer ve dalağı örter, yaygın visseral yapışıklıklar vardır. Peritoneal kavite oblitere olur. Karaciğer kapsülüne ve daha az sıklıkla retroperitoneal bölgeye infiltrasyon görülür. Plevral kaviteye yayılım nadirdir. Karın duvarına invazyon sık değildir, genellikle laparotomi veya laparaskopi skarına bağlıdır. Abdominal, inguinal, torasik ve aksiller lenf nodlarına, karaciğer ve akciğere metastaz yaparlar.^{13,35}

Perikardial MM primer olarak sık değildir. Genellikle plevradan yayılım sonucu oluşur. Perikardial MM'da hem visseral hem de parietal perikard tutulur. Kalbi tümüyle sarar. Miyokardda fokal invazyon vardır. Endokard tutulumu yoktur. Plevra ve mediastene yayılım sıktır.^{13,35}

Tunika vaginalis testiste MM, 12-86 yaş arasında görülür. Skrotal kitle olarak saptanır. Tümör genellikle lokal olarak kalır, bölgesel lenf nodlarına ve bazen akciğere metastaz görülür.^{13,35}

Mikroskopik özellikler

Malign mezotelyoma Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından epitelyal, sarkomatöz (fibröz), ve bifazik olarak sınıflandırılmıştır. Vakaların yaklaşık %50'si epitelyal, %20'si sarkomatöz, %30'u bifaziktir.³⁵

Epitelyal tip MM

Genellikle tubulopapiller yapılardan oluşmuştur. Bazen tübüler, papiller veya solid alanlar baskın olabilir. Bazı vakalarda hücreler skuamöz hücrelere benzer patern gösterebilir. Vakaların %5-10'nunda psammom cisimcikleri bulunabilir. Mikrokistik, nadiren makrokistik alanlar izlenebilir. İyi diferansiye tümörlerde, tümör hücreleri kuboidal veya düzleşmiş, veziküle nükleuslu, belirgin nükleoluslu, eozinofilik sitoplazmalıdır. Daha az diferansiye tümörlerde belirgin pleomorfizm görülür.^{13,15,35}

Epitelyal MM'nin solid formunda, oval veya polihedral, geniş, eozinofilik sitoplazmalı hücreler gruplar, kümeler oluşturur. İyi diferansiye hücreler hiperplastik mezotelyal hücrelere benzerler. Nükleer pleomorfizm, dev hücre oluşumu, periyodik asit schiff (PAS) boyası ile boyanmayan sitoplazmik vakuoller görülebilir. Epitelyal ve sarkomatöz mezotelyoma arası özellikler içeren MM'a transizyonel mezotelyoma adı verilmiştir.^{13,35}

Epitelyal MM'da stroma yoğun veya gevşek, orta derecede hücrelidir. Mikzoid değişiklikler içerebilir. Lenfoid hücre infiltrasyonu nadirdir. Stroma hücreli olduğu zaman bifazik tümörün sarkomatöz komponentinden ayırt etmek zordur.^{13,35}

Sarkomatöz tip mezotelyoma

Tümör fibrosarkom benzeri görünümde, içsi veya oval hücrelerden oluşmuştur. Nükleer pleomorfizm, mitoz ve dev hücreler görülebilir. Stromal kollajen miktarı değişkendir. Hiyalinizasyon ve konsantrik veya stariform patern bulunabilir. Nekroz, yağ ve çizgili kas dokusu invazyonu görülebilir. Kemik ve kıkırdak diferansiyasyonu içerebilir.^{13,15,35}

Bifazik mezotelyoma

Hem epitelyal hem de sarkomatöz alanlar içerir. Bu iki komponent, sıklıkla tümörün farklı alanlarında görülmelerine rağmen bazen de birbiriyle içiçe bulunur.^{13,15,35}

Malign mezotelyomanın sık görülmeyen variantları

Desmoplastik mezotelyoma: Tümörün %50'den fazlası hücreden zengin olmayan, yoğun fibröz dokudan oluşmuştur. Reaktif plevral fibrozisden ayırmak zordur. MM'nın %10'unu oluşturur. Hiyalinize kollajen alanları ile birlikte hiperkromatik , düzensiz nükleuslu hücreli alanlar içerir. Mitoz sık değildir. Hiyalinize kollajen birbiriyle anastomozlaşan bantlar, konsantrik yapılar ve stariform patern oluşturur. Bu paternler nadiren inflamatuvar skar dokusunda da görülebilir. Tümörün fibröz alanları hücreden fakir olsa da hücreli atipi olayın

reaktif değil neoplastik olduğunu düşündürür. Hücreler genellikle sarkomatöz özelliktedir ancak fokal alanlarda epitelyal hücreler görülebilir. Fibrinoid nekroz benzeri kollajen nekrozu olguların %70'inde görülür. Lokalize fibröz tümör ile ayırıcı tanısında düşük moleküler ağırlıklı keratin ile pozitif boyanması yardımcıdır. Lokalize fibröz tümörde keratin negatiftir.^{13,15,35}

Lenfohistiositoid mezotelyoma: Büyük, histiosit benzeri tümör hücreleri ve diffüz lenfositik infiltrasyon karakteristiktir. Plazma hücreleri ve eozinofil lökositler de bulunabilir. Lenfoma ile karışabilir. Makroskopik olarak tümör multipl plevral nodüller olarak görülür. Histiosit benzeri tümör hücreleri oval, yuvarlak, soluk, asidofilik sitoplazmalı, küçük bazen belirgin nukleolusludur. Tubulopapiller yapılar yoktur ancak sarkomatoid içsi hücreler bazı alanlarda görülebilir.^{13,35}

İmmünohistokimyasal olarak tümör hücreleri keratin ve vimentin pozitif, Lökosit common antigen (LCA) negatiftir. Elektron mikroskopik olarak; fibrohistiositik hücreler, lenfositler ve plazma hücrelerinden oluşan polimorfik bir hücre popülasyonu vardır. Tek tek hücreler mezotelyal özellikler gösterirler. Villus yapıları, intrasitoplazmik mikrovillus ile döşeli yeni lümen oluşumları ve intermediyer filamentler görülür.^{13,35}

Küçük hücreli mezotelyoma: Tümör uniform, nukleus / sitoplazma oranı yüksek, küçük hücrelerden oluşmuştur. Yanlışlıkla küçük hücreli karsinoma tanısı alabilir. Tümörden çok sayıda örnek alınıp incelenirse çok daha tipik MM alanları görülür. Küçük hücreli MM'da küçük hücreli karsinomadaki kordonlar, rozetler veya hematoksifilik kan damarları görülmez. Her ikisinde de nöron spesifik enolaz (NSE) pozitifdir.¹³

İn situ mezotelyoma: Plevrada tümör kitleleri yoktur. İnce, 2-8 mm boyutlarında nodüller vardır. Mikroskopik olarak bir veya daha fazla sıralı mezotelyal hücrelerin oluşturduğu yüzeyel, invazyon oluşturmeyen lezyon görülür. Düz veya papiller, tübüler yapılar oluşturur. Çok sayıda örnek alınarak invazyon olup olmadığı saptanmalıdır.^{13,35,57}

İyi diferansiye papiller mezotelyoma: Genellikle peritonda ve kadınlarda, daha az sıklıkla tunika vaginalis testis, perikard ve plevrada

görülür. Bazı hastalarda asit ve abdominal şikayetler olmasına rağmen, daha çok başka nedenlerden dolayı yapılan laparotomiler sırasında saptanır. Pelvik kavite, omentum ve mezenterde birkaç mm veya cm boyutlarında multipl nodüller olarak görülür. Bazen over yüzeyinde küçük tümör odakları saptanır. Mikroskopik olarak iyi gelişmiş papiller ve tubulopapiller yapılar vardır. Tek sıralı, uniform, kuboidal veya düzleşmiş mezotelyal hücrelerle döşelidir. Mitoz yoktur veya nadirdir. Düzensiz glandüler yapılarla birlikte fibrozis vardır ve adenokarsinoma ile karışır. Psammom cisimcikleri bazen bulunabilir. Prognozu iyidir ancak nadiren agresif gidiş gösterebilir. Borderline mezotelyoma deyimini de kullanılmaktadır.¹³

Tunika vaginalis testisin malign mezotelyoması: Tümör genellikle papiller tiptedir, tübüler ve solid alanlar da bulunabilir. Tümör hücreleri asidofilik sitoplazmalıdır ve sitoplazmik vakuoller içerir. Psammom cisimcikleri bazen bulunabilir. Klinik gidiş tümörün iyi veya az diferansiye olmasına göre değişir. İlk tanı ve klinik rekürrens arasında uzun bir asemptomatik dönem vardır. Peritona, inguinal ve retroperitoneal lenf nodlarına yayılım oluşur. Nadiren MM herni keselerinden de gelişebilir.¹³

Lokalize malign mezotelyoma: Nadirdir. Vakaların bazılarında asbestozis bulgusu bulunmamasına rağmen asbest inhalasyonu öyküsü vardır. Agresif gidiş gösterirler. Bazı vakalarda tümörün tamamen çıkarılmasıyla kür sağlanır.¹³

Desiduoid peritoneal mezotelyoma: Nadirdir. Genç kadınlarda görülür. Peritonun ektopik desidual reaksiyonuna benzer. Tümörün mezotelyal orijinli olduğu ultrastrüktürel ve immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Asbest inhalasyonu ve endokrin bozukluklarla ilişkisi yoktur. Oldukça malign gidiş gösterir.^{13,35}

3.4.7.Mineralojik analizler

Dokudaki asbest fibrilinin mineral içeriğini belirlemek için çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bu tekniklerin üç temeli vardır. Akciğer dokusunun organik matriksinin çözülmesi ve digestionu, fibrillerin filtrelerde toplanması ve fibril içeriğinin analizi. Kullanılan yöntemlerden biri EDXA ile analiz yöntemidir. Bu

yöntemle formalin tespitli, hatta parafin bloktaki dokular incelenebilmektedir. Akciğer doku örnekleri %5.25'lik sodyum hipoklorid ile digestion işlemine tabi tutulur. Daha sonra fibriller uygun büyüklükte delikleri olan asetat veya polikarbon filtrelerde toplanır. Işık ve elektron mikroskobu ile asbest cisimcikleri ve çıplak fibrillerin miktarı belirlenir. Energy dispersive spectrometer ile donatılmış elektron mikroskobu ile fibrillerin mineralojik yapısı ve dolayısıyla fibril tipi belirlenir. Farklı laboratuvarlarda aynı doku incelense bile farklı sonuçlar ortaya çıkabilir. Bu yüzden her laboratuvarın normal sınırları belirtilmelidir.⁵⁶

3.4.8.Ayırıcı tanı

Mezotelyomaların, adenokarsinomalar başta olmak üzere bazı patolojilerle ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Ayırıcı tanıda yer alan patolojiler tablo IV'de özetlenmiştir.

Tablo IV: Malign mezotelyomanın ayırıcı tanısı ¹³

- Epitelyal mezotelyoma
 - Adenokarsinoma
 - Mezotelyal hiperplazi
 - Epiteloid hemanjioendotelyoma
 - Az diferansiye karsinomalar
- Sarkomatöz mezotelyoma
 - Sarkomlar
 - Spindle hücreli karsinomalar
 - Metastatik sarkomlar
 - Fibröz plöritis
- Bifazik mezotelyoma
 - Sinovial sarkom
 - Karsinosarkom
 - Hücreden zengin serozal fibrozisin olduğu mezotelyal hiperplaziler
- Desmoplastik mezotelyoma
 - Reaktif serozal fibrozis
 - Plevral fibröz plak

Epitelyal MM'yi adenokarsinomadan ayırmak en büyük zorluğu oluşturmur. Akciğer adenokarsinomu sıklıkla plevrayı infiltre eder, makroskopik ve mikroskopik olarak MM'dan ayırt edilemez. Histokimya, immünohistokimya ve elektron mikroskopi yardımcıdır.^{13,35}

3.4.9.Yardımcı tanı yöntemleri

Elektron mikroskopi

Malign mezotelyomanın epitelyal hücrelerinde uzun, ince, dalgalı ve tipik olarak kaktüse benzer görünümde, nonintestinal tipde mikrovilluslar karakteristikdir. Adenokarsinomada ve az diferansiye MM'da mikrovilluslar kısadır. Mikrovillus uzunluğu / çapı MM'da 15'in üstünde, adenokarsinomada 10'un altındadır. MM'da mikrovilluslar dallanmalar gösterirler ve bazal membranda stromal kollajen ile direkt temas oluşturmurlar. Epitelyal MM'da sitoplazma yoğundur, intrasitoplazmik vakuoller vardır. İntermediyer filamentler boldur. Semikantitatif karşılaştırılmalı çalışmalarda intermediyer filamentlerin MM'da adenokarsinomalara göre belirgin olarak fazla olduğu ortaya konmuştur. Lizozomal granüller, osmiofilik lamellar yapılar ve multiveziküler cisimcikler de bazen bulunabilir.^{13,28,35}

Sarkomatöz MM'da hücreler yalnızca rudimenter hücre bağlantıları ve nadir desmosomlarla birbirlerine bağlanmışlardır. Mikrovilluslar yoktur, eğer varsa kısadır. Bazal lamina fokal alanlarda görülür. Sitoplazma yoğundur, intermediyer filamentler rastgele dağılmıştır. Düz endoplazmik retikulum belirgin ve dilatedir, osmiofilik materyal içerir. Nukleus uzun ve katlantılıdır. Epitelyal özellikler içeren fibroblast ve miyofibroblastlara benzerler.^{28,35}

Histokimya

Malign mezotelyoma ve adenokarsinoma ayırıcı tanısında dört adet histokimyasal yöntem vardır. Diastazlı periyodik asit schiff (D-PAS), müküs, alcian blue ve kolloidal demir. Bunlar içinde en güvenilir olanı D-PAS'dır. Mezotelyomada glikojen diastaz işleminden sonra uzaklaştırılır.

Adenokarsinomalarda nötral mûsin glikojen gibi benekli dağılım göstermez. Diastaz işleminden sonra bu dağılım kalıcıdır. D-PAS ile güçlü, düzensiz boyanma MM tanısını ekarte ettirir. Fakat negatif boyanma adenokarsinoma tanısını ekarte ettirmez, olguların %40-50'si D-PAS pozitifdir.¹⁵

Mûsikarmen, adenokarsinomaların sekrete ettiği nötral ve zayıf asidik mûsini gösterir. MM'da negatiftir, ancak luminal bölgelerde nonspesifik boyanma yanlış pozitif sonuçlara yol açabilir. D-PAS gibi mûsikarmen negatifliği adenokarsinoma tanısını ekarte ettirmez. Olguların %50'sinde özellikle böbrek, sürrenal, karaciğer ve tiroid adenokarsinomalarında mûsikarmen negatiftir. Bazen mûsikarmen hiyalürinik asit ile çapraz reaksiyon verebilir. Böyle durumlarda diğer boyalarla doğrulanmalıdır.¹⁵

Normal mezotel hücreleri glikozaminoglikan özellikle hiyalürinik asit sekrete ederler. Hiyalürinik asit yüzeyi kayganlaştırarak organların hareketlerini kolaylaştırır. Özellikle iyi diferansiye MM'da bu sekretuar aktivite kalıcıdır. Alcian blue mezotelyomalarda hiyalürinik asiti gösterir. Donuk mavimsi pozitif boyanma hiyalürinidaz işlemi ile solmaz, kalıcıdır. Kolloidal demir reaksiyonu da buna benzerdir. Pozitif boyanma yeşil renktedir. Ancak bu yöntemler sensitif değildir. Formalin gibi su bazlı tespit materyalleri hiyalürinik asiti dokudan uzaklaştırdığı için yanlış negatif sonuçlar sık görülür. Adenokarsinomalarda da nötral veya zayıf asidik mûsin, alcian blue ve kolloidal demir ile pozitif reaksiyon verebilir ve hiyalürinidaz işlemi ile solmaz. Sarkomlar glikozaminoglikan sekrete ettiği için sarkomatöz mezotelyomayı sarkomlardan ayırmada yardımcı bir bulgu değildir.^{13,15}

İmmünohistokimya

Malign mezotelyoma tanısında ve özellikle adenokarsinomadan ayırıcı tanısında oldukça faydalı ve sık kullanılan bir yöntemdir.

Mezotelyomaların immünohistokimyasal karakteristikleri ve immünoaktiviteleri üç kategoride sınıflandırılabilir.⁶⁶

1. Pozitif fakat nonspesifik reaksiyon. Keratin, EMA, vimentin gibi antikorlar bu gruba girer.

2. Adenokarsinoma ile karşılaştırıldığında MM'da negatif reaksiyon. CEA, Ieu M1, Ber Ep 4, B72.3 gibi antikorlar.
3. Mezotel hücrelerine spesifik antikorlarla pozitif reaksiyon. HBME-1, OV632, trombomodulin gibi antikorlar.

Sitokeratinler: İntermediyer filamentlerdir. Epitelyal diferansiyasyon ve maturasyonun oldukça spesifik belirleyicisidir. Bütün mezotelyoma ve adenokarsinomalar düşük moleküler ağırlıklı keratin eksprese ederler. MM yüksek moleküler ağırlıklı keratini adenokarsinomalardan daha fazla eksprese etmesine rağmen akciğer adenokarsinomu da hem düşük hem de yüksek moleküler ağırlıklı keratin eksprese eder. MM ve adenokarsinomalarda keratinin boyanma paterninde farklılıklar olduğu da bildirilmektedir. Mezotelyomada perinükleer, adenokarsinomada ise diffüz veya hücre membranı altında boyanma beligidir. Fakat bu farklılığı saptamak oldukça güçtür. Bu yüzden MM ve adenokarsinoma ayırıcı tanısında keratin faydalı değildir.^{13,35}

Sitokeratinlerin, sarkomatöz mezotelyomayı sarkomlardan ayırmada çok önemli yerleri vardır. Sarkomlarda keratin negatiftir. Yalnızca sinovial sarkom ve nadiren leiomyosarkomda keratin pozitif bulunabilir. Karakteristik histopatolojik özellikleri ve farklı immünofenotipleri ile ayırt edilebilir.¹⁸

Desmoplastik MM'da ve reaktif pöritisde keratin pozitifdir. Ayırıcı tanıda yardımcı değildir. Biyopsi materyali büyük ve yeterince normal akciğer ve adipöz doku içeriyorsa, keratin pozitif hücrelerin bu dokulara infiltrasyonunun görülmesi desmoplastik MM tanısını destekler. Küçük biyopsilerde ise ayırmak çok zordur.^{13,15,35}

Vimentin: Önceleri mezenkimal kökenli normal ve neoplastik hücrelerden eksprese edilen intermediyer filament olarak ortaya atılan vimentinin, sonraları orijin aldığı dokuya bakmaksızın, içsi biçimli her hücrede pozitif olabileceği ortaya çıkmıştır. Vimentin pozitifliği MM'da daha çarpıcı olmakla birlikte adenokarsinomalarda ve normal reaktif subserozal hücrelerde de izlenebilir. Boyanma paterni de farklılıklar gösterir. Vimentin pozitif adenokarsinomalarda tümör hücrelerinin bazali boyanırken MM'da

sitoplazmada homojen boyanma görülür. Vimentin ve keratinin birlikte pozitifliği böbrek, endometrium ve tiroid adenokarsinomalarında da görülür. MM ve adenokarsinoma ayırıcı tanısında vimentin faydalı değildir.^{13,35,62}

Karsinoembriyonik antijen (CEA): Onkofetal glikoproteindir. Esas olarak kolon karsinomundan izole edilmiştir. Adenokarsinomalarda % 70 -100 pozitif bulunur. MM'da ise genellikle negatif olmakla birlikte değişik oranlarda pozitiflik de bildirilmiştir. Bu CEA ailesinden nonspesifik cross-reacting antigen (NCA) kullanılmasına bağlıdır. Anti CEA antikorları NCA bağlar. Bu yüzden CEA pozitifliğinde antikör seçimi ve kullanılan yöntemin duyarlılığı önemli rol oynar. Diğer bir faktör, hiyalürinattan zengin MM'da yanlış pozitif boyanma görülebilir. Bu yüzden boyamadan önce hiyalürinidaz ile digestion işlemi uygulanmalıdır. Akciğer ve gastrointestinal sistemin adenokarsinomları diğer organların adenokarsinomlarından daha fazla CEA eksprese ederler.^{13,35,62}

Leu - M1 (CD 15): Miyelomonositik hücrelerde lakto N fukoz- pentosil III olan X haptene karşı reaksiyon veren monoklonal antikordur. CD - 15 olarak da adlandırılır. Adenokarsinomalar leu-M1 pozitif, MM ise negatiftir. Adenokarsinomalarda pozitiflik fokal olabilir. Küçük biyopsilerde yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Ayrıca nekroz alanlarında ve nötrofil lökositlerde pozitif boyanacağı için böyle örnekleri değerlendirirken dikkatli olunmalıdır. Ayırıcı tanıda önemli bir antikordur.^{13,35,62}

Ber- EP4: Meme karsinom hücre dizisi MCF-7 ile immünize edilmiş farelerden 1990'da elde edilmiş monoklonal antikordur. Adenokarsinomalarda yüksek oranda pozitifdir. MM'da genellikle negatif, nadiren fokal pozitifdir. Ayırıcı tanıda çok yardımcıdır.^{13,35,62}

B 72.3: Meme karsinom hücreleri ile immünize edilmiş farelerden elde edilmiştir. Adenokarsinomalarda pozitif, MM'da negatiftir.^{13,35}

Human Milk Fat Globulin (HMFG-2): Burchell ve arkadaşları tarafından 1983'te tanımlanmıştır. Adenokarsinomalarda pozitif, MM'da ise genellikle negatiftir bazen pozitiflik görülebilirse de boyanma paterni farklıdır. MM'da kalın membranöz boyanma, adenokarsinomada ise sitoplazmik boyanma belirgindir.^{13,35,62}

Epitelyal Membran Antijen (EMA): Hem mezotelyoma hem de adenokarsinomalarda pozitiftir. MM'da daha kalın membranöz boyanma görülür.³⁵

Lektinler: Nonimmün kökenli glikoproteinlerdir. karbonhidrat gruplarına bağlanırlar. Adenokarsinoma ve MM ayırıcı tanısında yardımcıdır.^{35,62}

Kan grubu antijenleri: Lewis kan grubu antijenleri LewisY ve Lewis X , Y kan grubu antijeni BG8 adenokarsinomalarda yüksek oranda, MM'da ise düşük oranda pozitif bulunmuştur.¹³

MOC -31: Epitelyal hücrelerin membranında lokalize, kesin fonksiyonu bilinmeyen 40 kDa bir glikoproteine karşı reaksiyon veren yeni bir antikordur. Adenokarsinomalarda güçlü pozitif, MM'da negatiftir. Henüz çok yeni bir antikor olmasına rağmen ayırıcı tanıda oldukça faydalıdır.^{27,65,59}

Tümör supressör protein p 53: Mezotelyomaları reaktif mezotelyal hiperplaziden ayırmakta yardımcıdır. Reaktif hiperplazide p53 negatiftir. Adenokarsinoma ile ayırıcı tanıda yeri yoktur.¹⁹

Antimezotelyal antikorlar: Tümüyü olmasa bile büyük oranda mezotelyal hücrelere spesifik olduğu ileri sürülen bazı yeni antikorlar vardır.

HBME - 1: İnsan mezotelyoma hücrelerinden elde edilmiştir. Epitelyal ve bifazik MM'nın epitelyal komponentinde ve normal mezotelyal hücrelerde pozitif, sarkomatöz MM'da negatiftir. Kalın membranöz boyanma belirgin olmasına rağmen sitoplazmik boyanma da vardır. Adenokarsinomalarda düşük oranda pozitiflik görülebilir.^{4,12,13}

Trombomodulin: Mezotelyal, endotelyal hücreler ve plasental sinsityotrofoblastlar tarafından salgılanan 75 kDa bir glikoproteindir. Anti trombomodulin antikor mezotelyoma tanısında oldukça spesifik ve sensitif bir antikordur.^{4,23}

OV 632 : Overin seröz kistadenoma hücreleri ile immünize edilmiş sıçan dalak hücrelerinden elde edilmiştir. Parafin kesitlerde immünoreaktivitesi taze dokulara göre daha düşük olmasına rağmen MM tanısında oldukça değerlidir.^{4,27}

AMAD - 2 : İnsan mezotelyoma hücrelerinden izole edilmiş bir glikoprotein ile immünize edilen tavşanlardan elde edilmiştir. MM için oldukça spesifik ve sensitif ancak henüz çok yeni bir antikordur.²⁶

Mab 45 : Nispeten mezotelyomaya spesifik bir antikordur.^{13,35}

Flow sitometri

Mezotelyoma tanı ve prognozunda flow sitometrinin yeri sınırlıdır. Adenokarsinomalar anöloid, MM'ın büyük bir kısmı diploid DNA içeriğine sahiptir. Ancak bu fark istatistiksel olarak çok belirgin değildir.¹³

3.4.10.Prognoz

Mezotelyoma prognozu oldukça kötüdür. Ortalama yaşam 8 - 12 aydır. Prognozu etkileyen faktörler; histopatolojik tip, yaş ve evredir. Epitelyal tip, 65 yaşın altı, evre I -II hastalarda ortalama yaşam biraz daha uzundur. Peritoneal mezotelyomada yaşam plevrale göre biraz daha kısadır. Tedavi yaşamı çok fazla etkilemez.^{31,39,44,69}

"International Mesothelioma Interest Group" MM için 1994'te yeni evrelendirme sistemini geliştirmiştir (Tablo V).

Tablo V: MM'nın TNM sistemine göre evrelendirilmesi ^{53,58}

T= Tümör

T1:

T1a: Tümör aynı taraf parietal, mediastinal ve diyafragmatik plevrada sınırlı, visseral plevra tutulumu yok.

T1b: Tümör aynı taraf parietal plevrada, visseral plevrada da fokal tutulum var.

T2: Tümör aynı taraf plevral yüzeyde(parietal, mediastinal, diyafragmatik ve visseral plevra) ve aşağıdaki özelliklerden en az biri bulunur.

- Diyafragmatik kas tutulumu
- Visseral plevrada fissürleri içerecek şekilde tümör nodülleri veya visseral plevradan akciğer parankimine yayılım.

T3: Lokal olarak ilerlemiş fakat rezeke edilebilen tümör

Tümör aynı tarafta bütün plevral yüzeyleri tutmuş ve aşağıdaki özelliklerden en az biri bulunur.

- Endotorasik fascia tutulumu
- Mediastinal yağ dokusuna yayılım
- Göğüs duvarı yumuşak doku içinde soliter, rezeke edilebilen tümör odakları
- Tam kat olmayan perikardial tutulum

T4: Rezeke edilemeyen tümör

Tümör aynı tarafta bütün plevral yüzeyleri tutmuş ve aşağıdaki özelliklerden en az biri bulunur.

- Göğüs duvarında diffüz tutulum veya multifokal tümör nodülleri, kosta deksrüksiyonu olabilir veya olmayabilir.
- Peritona direkt transdiyafragmatik yayılım
- Karşı taraf plevra tutulumu
- Bir veya daha fazla mediastinal organ tutulumu
- Direkt vertebraya yayılım
- Perikardial veya miyokardial tutulum

N= Lenf Nodu

NX: Bölgesel lenf nodu bulunamamıştır.

N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok.

N1: Aynı tarafta bronkopulmoner veya hilar lenf nodu metastazı

N2: Subkarinal veya aynı tarafta mediastinal ve internal torasik lenf nodu metastazı

N3: Karşı taraf mediastinal ve internal torasik, aynı veya karşı taraf supraklavikuler lenf nodu metastazı.

M= Metastaz

MX: Uzak metastaz değerlendirilememiştir.

M0: Uzak metastaz yok.

M1: Uzak metastaz var.

Evre I:

Ia: T1a N0 M0

Ib: T1b N0 M0

Evre II: T2 N0 M0

Evre III: T3 M0

N1 M0

N2 M0

Evre IV: T4

N3

M1

3.4.11.Tedavi

Malign mezotelyoma tedavisinde tümör rezeksiyonu, dekortikasyon veya daha radikal bir uygulama olan ekstraplevral pnömonektomi uygulanır. Ancak tümör diffüz olduğu için bu uygulamalar küratif değildir. Radyoterapi yaşamı uzatmaz, palyatif amaçla uygulanır. Kemoterapi de palyatif amaçla kullanılır.^{13,58,69}

3.4.12. Türkiye’de malign mezotelyoma

Türkiye’de mezotelyoma konusunda ilk bilimsel çalışma Hamdi Suat ve arkadaşları tarafından 1917-1929 yılları arasında yapılmış ve “çölotelyoma” deyimini kullanmışlardır. Daha sonra Köksal deneysel, Yalav ve Öktem klinik bazı araştırmalar yapmışlardır.¹¹

Ülkemizdeki asbest madenleri ise ilk olarak 1921’de Eskişehir’in Mihallıçık yöresinde bulunmuştur. Türkiye’de asbest, çatı ve diğer inşaat malzemeleri, boru, çimento, fren balatası ve kağıt gibi çeşitli ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır.¹¹

Antakya, Sivas, Erzincan, Bursa ve Eskişehir’de büyük; İzmir, Çanakkale, Konya, Adana, Ağrı, Çorum, Çankırı ve Ankara’da daha küçük mineral madenleri vardır. Bu yörelerde chrysotile ve amphibole asbest bulunmuştur fakat bunların ekonomik değeri yoktur.¹¹

Türkiye’de çevresel asbest ve asbest benzeri fibriller daha büyük sağlık problemi oluşturmaktadır. Hacettepe Üniversitesi’nden İ. Barış’ın bu konuda çok sayıda çalışması vardır. Eskişehir’in Mihallıçık, Çankırı’nın Hacıhasan, Yozgat’ın Garipier, Burdur’un Bedirli köyleri ve Konya’nın Ereğli ilçesinde toprak, ev badana ve sıvaları, su gibi pek çok çevresel kaynağın analizi yapılmış, tremolite, chrysotile, actinolite asbest ve çeşitli mineraller bulunmuştur.¹¹

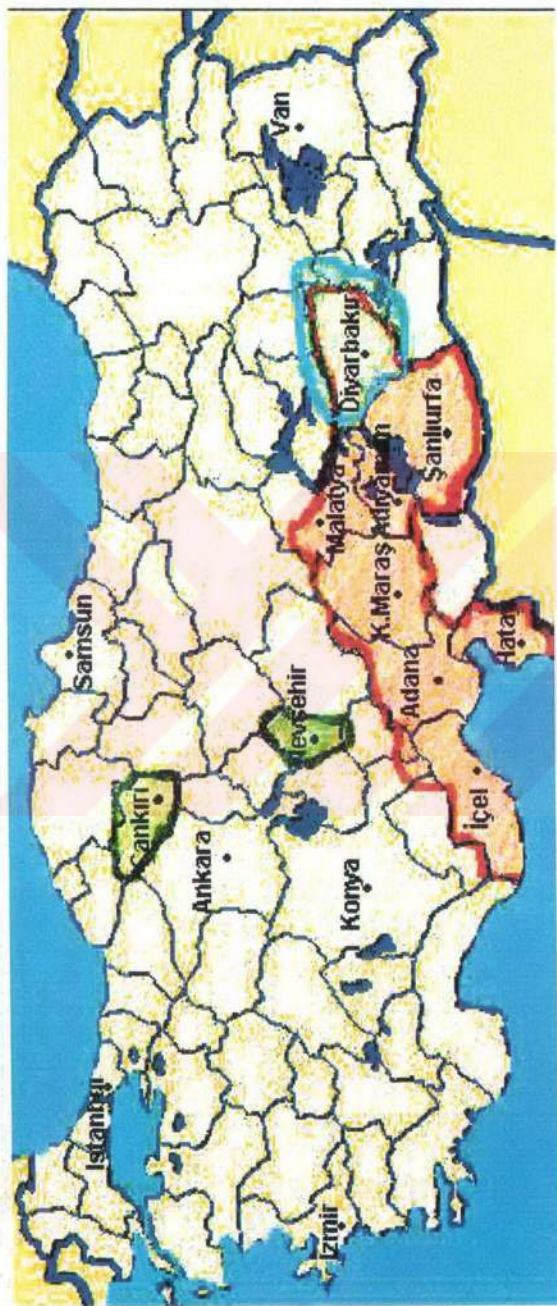
Yine İ. Barış ve arkadaşları,^{6,7} Çankırı’nın Şabanözü ilçesinin Çaparkayı köyünde 1984 -1987 yılları arasında dört MM, bir asbestozis, bir mide kanseri ve bir hodgkin lenfoma olguları bildirmişler. Asbestozisli hastanın akciğeri ve ev siva örneklerinde tremolite saptamışlardır.

Aynı araştırmacılar Kapadokya’da Tuzköy, Sarıhıdır ve Karain köylerinde toprakta ve volkanik taşlarda doğal olarak bulunan erionite bağlı MM vakaları bildirmişlerdir. Bu köylere “ erionit köyleri ” adı verilmiştir. Araştırmacılar epidemiyolojik ve vaka kontrol çalışmaları ile bu yörede MM’nın genel popülasyona göre 1000 kat fazla olduğunu saptamışlardır. Ayrıca bu köylerde, diffüz plevral kalınlaşma, lokalize plevral fibrozis, plevral kalsifikasyon ve diffüz

akciğer fibrozisi gibi diğer patolojiler de yüksek oranda görülmektedir. Bu köylerde evlerin badana ve sıvasında beyaz toprak kullanılmaktadır. Çocukluk ve gençlik dönemlerini köyde geçirip daha sonra başka bölgelere göç edenlerde de bu patolojiler gelişmektedir. Toprak, ev badana ve sıvaları, birkaç hastanın akciğer ve plevra örneklerinden yapılan analizlerde yüksek oranda erionit saptanmıştır.^{5,8,9,11,60}

Yazıcıoğlu ve arkadaşları,^{74,75} Diyarbakır ve çevresi özellikle Çermik ilçesinde yüksek oranda MM ve akciğer kanseri saptamışlar, mineralojik çalışmalar yapmışlardır. Ev sıvalarında tremolite ve bir hastanın akciğer biyopsi örneğinde çok sayıda tremolit ve az miktarda chrysotil bulunmuştur. Şekil 2’de Barış ve ark., Yazıcıoğlu ve ark. ve bizim çalışma grubumuzdaki MM olgularının coğrafik dağılımı gösterilmiştir.





Şekil 2 : Türkiye'deki MM olgularının coğrafik dağılımı

- Bizim çalışmamız
- Barış ve arkadaşları
- Yazıcıoğlu ve arkadaşları

4.MATERYAL VE METOD

4.1.Materyal

Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Adana SSK Hastanesi, Adana Numune Hastanesi ve özel bir patoloji laboratuvarında (Prof. Dr. İlhan Tuncer) tanı almış primer seröz membran tümörleri tekrar değerlendirildi. Kırk dokuz plevral MM, bir peritoneal MM ve bir plevral fibröz plak olgusu çalışma kapsamına alındı. Ayrıca MM ve adenokarsinoma ayırıcı tanısı için on adet akciğer adenokarsinoması ve on adet plevraya metastaz yapmış adenokarsinoma olgusu kontrol grup olarak çalışmaya dahil edildi. Olgulara ait hematoksilen eozin (HE) boyalı preparatlar ışık mikroskopunda incelendi ve histopatolojik tipleri belirlendi.

4.2.Histokimya

Her olgu için uygun parafin bloklar seçildi. Parafin bloklardan yapılan 5 mikron kalınlığındaki kesitlere histokimyasal yöntemle Periyodik Asit Schiff (PAS), diastazlı PAS(D-PAS) ve mûsikarmen boyaları uygulandı

Periyodik asit schiff (PAS) histokimyasal boyama yöntemi³⁰

Solüsyonun hazırlanması

A- Periyodik asit1gr

Distile su100cc

B- Schiff reagent solüsyonu

Kaynama derecesine kadar ısıtılmış 200 ml distile su içine 1 gr bazik fuksin eklendi ve karıştırılarak eritildi. Koyu kırmızı renk alan solüsyon 50°C'ye kadar soğutuldu. Üzerine 2 gr potasyum metabisüfit ilave edilip, iyice eriyinceye kadar karıştırıldı. Oda ısısına kadar soğutulup, 2 cc konsantre hidroklorik asit (HCl) ilave edildi. Bir gece karanlıkta bekletildi. Ertesi gün üzerine 1-1.5 gr aktif karbon konulup iyice karıştırıldı. Watman 1 kağıdı ile

süzüldü. Kırmızı kahve renkteki solüsyon süzülünce parlak saman sarısı rengini aldı. +4°C'de saklandı.

Yöntem

Parafin bloklardan elde edilen 5 mikron kalınlığındaki kesitler deparafinize edilip alkollerden geçirildikten sonra,

1-%1'lik periyodik asit solüsyonunda 3-4 dakika bekletildikten sonra çeşme suyunda yıkandı, distile sudan geçirildi.

2-Schiff reagent solüsyonunda 3-5 dakika bekletildi.

3- Dokular kırmızı renk alıncaya kadar çeşme suyunda bekletildi.

4- Mayer hematoksilende 3-5 dakika boyandı ve çeşme suyunda yıkandı.

5- Alkol ve ksilollerden geçirilip kapatıldı.

Diastazlı PAS (D-PAS) histokimyasal boyama yöntemi ³⁰

Diastaz digestion solüsyonu

Malt diastaz.....0.1gr

Fosfat tamponlu tuzlu su, pH6.0.....100cc

Phosphate Buffer Saline(PBS)

Yöntem

Kesitler deparafinize edilip alkollerden geçirildikten sonra,

1- 37 °C'ye kadar ısıtılmış bir ortamda diastaz digestion solüsyonunda 1 saat bekletidi ve çeşme suyunda yıkandı.

2- PAS boyama yöntemi uygulandı.

Mayer müsikarmen histokimyasal boyama yöntemi ³⁰

Stok müsikarmen solüsyonu

Carmine.....1gr

Alüminyum klorid.....0.5gr

Distile su.....2cc

Bir tüp içine bu maddeler koyuldu ve ateş üzerinde kaynama derecesine gelinceye kadar karıştırılarak ısıtıldı. Solüsyon kırmızı - gül kurusu renk aldı. Daha sonra %50'lik alkol ilave edildi ve bir gece bekletildi.

Çalışma solüsyonu

Stok müsikarmen solüsyonu.....10cc
Distile su.....40cc

Metanil yellow solüsyonu, %0.25

Metanil yellow.....0.25gm
Distile su.....100cc
Glacial asetik asit.....0.25cc

Weigert's iron hematoksilen solüsyonu

A- Hematoksilen solüsyonu

Hematoksilen1gr
Absolu alkol.....100cc

B- Iron solüsyonu

%30'luk Demir klorid.....4cc
Konsantre HCl.....1cc
Distile su..... 95cc

A ve B solüsyonları birbirine karıştırıldı.

Yöntem

Parafin bloklardan elde edilen 5 mikron kalınlığındaki kesitler deparafinize edilip alkollerden geçirildikten sonra,

- 1- Kesitler iron hematoksilende 2 dakika bekletildi.
- 2- Metanil yellow solüsyonunda 2 dakika bekletildi.Daha sonra çeşme suyunda yıkandı.
- 3- Müsin çalışma solüsyonunda 1 saat bekletildi.
- 4- Alkol ve ksilollerden geçirilip kapatıldı.

4.3.İmmünohistokimya

İmmünohistokimyasal çalışma için olguların parafin bloklarından hazırlanan histolojik kesitlere Strept Avidin-Biotin immünperoksidaz boyama yöntemi ile keratin(AE1/AE3, monoklonal mouse antikor, Dako,1/50 dilüsyon), EMA (monoklonal mouse antikor, Dako 1/80), CEA (monoklonal mouse antikor

Novacastra ,1/50), MOC 31(monoklonal mouse antikor, Biogenex, 1/20) ve HBME-1(monoklonal mouse antikor, Dako, 1/50) antikorları uygulandı.

Amerika Birleşik Devletleri, Houston-Texas Baylor College'den Prof. Dr. Philip Cagle çalışmamızı desteklemiş, MOC 31 ve HBME-1 antikorlarını temin etmiştir.

Strept Avidin-Biotin boyama yöntemi

Dokuların Hazırlanması

1-%10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edilmiş dokulara ait parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler yapıldı.

2- Kesitler deparafinizasyon amacı ile 55-60 °C'de bir saat etüvde bekletildi.

3- Daha sonra iki kez beşer dakika ksilolde bekletildi.

4- Önce absolü etil alkol daha sonra %95'lik etil alkol içine konuldu.

5- Kesitler fosfat tamponlu tuzlu suda (PBS, Phosphate Buffer Saline, pH 7.2) yıkandı. Her kesitin çevresi dikkatlice kurutularak nemli ortama konuldu.

Boyama evreleri

6- Kesitlerin üzerine % 0.1'lik Tripsin damlatılarak 30 dakika bekletildi. PBS solüsyonunda yıkandı.

7- Her kesitin üzerini kaplayacak şekilde 3-4 damla " Peroxidase Blocking Reagent " (% 3 hidrojen peroksidad solüsyonu) damlatılarak 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Amaç ortamda bulunan endojen peroksitleri yok ederek nonspesifik zemin boyanmasını azaltmaktır.

8- Kesitlerin üzerindeki fazla solüsyon dökülerek PBS solüsyonunda 5 dakika süre ile yıkandı.

9- Kesitlerin etrafı dikkatlice kurulandı ve kesitin üzerini kaplayacak şekilde primer antikor (Keratin, EMA, CEA, MOC 31, HBME-1) damlatılarak oda ısısında, nemli ortamda 60 - 90 dakika bekletildi.

10- Kesitler PBS solüsyonunda 5 dakika yıkandı ve sonra dikkatlice kurulandı.

- 11- Kesitlerin üzerine multilink biotinylated sekonder antikor (Dako, kod no K0675) damlatılarak oda ısısında 30 dakika bekletildi.
- 12- Kesitler PBS solüsyonunda 5 dakika süre ile yıkandı. Doku çevresindeki solüsyon fazlalığı uzaklaştırıldı.
- 13- Kesitlerin üzerine "Strept Avidin Peroxidase Reagent" damlatılarak oda ısısında 30 dakika bekletildi.
- 14- Kesitler PBS solüsyonunda 5 dakika süre ile yıkandı. Doku çevresindeki solüsyon fazlalığı giderildi.
- 15- Kesitlere tarife göre hazırlanan AEC (3 amino 9 ethyl carbazole) kromojen solüsyonu (Biogenex, HK1295K) damlatıldı ve 15 dakika bekletildi. Çeşme suyunda yıkandı.
- 16- Mayer hematoksilen ile 30-60 saniye zemin boyanması yapıldı, yıkanarak %0.3'lük amonyaklı su ile mavileştirildi ve tekrar yıkandı.
- 17- Kesitler gliserin jel ile kapatılarak mikroskopik incelemeye hazır hale getirildi. Örnekler ışık mikroskobunda değerlendirildi.

MOC 31 ve HBME-1 monoklonal antikorları için 6 no'da belirtilen tripsin işlemi uygulanmadı ve 9 no'da belirtilen basamakta primer antikor 150-180 dakika bekletildi. Diğer aşamalar yukarıda belirtildiği gibi uygulandı. Dört MM olgusuna, parafin bloklarında doku kalmadığı için HBME-1 ve MOC 31 monoklonal antikorları uygulanamamıştır.

Not: Her çalışma grubu için negatif kontrol kesit kullanılarak normal boyama süreci izlendi.

4.4.Elektron mikroskopi

Dört vakada elektron mikroskopik inceleme yapıldı. Bu vakalardan üçünün akciğer dokusu da elektronmikroskopik olarak incelendi.

Elektron mikroskopi için alınan örnekler Karnovski tespit solüsyonunda en az 1 saat tespit edildi. 0.1 M cacodylate buffer ile yıkandıktan sonra bufferli osmium tetroksid solüsyonunda postfiksasyon uygulandı. etanol ile dehidrate

edilen dokular epona gömüldü. Önce bir mikron kalınlığında kesitler alınarak toluidin blue ile boyandı. Işık mikroskobunda incelendi. İşaretlenen örneklerden EM inceleme için Reichert OMU 3 ultramikrotomuyla 500 A° kalınlığında kesitler alındı. Kesitler 200 - 300 gözenekli bakır gridlerde toplandı ve %70'lik etil alkolde doymuş uranil asetat ve Reynolds'un kurşun sitrat (lead citrate) solüsyonları ile boyandı. Boyanan kesitler ZEISS E.M. 900 elektron mikroskobuyla incelendi ve fotoğraflandı.

4.5.Mineralojik inceleme

İki MM ve bir fibröz plak olgusunun akciğer dokularında fibril tipini saptamak amacı ile, Amerika Birleşik Devletleri, Durham NC, Duke Üniversitesi'nden Dr. Victor Roggli tarafından mineralojik inceleme yapıldı

Parafin bloklara gömülmüş halde bulunan akciğer dokuları parafin bloklardan alındı. Doku ksilol ile deparafinize ve %95'lik etanol ile rehidrate edildi. %5.25'lik Sodyum hipoklorid solüsyonu ile digestion işlemine tabi tutuldu. Doku örnekleri 0.4 mikron çapında delikler içeren nucleopore filtrede toplandı. Bunun yarısı lama alınıp, ışık mikroskobuyla asbest cisimciklerinin miktarı belirlendi. Kalan yarısı koloidal grafitli karbon disklere yerleştirildi. Energy dispersive x-ray spectrometer ile donatılmış JSM-35C Scanning electron microscopy (SEM) ile incelendi ve energy dispersive x-ray analysis (EDXA) ile fibrillerin mineral içeriği belirlendi.⁵⁵

4.6.İstatiksel analiz

Malign mezotelyoma ve kontrol grubu olgularında histokimyasal ve immünohistokimyasal boyanma yüzdelerini karşılaştırmak için ki-kare testi kullanılmış ve kritik anlamlılık seviyesi olarak 0.05 kabul edilmiştir.

4.7.Takip

Arşiv sistemimizin yetersiz ve düzensiz olması nedeni ile hasta dosyalarına ulaşmada bazı güçlüklerle karşılaşıldı. Biyopsi istem formu ve ulaşılabilen hasta dosyalarından yaş, cinsiyet, öykü ve radyolojik bulgular değerlendirildi. Hastaların takipleri bizzat hasta veya hasta yakınları ile direkt temas kurularak yapıldı.

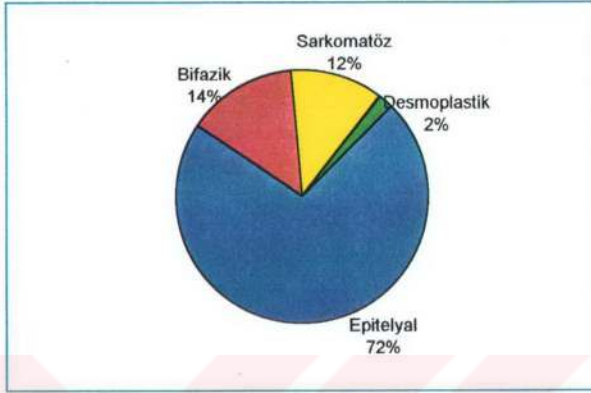
5.BULGULAR

Bu çalışmada 49 plevral MM, bir peritoneal MM ve bir plevral fibröz plak olgusuna ait HE boyalı preparatlar yeniden değerlendirilmiş ve histopatolojik subtipleri belirlenmiştir. 37 olgu erkek (%72.55), 14 olgu kadındır (%27.45). En genç olgu 27, en yaşlı olgu 92 yaşında olup yaş ortalaması 56'dır.

Kontrol grubundaki 20 olgunun 14'ü erkek (% 70), altısı kadındır (% 30). En genç olgu 35, en yaşlı olgu 67 yaşında olup yaş ortalaması 55.5'dir. Olguların yaş, cinsiyet, histopatolojik tanı, histokimyasal ve immüno histokimyasal boyanma sonuçları ek tablo I'de gösterilmiştir.

Malign mezotelyoma olgularına ait dosyalar tekrar gözden geçirilmiştir. En sık görülen semptomlar nefes darlığı ve göğüs ağrısıdır. Olguların büyük bir kısmında plevral efüzyon, tek veya iki taraflı diffüz plevral kalınlaşma saptanmıştır. Peritoneal MM olgusunda peritoneal karsinomatozis ve batında kitle saptanmıştır. Olgular Adana ve çevresindeki Diyarbakır, Urfa, Adıyaman, Hatay, Kahramanmaraş ve Malatya illerinden başvurmuştur (Şekil 2). Hepsi çocukluk ve gençlik dönemlerinde en az 10 yıl boyunca köyde yaşamıştır. Hiçbirinde mesleki olarak asbest inhalasyonu öyküsü yoktur. Olguların hepsi ile temas kurulamamıştır. Ancak görüşülen olguların çoğunda çocukluk ve gençlik dönemlerinde köyde beyaz toprak sıvalı evde yaşama öyküsü saptanmıştır.

Olgulara ait HE boyalı preparatlarda histopatolojik subtipler belirlenmiştir. 36 olgu (%72) epitelyal MM, altı olgu (%12) sarkomatöz MM, yedi olgu (%14) bifazik MM ve bir olgu (%2) desmoplastik MMdir. Ayrıca bir olgu da plevral fibröz plak olarak değerlendirilmiştir. MM olgularında histopatolojik subtip dağılımı şekil 3'de gösterilmiştir. Tablo VI 'da ise yaş grupları, cinsiyet ve histopatolojik subtip dağılımı özetlenmiştir.

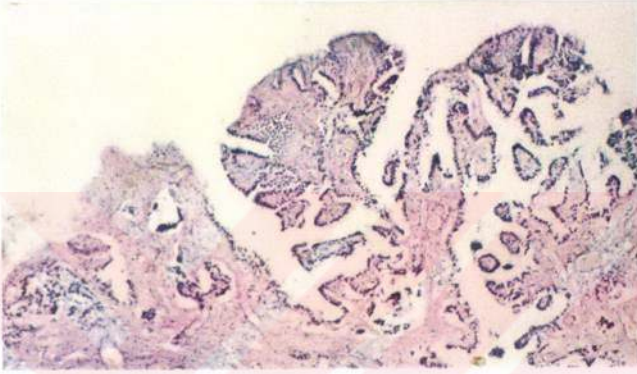


Şekil 3: MM olgularında histopatolojik subtip dağılımı

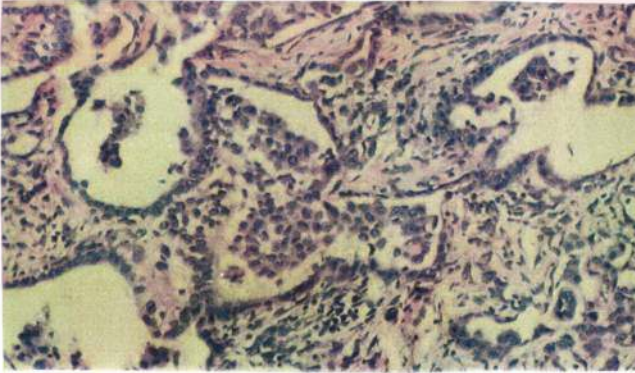
Tablo VI: Elli MM olgusunun yaş grupları, cinsiyet ve histopatolojik subtiplerine göre dağılımı

Yaş grupları	Cinsiyet	Olgu sayısı	Epitelyal MM	Sarkomatöz MM	Bifazik MM	Desmoplastik MM
21 - 30	E	3	2	1	-	-
	K	2	1	1	-	-
31 - 40	E	-	-	-	-	-
	K	2	1	-	1	-
41 - 50	E	9	8	-	1	-
	K	4	2	-	2	-
51 - 60	E	8	7	1	-	-
	K	1	-	1	-	-
61 - 70	E	12	8	1	2	1
	K	5	4	-	1	-
71 -	E	4	3	1	-	-
	K	-	-	-	-	-
Toplam	E	36	29	4	3	1
	K	14	7	2	4	-
Toplam		50	36	6	7	1

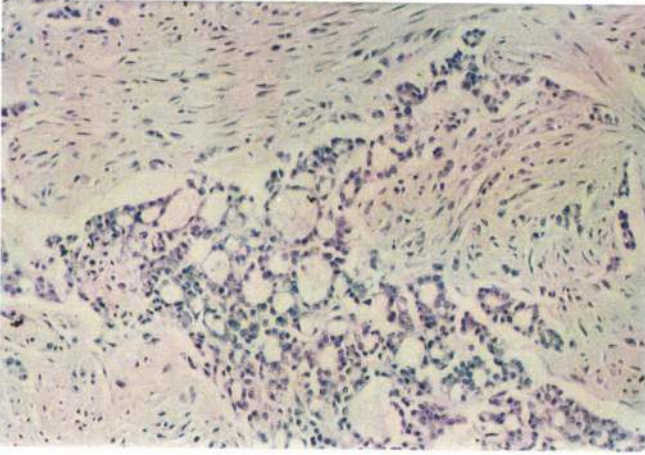
Epitelyal ve bifazik MM olguları gözönüne alındığında 15 olguda tübölöpapiller, 10 olguda tübüler, dört olguda papiller büyüme paterni saptanmıştır (Şekil 4-5). Kalan 14 olgunun ise solid ve diğer paternlerin kombinasyonu olduğu görülmüştür. İki olgunun adenoid patern de içerdği saptanmıştır (Şekil 6). Ayrıca beş olguda fibröz plak görülmüştür. Fokal veya diffüz mikzoid dejenerasyon ve hiyalinizasyon alanları izlenmiştir.



Şekil 4 : Epitelyal MM olgusunda tubölöpapiller patern (HE X 40)

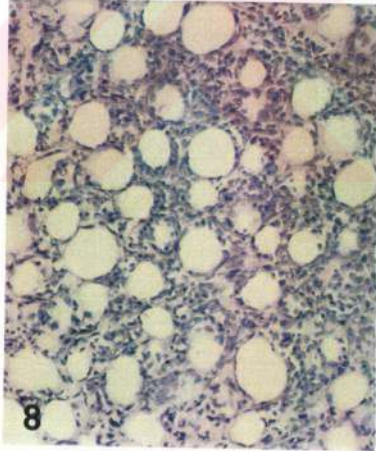
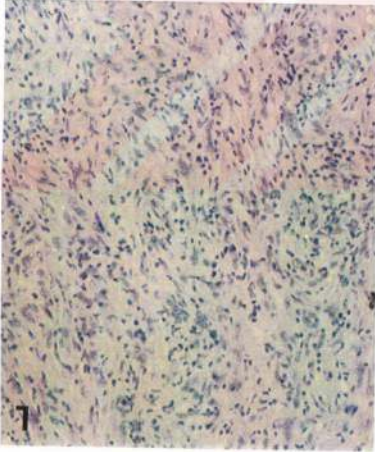


Şekil 5 : Tübüler patern gösteren epitelyal MM (HE X 200)



Şekil 6 : Bifazik MM olgusunda adenoid kistik patern gösteren epitelyal komponent (HE X100)

Sarkomatöz MM olgularından ikisinde sarkoma benzer şekilde yağ dokusu infiltrasyonu ve geniş nekroz alanları saptanmıştır (Şekil 7-8).

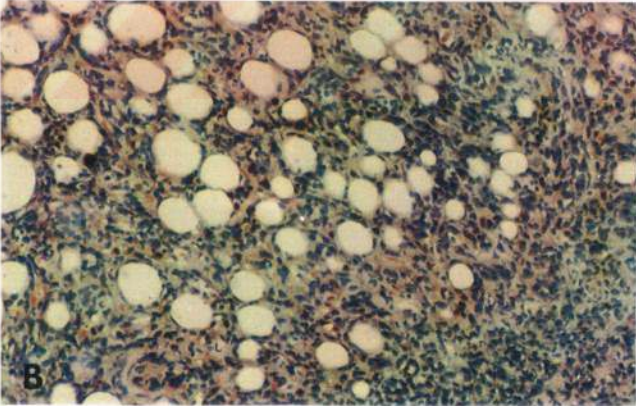
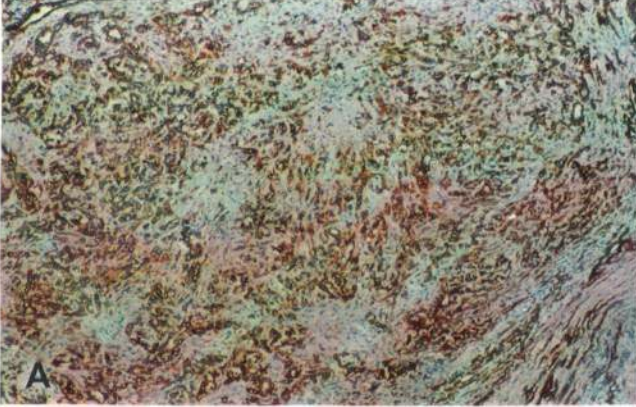


Şekil 7: Sarkomatöz MM olgusunda iğsi biçimli tümör hücreleri ve arada iltihabi hücreler(HEX 100)

Şekil 8: Sarkomatöz MM'da yağ dokusu invazyonu(HEX100)

Histokimyasal olarak uygulanan D-PAS bütün MM olgularında negatif bulunmuş, mûsikarmen boyası ile üç olguda fokal mûsin pozitifliği saptanmıştır. Kontrol grubunda bir olguda mûsin negatif bulunmuş, diğer olgularda D-PAS ve mûsikarmen boyası ile pozitif boyanma saptanmıştır.

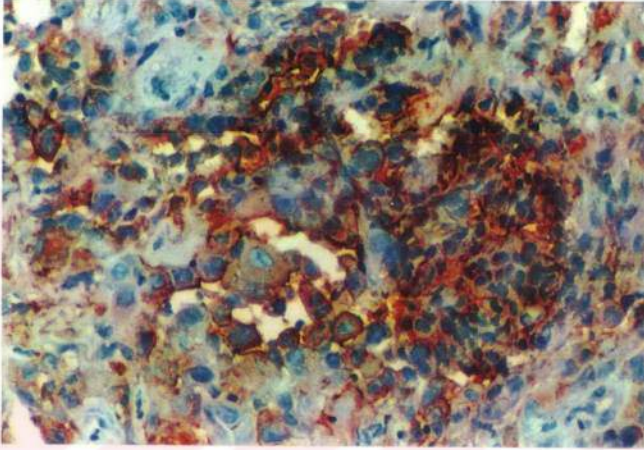
İmmünohistokimyasal yöntemle uygulanan keratin, bütün olgularda sitoplazmik pozitif boyanma göstermiştir (Şekil 9 A,B).



Şekil 9A: Epitelyal MM'da diffüz keratin pozitifliği(immünperoksidaz x40)

9B: Sarkomatöz MM'da keratin pozitifliği(immünperoksidaz x 100)

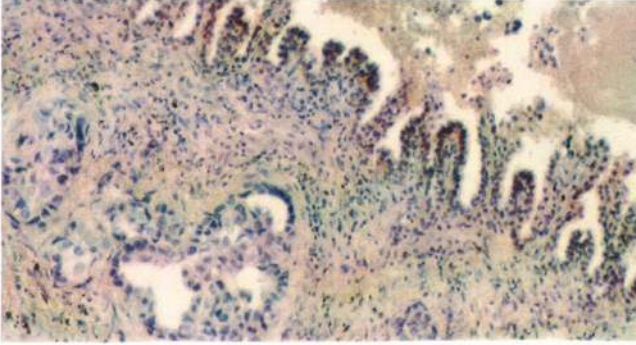
Epitelyal MM ve bifazik MM'nin epitelyal alanlarında EMA diffüz olarak pozitif bulunmuş, kalın membranöz boyanma paterni gösterdiği saptanmıştır (Şekil 10). Sarkomatöz MM olgularından ikisinde EMA ile fokal pozitif diğer sarkomatöz MM ve desmoplastik MM olgularında ise negatif boyanma görülmüştür. Kontrol grubunda bütün olgularda EMA ile diffüz, sitoplazmik boyanma saptanmıştır.



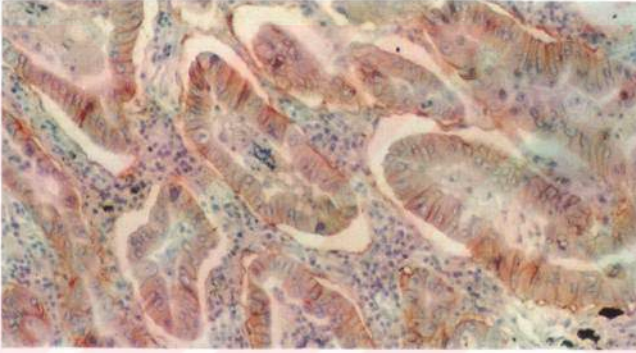
Şekil 10: Epitelyal MM'da EMA ile sitoplazmik ve belirgin membranöz boyanma(immünperoksidazx200)

CEA üç MM olgusunda (%6) zayıf pozitif saptanmış, diğer olgularda negatif bulunmuştur. Kontrol grubunda ise iki olguda negatif, kalan 18 olguda pozitif sonuç vermiştir.

MOC 31 monoklonal antikoru ile 46 MM olgusunun beşinde (%10.86) sitoplazmik pozitif boyanma görülmüş, ayrıca üç olguda normal mezotel hücrelerinde pozitif boyanma izlenmiştir(Şekil 11). Kontrol grubunda 14(%70) olguda sitoplazmik ve yer yer ince membranöz pozitif boyanma saptanmıştır(Şekil 12).

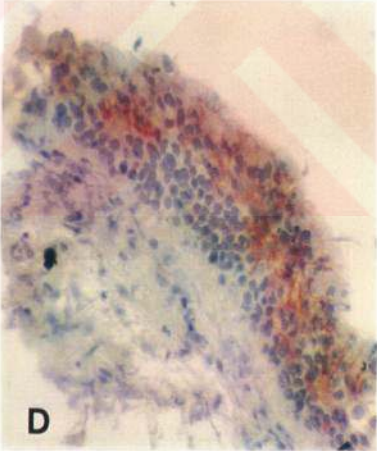
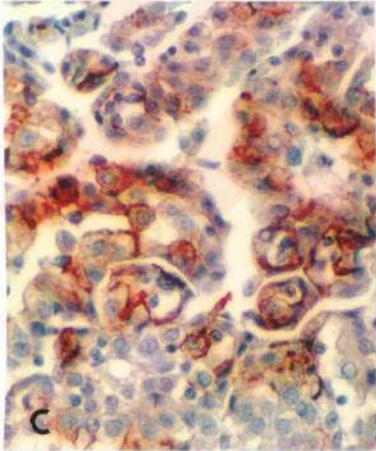
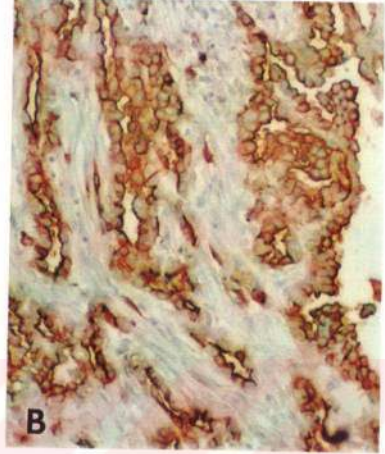
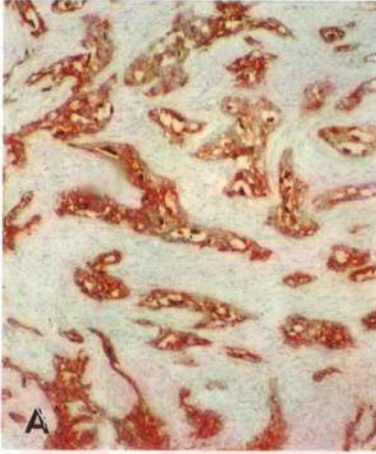


Şekil 11: MOC 31 ile normal mezotel hücrelerinde pozitif boyanma(immünperoksidaz x100)



Şekil 12: Adenokarsinoma olgusunda MOC 31 ile sitoplazmik ve ince membranöz boyanma(immünperoksidaz x200)

HBME-1 ile 46 MM olgusunun 43'ünde (%93.4) pozitif boyanma saptanmış, epitelyal MM ve bifazik MM'nın epitelyal komponentinde güçlü, kalın membranöz ve sitoplazmik pozitif boyanma görülmüştür(Şekil 13 A,B,C). Sarkomatöz MM ve desmoplastik MM olgularında fokal sitoplazmik boyanma saptanmıştır. Üç epitelyal MM olgusunda ise negatif boyanma izlenmiştir. Kontrol grubunda 11 olguda(%55) sitoplazmik pozitif boyanma saptanmış, kalan dokuz olguda negatif sonuç vermiştir. HBME-1 ile bronş epiteline pozitif boyanma izlenmiştir(Şekil 13 D).



Şekil 13: HBME -1 ile epitelyal MM'da sitoplazmik ve kalın membranöz boyanma **A:**(immünperoksidazx40) **B:**(immünperoksidazx100) **C:** (immünperoksidaz x200) **D:** HBME-1 ile bronş epiteline pozitif boyanma (immünperoksidaz x200)

İmmünohistokimyasal ve histokimyasal boyanma sonuçları tablo VII'de gösterilmiştir.

Tablo VII: Olguların immünohistokimyasal ve histokimyasal boyanma sonuçları

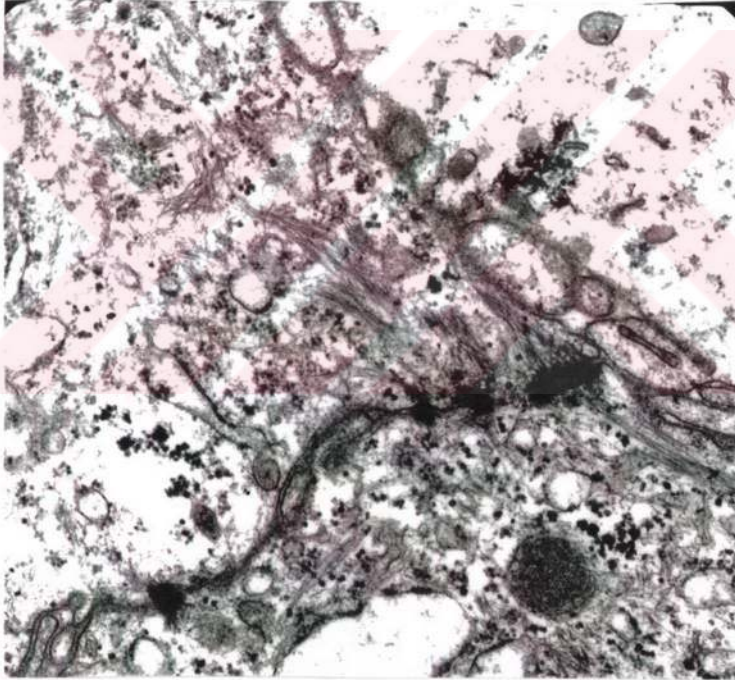
	MM		Adenokarsinoma		Plevral metastaz	
	Olgu sayısı	Pozitif %	Olgusayısı	Pozitif %	Olgu sayısı	Pozitif %
Keratin	50/50	100	10/10	100	10/10	100
EMA	45/50	90	10/10	100	10/10	100
CEA	3/50	6	10/10	100	8/10	80
HBME-1	43/46	93.4	7/10	70	4/10	40
MOC 31	5/46	10.86	7/10	70	7/10	70
D-PAS	0/50	0	10/10	100	10/10	100
Müsikarmen	3/50	6	10/10	100	9/10	90

MM ve kontrol grubu olgularında histokimyasal ve immünohistokimyasal boyanma yüzdeleri karşılaştırmak için ki kare testi uygulanmış, kritik anlamlılık seviyesi olarak 0.05 değeri kabul edilmiştir. Keratin ve EMA pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. HBME-1 pozitifliği MM'da, CEA, MOC 31, D-PAS ve müsikarmen pozitif boyanması adenokarsinomalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Olguların ki kare testi ve p değerleri tablo VIII'de gösterilmiştir.

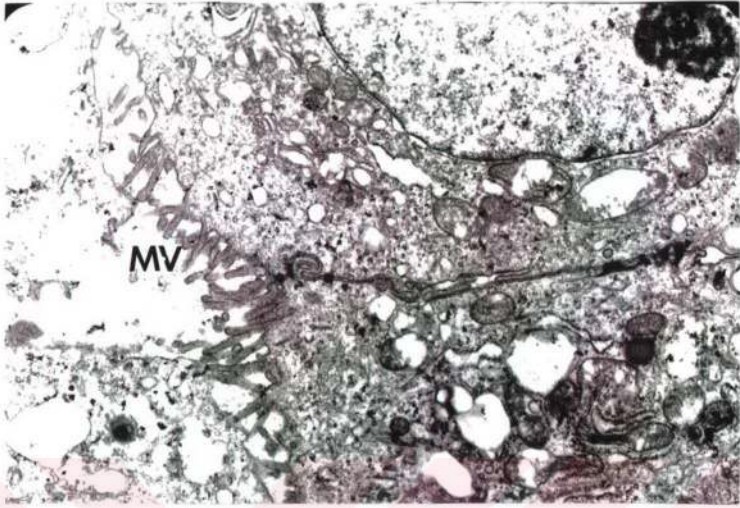
Tablo VIII: MM ve kontrol grubu olgularında histokimyasal ve immünohistokimyasal boyanma ve ki kare testi sonuçları

	MM		Kontrol grubu		Ki kare	P
	Olgu sayısı	Pozitif %	Olgu sayısı	Pozitif %	(χ^2)	Değeri
Keratin	50/50	100	20/20	100	0	1.0
EMA	45/50	90	20/20	100	0.510	0.34
HBME-1	43/46	93.4	11/20	55	11.408	0.000
CEA	3/50	6	18/20	90	44.083	0.000
MOC 31	5/46	10.86	14/20	70	20.977	0.000
D-PAS	0/50	0	20/20	100	65.186	0.000
Müsikarmen	3/50	6	19/20	95	48.548	0.000

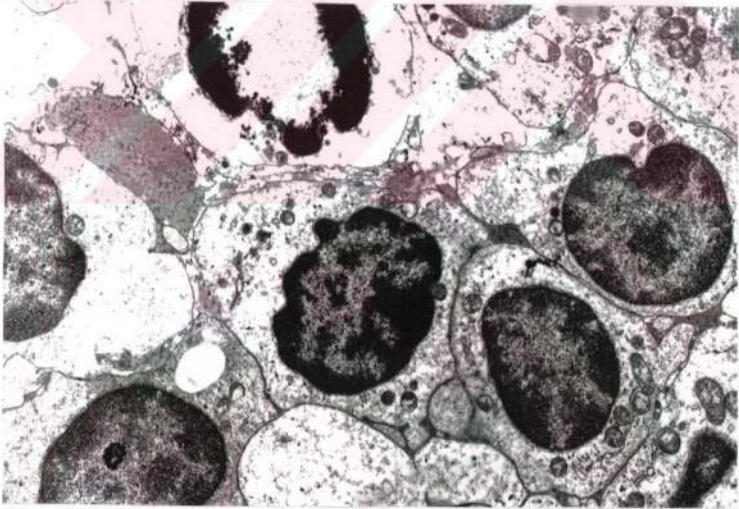
İki epitelyal ve bir bifazik MM ve fibröz plak olgusunun plevra ve akciğer doku örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde; epitelyal hücrelerin iyi gelişmiş hücre bağlantılarına sahip olduğu görülmüştür. Sitoplazmalarında glikojen içerdikleri ve orta derecede yüzey mikrovillusları olduğu saptanmıştır (Şekil 14-15). Bazı az diferansiye hücrelerin ise mikrovillus içermedikleri ve nonspesifik özellikler gösterdiği görülmüştür (Şekil 16). İğsi hücrelerde iyi gelişmiş hücre bağlantılarının olmadığı ve bunların bazılarının fibroblastlara benzediği izlenmiştir. Hücre yüzeyinde mikrovilluslar görülmemiştir. Akciğer dokusunda kollajen miktarında artma ve intertisyumda fibroblastlar saptanmıştır. Hücrelerin sitoplazmasında asbest fibrilleri görülmüştür (Şekil 17).



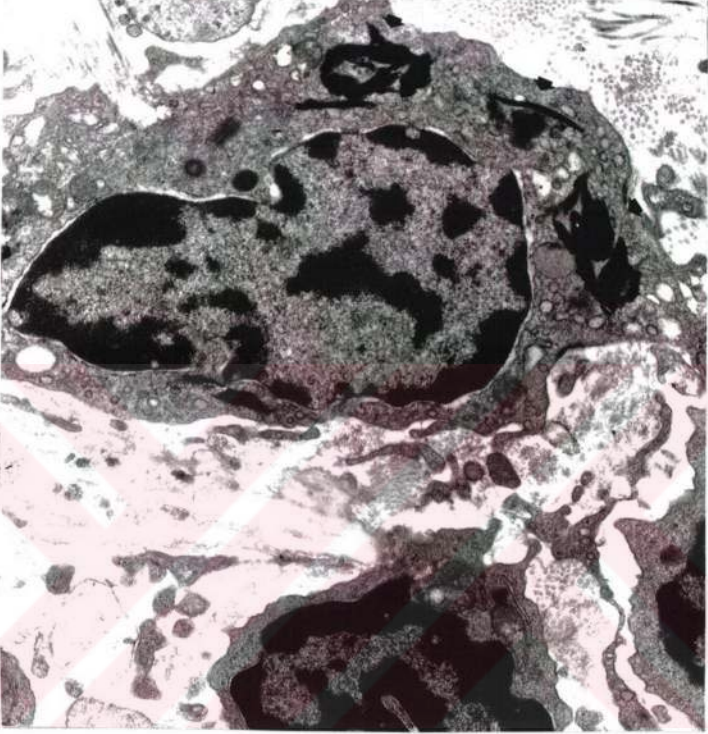
Şekil 14: Epitelyal hücre sitoplazmalarında desmozomlar, intermedier filamentler ve glikojen partikülleri (x40000)



Şekil 15: Epitelyal hücre yüzeylerinde mikrovilluslar ve sitoplazmada organel zenginliği (x14000)

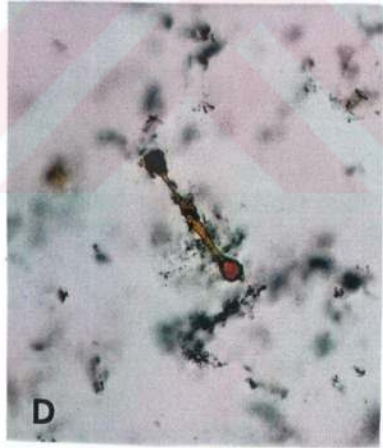
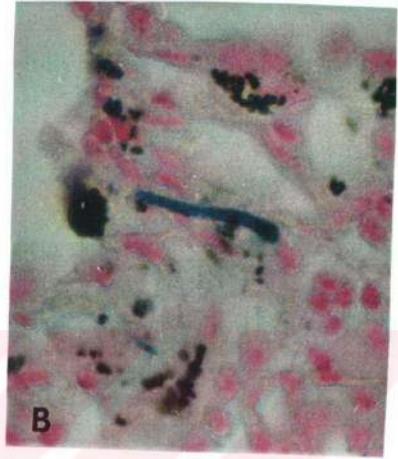
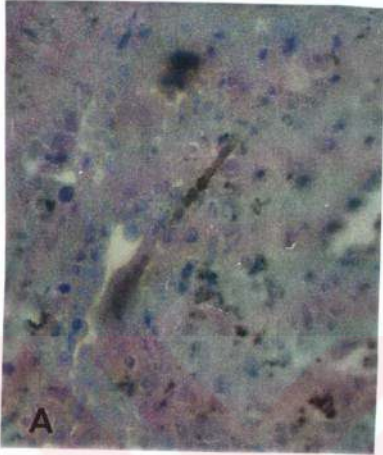


Şekil 16: Nonspesifik özellikler gösteren az differansiye hücreler (x8800)



Şekil 17: Akciğerde interstisyel hücre sitoplazmasında asbest fibrilleri (x14000)

Akciğer doku örnekleri de bulunan beş olguda alveoler makrofajlar içinde ve serbest olarak ferriginöz (asbest) cisimcikler görülmüştür (Şekil 18 A,B,C,D).



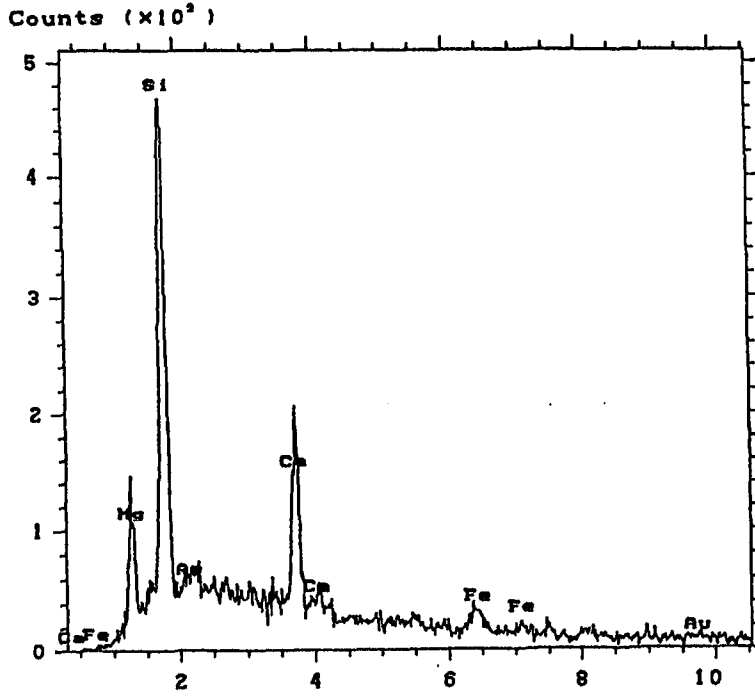
Şekil 18 : Akciğer dokusunda ferriginöz cisimcikler **A:** (HE x400) **B:** (Prusya mavisi x 400) **C ve D:** EDXA yönteminde nükleopore filtrede toplanan asbest cisimcikleri

Fibröz plak ve iki MM olgusunun akciğer dokularına mineralojik analiz uygulanmıştır. Fibröz plak olgusunda (H.G) ışık mikroskobu ile akciğer dokusunun her bir gramında 21.900 asbest cisimciği görülmüştür. SEM ile her bir gramında 107.000 asbest cisimciği ve 435.000 çıplak fibril saptanmıştır. Yirmi adet çıplak fibril EDXA ile incelenmiştir. On yedi fibrilin Si-Mg-Ca-Fe içerdiği, actinolite asbest olduğu, bir fibrilin Si- Mg-Ca içerdiği, tremolite asbest olduğu görülmüştür. İki fibrilin de erionit olduğu saptanmıştır. EDXA ile incelenen 10 asbest cisimciğinin actinolite içerdiği bulunmuştur.

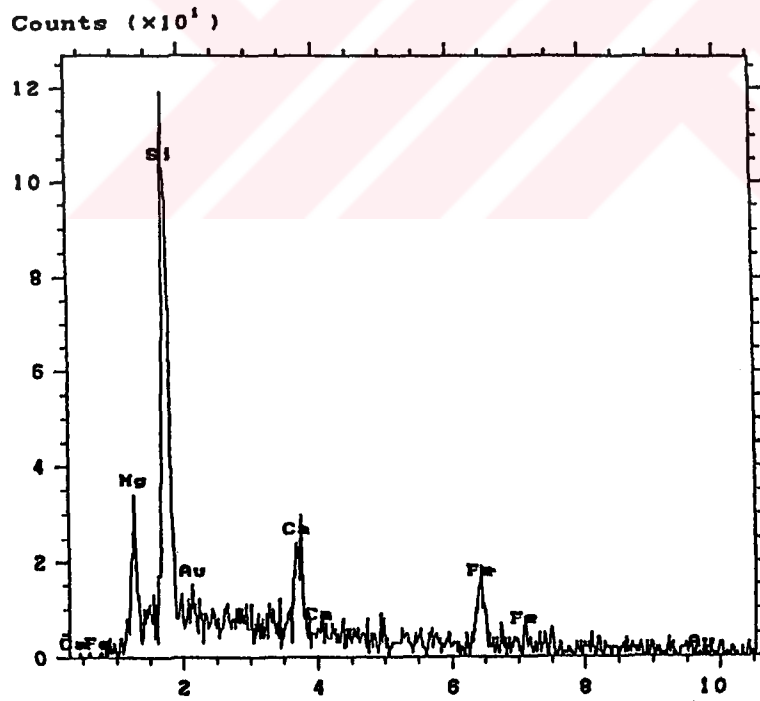
Epitelyal MM olgusunda (A.C) ışık mikroskobu ile akciğer dokusunun her bir gramında 36 asbest cisimciği saptanmıştır (Normal sınır 0-20 /gm) . SEM ile gram başına 1.300 asbest cisimciği ve 34.200 çıplak fibril bulunmuştur. Yirmi adet çıplak fibril EDXA ile incelenmiş, 13'ünün Si-Mg-Ca içeriği ile termolite asbest, dördünün Si-Mg-Ca-Fe içeriği ile actinolite asbest olduğu saptanmıştır. Kalan üç fibrilden ikisinin rutil, birinin de çinko olduğu bulunmuştur. Bu örnekte erionit tespit edilmemiştir.

Sarkomatöz MM olgusunda (A.K) akciğer dokusunun her bir gramında ışık mikroskobu ile 1.400 asbest cisimciği, SEM ile 4.490 asbest cisimciği ve 450.000 çıplak fibril saptanmıştır. EDXA ile incelenen 20 çıplak fibrilden 13'ünün tremolite, yedisinin actinolite asbest olduğu görülmüştür. Bu örnekte de erionit saptanmamıştır. Şekil 19-20'de tremolite ve actinolite asbest fibrillerinin EDXA grafikleri gösterilmiştir.

Takipleri yapılan on olgudan sekizi tanı konulduktan dört ile ondört ay sonra exitus olmuşlardır. İki olgunun ise hayatta olduğu öğrenilmiştir. Biri 30 ay önce diğeri ise 12 ay önce tanı almış ve tedavi görmüşlerdir.



Şekil 19: Tremolite asbest fibrilinin EDXA grafiği



Şekil 20: Actinolite asbest fibrilinin EDXA grafiği

6.TARTIŞMA

Ülkemizde asbest ve asbest benzeri fibriller ile oluşan MM ve diğer patolojilerin varlığı bilinmekle birlikte bu çok önemli çevresel problemin üzerinde fazla durulmamış ve yalnızca bir grup araştırmacının çalışmaları ile sınırlı kalmıştır.

Antakya, Sivas, Erzincan, Bursa ve Eskişehir yörelerinde büyük asbest yatakları bulunmaktadır. İzmir, Çanakkale, Konya, Adana, Ağrı, Çorum, Çankırı ve Ankara yörelerinde de daha az olmakla birlikte asbest yataklarının olduğu ve bunların çevresel olumsuz etkileri bilinmektedir.¹¹

Barış ve arkadaşları,^{5,7,8,9,60} Kapodokya'da bulunan üç köyde toprak, ev badana ve sıva örneklerinde yaptıkları mineralojik incelemelerde yüksek oranda erionit yanısıra chrysotile, actinolite ve crocidolite olduğunu da göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar bu yörede saptanan MM olgularının birkaçında akciğer dokusunun mineralojik analizini yapmışlardır. Yazıcıoğlu ve arkadaşları,^{74,75} Diyarbakır ve çevresini içeren çalışmalarında tremolite asbeste bağlı MM ve akciğer kanseri olguları bildirmişlerdir. Ancak yapılan kaynak taraması, bu yöredeki çalışmaların sınırlı olduğunu ve sorunun gerçek boyutlarını ortaya koyacak epidemiyolojik çalışmaların mevcut olmadığını göstermiştir. Bu çalışma kapsamına alınan olgular, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine ve Adana'nın diğer iki büyük hastanesine Diyarbakır, Şanlıurfa, Adıyaman, Hatay, Kahramanmaraş, Adana ve Malatya gibi Güney ve Güneydoğu Anadolunun değişik illerinden başvurmaktadır. Özellikle Hatay ve çevresinde büyük asbest yatakları olduğu bilinmekle birlikte literatürde bu konuda da detaylı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Barış ve arkadaşlarının¹¹ incelemelerde bulundukları diğer bir bölge Konya'nın Ereğli ilçesidir. Araştırmacılar bu bölgede 14 MM olgusu saptamışlar, çevresel kaynakları da incelemişlerdir. Ancak yalnızca bazı beyaz toprak örneklerinde tremolite saptamışlardır. Bizim çalışmamıza dahil edilen

olgulardan biri Konya'nın Ereğli ilçesinden başvurmuştu. Doğduğundan beri Ereğli'de yaşamış bir ev kadınıydı. Bu olgunun akciğer biyopsisi olmadığı için mineralojik çalışma yapılamamıştır.

Dokudaki fibril mineral içeriğini belirlemek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Son yıllarda yaygın olarak kullanılan ve bu alanda önemli bir yeri olan EDXA ile analiz yöntemidir.⁵⁶ Ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarda mineralojik analiz için kullanılan yöntemler detaylı bir şekilde belirtilmemiş, Barış ve arkadaşlarının çalışmalarının bir kısmında Gold'un doku digestion tekniği, bir kısmında elektron probe, birkaçında ise EDXA ile analiz yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmamızda EDXA ile analiz edilen 2 MM olgusundan biri Şanlıurfa'dan Adıyaman'dan gelmekteydi ve oldukça yüksek oranda tremolite ve actinolite maruz kaldıkları saptandı. Mineralojik analizi yapılan diğer olgu plevral fibröz plak olgusudur. Çocukluk ve gençlik dönemini Kahramanmaraş'ın Elbistan ilçesine bağlı bir köyde geçirmiş, şu anda ise Tarsus'da yaşamakta olan bu hastanın akciğer dokusunda actinolite, tremolite ve erionit saptandı. Bu üç olguda da mesleki olarak asbeste maruz kalma öyküsü yoktu. Bu bulgular Güney ve Güneydoğu Anadolu'da asbest ve asbest benzeri fibriller içeren çevresel kaynakların varlığını desteklemektedir.

Asbest inhalasyonu sonucu oluşan diğer patolojiler plevral fibrozis, fibröz plak ve akciğerde intertisyel fibrozisdir.^{34,35,56} Bu çalışmada incelenen plevral doku örneklerinde MM yanı sıra, 5 olguda fibröz plak, 10 olguda da hiyalinize fibrozis saptanmıştır. Akciğer biyopsi örnekleri olan 5 olguda intertisyel fibrozis görülmüştür.

Malign mezotelyoma erkeklerde daha sık görülmektedir. Olgularımızda erkek / kadın oranı 2.5 / 1 olarak bulunmuştur. Adams ve arkadaşları,¹ 92 olguyu içeren çalışmalarında bu oranı 3.5 / 1, Chailleux²¹ ise 167 olguluk geniş serisinde 20 / 1 olarak saptamışlardır. Bu çalışmalarda, olgularda mesleki asbest öyküsü vardır. Bizim olgularımızın çevresel MM olması E/K oranının daha düşük olmasını açıklamaktadır.

Malign mezotelyomada histopatolojik subtipleri ile prognoz arasındaki ilişki literatürdeki bazı kaynaklarca vurgulanmıştır. Bu çalışmaların ikisinde epitelyal MM'nın diğerlerine göre daha iyi prognoz gösterdiği öne sürülmektedir.^{1,39} Bu araştırmacılar ortalama yaşamı, epitelyal tip için sırasıyla 14 ve 17 ay, bifazik tip için 8 ve 10 ay, sarkomatöz tip için 4 ve 10 ay saptamışlardır. Bizim serimizde takipli olgulardan dokuzu epitelyal tip, biri bifazik tip MM'dır. Ortalama yaşam epitelyal tip için 14 ay, bifazik tip için 11 aydır. Ayrıca coğrafik dağılım ve histopatolojik tip arasında da bir ilişki saptanmadı.

Van Gelder ve arkadaşları,³¹ MM'ların birçoğunun yeteri kadar ve büyük örneklendiği takdirde bifazik olduğunu ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar torakoskopi, torakotomi ve otopsi gibi tekniklerle elde edilen büyük materyallerde %63 oranında bifazik MM tespit etmişler, küçük biyopsilerde ise bu oranı %36 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda 20 büyük biyopsi materyalinden 11'i (%55) epitelyal MM, 5'i (%25) bifazik MM ve 4'ü (%20) sarkomatöz MM olarak değerlendirilmiştir. 30 küçük biyopsi materyalinden ise 25'i (%83.33) epitelyal , 2'si (%6.67) bifazik, 2'si (6.67) sarkomatöz ve 1'i (%3.33) desmoplastik MM tanısı almıştır. Büyük biyopsi materyallerinde daha yüksek oranda bifazik MM saptanmıştır.

MM tanısı ve özellikle plevral invazyonu olan akciğerin malign tümörleri ve plevraya metastaz yapmış diğer organ tümörleri ile ayırıcı tanısı büyük problem oluşturmaktadır.

Fibröz veya sarkomatöz MM'nın ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken lezyonlar fibröz plöritis, metastatik sarkom ve akciğerin spindle hücreli karsinomudur. Bu lezyonlarda ayırıcı tanıya gitmek daha kolaydır, çünkü sarkomatöz MM, keratin antikoru ile pozitif reaksiyon vererek fibröz plöritis ve sarkomlardan; plevrayı diffüz olarak tutması ile de spindle hücreli karsinomdan kolayca ayrılabilir. Artmış sellülarite, atipik mitozlar, yağ ve iskelet kasının invazyonu gibi histolojik bulgularla da benign lezyonlar ekarte edilebilir. Elektron mikroskopik incelemenin ayırıcı tanıda çok büyük önemi yoktur.^{13,15,35}

Epitelyal MM ayırıcı tanısında ise öncelikle ekarte edilmesi gereken lezyonlar adenokarsinoma ve mezotel hücre proliferasyonudur. Epitelyal MM'yi taklit edebilen diğer lezyonlar ise timoma, metastatik malign melanoma, sinovial sarkoma ve psödomezotelyomatöz adenokarsinomadır.^{29,43,49} Biyolojik davranış, tedavi ve prognozları çok farklı olan bu lezyonları özellikle MM ve adenokarsinomayı birbirinden ayırmak bazen çok zor olabilmektedir. Bu amaçla elektron mikroskopik, histokimyasal, immünohistokimyasal çalışmalara başvurulmaktadır.^{23,63}

Elektron mikroskopi, MM tanısı ve adenokarsinomadan ayırıcı tanısında oldukça önemli bir yöntemdir. Bazı araştırmacılar, ultrastrüktürel incelemeyi objektif kriterlere dayanması nedeniyle ayırıcı tanıda tercih etmektedirler. İmmünohistokimyasal yöntemle ortaya çıkabilecek ve yalancı negatif veya pozitif değerlendirmeye yol açacak antijen kaybı veya nonspesifik boyanmanın bu yöntem için geçerli olmadığını savunmaktadırlar.¹⁵

Epitelyal MM hücrelerinin karakteristik özelliği uzun ve ince mikrovilluslara sahip olmalarıdır. Hücre bağlantıları iyi gelişmiştir, sitoplazmik organeller boldur ve intrasitoplazmik glikojen partikülleri içerirler. Buna karşılık adenokarsinom hücrelerinin içerdikleri mikrovilluslar sayıca daha az, daha kısa ve kalındır.²⁸ Elektron mikroskopik olarak incelenen üç MM olgumuzda tanımlanan özelliklerin tümü izlenmiştir.

Malign mezotelyomalarda nötral müsün oluşumu mevcut değildir. Plevral bir tümörde D-PAS pozitif intrasitoplazmik damlacıklar adenokarsinoma tanısı için diagnostiktir. Yaklaşık %5 epitelyal MM olgusunda müsikarmen ile sitoplazmik boyanma izlenebilir. Bu boyanma hiyalürinik asidin çapraz reaksiyon vermesinin bir sonucudur ve hiyalürinidaz ile solma gösterir.⁴⁷ Literatürde bazı serilerde¹⁷ D-PAS pozitif MM olguları bildirilmekle birlikte çok sayıda olgu içeren pek çok çalışmada bu özel boyanın negatif olduğu ortaya konmuş ve D-PAS, klasik MM panelinin en önemli özel boya yöntemlerinden biri olarak yerini almıştır.⁷¹ Bizim çalışma grubumuza dahil edilen tüm olgularda D-PAS özel boyası negatif bulunmuştur. Bu çalışmada üç MM olgumuzda fokal müsikarmen pozitifliği saptanmıştır. Bulgularımız literatür ile uyumludur. Kontrol

grubu olarak seçilen adenokarsinoma olgularında ise, D-PAS ile tamamında, müsikarmen ile biri hariç diğer tüm olgularda intrasitoplazmik pozitif damlacıklar saptanmıştır.

Son yıllarda MM tanısında ve adenokarsinoma ile ayırıcı tanısında immünohistokimya önemli bir rol oynamaya başlamıştır. MM'nin immünohistokimyasal değerlendirmesinde bir antikorlar paneli kullanılmaktadır. MM ile plevral adenokarsinoma ayırıcı tanısında önerilen antikorlar şunlardır: keratin, CEA, leu M1, B72.3 ve Ber Ep4^{46,51,52} Diğer bazı araştırmacılar bu panele vimentin, sekretuar komponent, trombomodulin, CA 125, HMFG-2, EAB902 gibi antikorları da eklemiştir.^{17,72}

Keratin her iki tümörde de pozitif sonuç vermekle birlikte lezyonun immünoreaktivitesini kontrol amacıyla kullanılır. Keratin, çalışmamızda MM ve kontrol grubunda bütün olgularda pozitif bulunmuştur. Keratinin sarkomatöz MM'ı sarkomlardan ayırmada önemli bir yeri vardır.

Karsinoembriyonik antijen (CEA), adenokarsinomalarda yüksek oranda pozitif MM'da ise genellikle negatiftir. Ayırıcı tanıda oldukça önemli bir yer tutar. Kullanılan yöntem ve seçilen antikora bağlı olarak MM'da da %1-11 arasında pozitiflik görülebilir.⁴⁶ Dejmek ve arkadaşları,²⁴ poliklonal antikor ile 61 MM olgusunun 13'ünde pozitiflik saptamışlar, farklı monoklonal antikorlar ile de değişik oranlarda pozitiflik bulmuşlardır. Farklı kaynaklardan elde edilen monoklonal antikorlardan biri ile yedi, diğeri ile de iki olguda pozitiflik saptamışlardır. Sheibani ve arkadaşları da,⁶³ poliklonal CEA ile 28 MM olgusundan ikisinde boyanma izlemişlerdir ancak monoklonal antikor ile olguların hiçbirisi pozitif reaksiyon vermemiştir. Çalışmamızda üç MM olgusunda (%6) CEA zayıf pozitif bulunmuş, kontrol grubunda ise iki olguda negatif boyanma saptanmıştır. Adenokarsinomalarda CEA ile %65 -95 arasında değişen oranlarda pozitiflik bildirilmektedir.^{14,17,42,48} CEA yüksek sensitivitesi nedeniyle MM panelinin en önemli antikoru olma özelliğini korumaktadır.

MOC 31, yeni bir antikordur. Epitelyal hücrelerde pozitif, mezotelyoma ve normal mezotel hücrelerinde negatif sonuç verdiği iddia edilmektedir.^{27,65,59} Ryan ve arkadaşları,⁵⁹ bir olgu sunumu ile MOC 31'in adenokarsinoma

tanısında ve ayırıcı tanıda oldukça önemli bir yeri olduğunu göstermişlerdir. Edwards ve arkadaşları,²⁷ 43 MM ve 44 adenokarsinoma içeren çalışmalarında MOC 31 ile bir MM olgusunda pozitif reaksiyon gözlemişler, adenokarsinomaların ise biri hariç tümünde pozitif boyanma özelliği saptamışlardır. Sosolik ve arkadaşları⁶⁵ da yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan 23 MM ve 23 adenokarsinoma olgusunda MOC 31 bütün adenokarsinomalarda pozitifdir. MM'ların birinde zayıf pozitiflik elde edilmiş, diğer olgular negatif reaksiyon vermişlerdir. Çalışmamızda 46 MM olgusundan beşinde (%10.86), 20 olguluk kontrol grubundan 14'ünde (%70) MOC 31 ile pozitif boyanma saptanmıştır. Bizim bulgularımıza göre adenokarsinomalarda MOC 31 pozitifliği literatürde verilen oranların altındadır. Ayrıca üç MM olgumuzda, normal mezotel hücrelerinde MOC 31 ile pozitif boyanma görülmüştür.

Epitelyal membran antijen (EMA) ile elde edilen boyanma paterni tanıya yardımcıdır. MM hücrelerinde membranöz boyanma belirginken, adenokarsinomalarda sitoplazmik boyanmanın dominant olduğu görülür. Dejmek ve arkadaşları,²⁵ 103 MM olgusundan 79'unda EMA pozitifliği saptamışlar ve membranöz boyanmanın belirgin olduğunu göstermişlerdir. Van der Kwast ve arkadaşları⁶⁸ EMA pozitifliğinin mezotelyoma hücrelerindeki mikrovillus yoğunluğu ile ilgili olduğunu ileri sürmektedirler. Zeng ve arkadaşları⁷⁷ ise 30 MM hücre dizisinden sadece ikisinde pozitif reaksiyon gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada, altı MM hücre dizisinde mikrovilluslar oldukça yoğun olmasına rağmen sadece ikisinde EMA pozitif bulunmuştur. Bizim dört sarkomatöz ve desmoplastik MM olgumuz dışında diğer olgularda EMA pozitif bulunmuş, MM epitelyal hücrelerinde kalın, membranöz, adenokarsinomalarda ise sitoplazmik boyanmanın belirgin olduğu saptanmıştır.

Mezotel hücre belirleyicisi olarak ortaya çıkarılan pek çok yeni antikor vardır. Bunlardan bazıları HBME-1, trombomodulin, OV 632, AMAD-2 ve MAB 45'tir.^{4,12,26} Bateman ve arkadaşları,¹² 17 MM olgusunun tamamında HBME-1 ile kalın membranöz boyanma paterni saptamışlar, ancak bununla birlikte 14 adenokarsinoma olgusundan 10'unda da pozitif reaksiyon elde etmişlerdir.

Attanoos ve arkadaşları,⁴ HBME-1, trombomodulin ve OV 632 kullandıkları karşılaştırmalı çalışmalarında 32 adenokarsinoma olgusunun ikisinde trombomodulin ile, 20'sinde OV 632 ile, 23'ünde HBME-1 ile pozitif boyanma gözlemlemişlerdir. Aynı çalışmada incelenen 42 MM olgusunun 22'sinde trombomodulin, 27'sinde OV 632, 36'sında HBME-1 tümör hücrelerinde pozitifdir. Araştırmacılar bu bulgulara dayanarak, trombomodulinin diğer iki antikordan daha spesifik olduğunu öne sürmüşlerdir. Donna ve arkadaşları²⁶ da yeni bir antikor olan AMAD-2 ile HBME-1'i karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar AMAD-2 ile 84 MM olgusunun tamamında, HBME-1 ile ise 71 olguda, epitelial hücrelerde boyanma izlemişlerdir. Bu çalışmada on sarkomatöz MM olgusu her iki antikorla da negatif sonuç verirken 42 plevral metastaz olgusunda AMAD-2 ile üç, HBME-1 ile altı olguda pozitif boyanma saptanmıştır. Bu sonuçlar ile AMAD-2'nin ayırıcı tanıda daha spesifik ve sensitif olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışma grubumuzda HBME-1 ile 46 MM olgusunun 43'ünde (%93.4) kalın, membranöz boyanma saptanmış, kontrol grubunda 20 olgudan 11'inde (%55) sitoplazmik ve yer yer membranöz boyanma görülmüştür. Ayrıca olgularımızda HBME-1 ile normal bronş epitelinde de boyanma saptanmıştır.

Bu çalışmada immünohistokimyasal yöntemle uygulanan antikorlardan hiçbirinin tek başına MM ve adenokarsinoma ayırıcı tanısında yeterli olmadığı ve tek antikorla tanıya gitmeye çalışmanın yanlış pozitif ve negatif sonuçlara yol açabileceği bir kez daha gösterilmiştir. Panel uygulaması ile daha doğru ve güvenilir sonuçlar elde edilmektedir. Çalışmamızda, panelde yer alan antikorlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, HBME-1'in MM'da, CEA, MOC 31, D-PAS ve müsikarmenin adenokarsinomalarda istatistiksel olarak anlamlı ve değerli olduğu ortaya çıkmıştır.

Malign mezotelyoma tanısı için yeterli tek bir ideal antikor arayışı şüphesiz devam edecektir. Ancak, bu aşamada gözardı edilmemesi gereken bir diğer nokta MM tanısının, bahsedilen tüm antikor ve özel boya panelleri yanısıra klinik ve radyolojik korelasyonu gerektirdiği gerçeğidir.

7.SONUÇLAR

Bu çalışmanın sonuçları şöyle özetlenebilir:

- 1.Bu çalışmada 49 plevral MM, bir peritoneal MM ve bir fibröz plak olgusu yeniden değerlendirilmiş ve histopatolojik subtipleri belirlenmiştir.
- 2.Yirmi akciğer adenokarsinomu ve plevral metastaz olgusu kontrol grup olarak çalışmaya dahil edilmiştir.
- 3.Olguların 37'si (%72.55) erkek, 14'ü (%27.45) kadındır. En genç olgu 27, en yaşlı olgu 92 yaşında olup yaş ortalaması 56'dır.
- 4.Kontrol grubundaki 20 olgudan 14'ü (%70) erkek, altısı (%30) kadındır. En genç olgu 35, en yaşlı olgu 67 yaşında olup yaş ortalaması 55.5'tir.
- 5.MM olgularının 36'sı epitelyal, 6'sı sarkomatöz ,7'si bifazik, biri desmoplastik tip olarak sınıflandırılmıştır.
- 6.İki MM ve fibröz plak olgusunun akciğer doku örneklerinde mineralojik analiz yapılmıştır. İki MM olgusunda tremolite ve actinolite, fibröz plak olgusunda tremolite, actinolite ve erionit saptanmıştır.
- 7.MM ve adenokarsinoma ayırıcı tanısı çoğu zaman çok zor olmakta ve bunun için elektron mikroskopi, histokimya ve immünohistokimyasal çalışmalara başvurulmaktadır.
- 8.Üç MM ve fibröz plak olgusunun plevra ve akciğer doku örnekleri elektron mikroskopi ile incelenmiştir. MM epitelyal hücrelerinin uzun ve ince mikrovilluslara sahip olduğu, hücre bağlantılarının iyi geliştiği ve intrasitoplazmik glikojen partikülleri içerdikleri görülmüştür.
- 9.Olgulara histokimyasal yöntemle PAS, D-PAS ve müsikarmen özel boyaları uygulanmıştır. D-PAS ile MM olgularının tamamında negatif, müsikarmen ile üç MM olgusunda fokal pozitif boyanma saptanmıştır. Kontrol grubunda, D-PAS ile tamamında, müsikarmen ile biri hariç diğer tüm olgularda intrasitoplazmik pozitif damlacıklar görülmüştür.
- 10.Olgulara immünohistokimyasal yöntemle keratin, CEA, MOC 31,EMA, HBME-1 monoklonal antikorları uygulanmıştır.

11.Keratin ile MM ve kontrol grubunda tüm olgularda pozitif boyanma saptanmıştır.

12.CEA ile üç MM olgusunda(%6) zayıf pozitif boyanma saptanmıştır. Kontrol grubunda iki olguda negatif bulunmuş diğer tüm olgularda pozitif boyanma izlenmiştir.

13.MOC 31 ile 46 MM olgusundan beşinde (%10.86) pozitif boyanma saptanırken, kontrol grubunda 20 olgudan 14'ünün (%70) pozitif olduğu görülmüştür. Ayrıca üç MM olgusunda normal mezotel hücrelerini boyadığı izlenmiştir.

14.EMA ile 50 MM olgusundan 45'inde (%90) pozitiflik saptanmıştır. Epitelyal hücrelerde kalın membranöz boyanma görülmüş, iki sarkomatöz MM olgusunda fokal pozitif boyanma izlenmiştir. Kontrol grubunda olguların tamamında sitoplazmik boyanma saptanmıştır.

15.HBME-1 antikoru ile 46 MM olgusundan 43'ünde (%93.4) kalın membranöz ve sitoplazmik boyanma görülmüş, kontrol grubunda 11 olguda (%55) sitoplazmik ve yer yer membranöz boyanma saptanmıştır. Ayrıca HBME-1'in normal bronş epitelini de boyadığı izlenmiştir.

16.Bu çalışmada kullanılan panelde yer alan antikorlardan HBME-1 MM'da, CEA, MOC 31, D-PAS ve müsikarmen adenokarsinomlarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

17.MM ve adenokarsinoma ayırıcı tanısında hiçbir antikorun tekbaşına yeterli olmadığı panel uygulamasının gerekliliği yanısıra klinik-radyolojik-patolojik korelasyonun önemi bu çalışma ile irdelenmiştir.

8.KAYNAKLAR

1. Adams VI, Unni KK, Muhm JR, et. al: Diffuse malignant mesothelioma of pleura: diagnosis and survival in 92 cases. **Cancer** 1986; 58, 1540-1551.
2. Artvinli M, Barış YI: Environmental fiber induced pleuro pulmonary diseases in an Anatolian village: An epidemiologic study. **Arch Environ Health** 1982; 37: 3, 177-181.
3. Artvinli M, Barış YI: Mesotheliomas in a small village in the Anatolian region of Turkey: Epidemiologic study. **J Nat Cancer Inst** 1979; 63: 17-22.
4. Attanoos RL, Goddard H, Gibbs AR: Mesothelioma-binding antibodies: thrombomodulin, OV 632 and HBME-1 and their use in the diagnosis of malignant mesothelioma. **Histopathology** 1996; 29, 209-215.
5. Barış YI: Historical perspectives in occupational medicine. **Am J Ind Med** 1991; 19, 373-378.
6. Barış YI, Bilir N, Artvinli M, et.al: Non-occupational asbestos related chest diseases in a small Anatolian village. **Br J Ind Med** 1988; 45, 841-842.
7. Barış YI, Bilir N, Artvinli M, et. al: An epidemiological study in an Anatolian village environmentally exposed to tremolite asbestos. **Br J Ind Med** 1988; 45, 838-840.
8. Barış YI, Saracci R, Simonato L, et. al: Malignant mesothelioma and radiological chest abnormalities in two villages in Central Turkey. **The Lancet** 1981; 2, 984-987.
9. Barış I, Simonato L, Artvinli M, et. al: Epidemiological and environmental evidence of the health effects of exposure to erionite fibres: A four-year study in the Cappadocian region of Turkey. **Int J Cancer** 1987; 39, 10-17.
10. Barış YI, Şahin AA, Özesmi M, et. al: An outbreak of pleural mesothelioma and chronic fibrosing pleurisy in the village of Karain/Ürgüp in Anatolia. **Thorax** 1978; 33, 181-192.

11. Barış I: **Asbestos and erionite related chest diseases**. Semih ofset ve matbaacılık ltd. Co. 1987.
12. Bateman AC, Al-Talib RK, Newman T: Immunohistochemical phenotype of malignant mesothelioma: predictive value of CA 125 and HBME-1 expression. **Histopathology** 1997; 30, 49-56.
13. Battifora H, McCaughey WTE: Tumors of the serosal membranes, in **Atlas of tumor pathology**. Fas: 15, Armed Forces Institute of Pathology, Washington DC, 1994.
14. Battifora H, Kopinski MI: Distinction of mesothelioma from adenocarcinoma. **Cancer** 1985; 55, 1679-1685.
15. Bedrossian CWM: Malignant mesothelioma and other pleural tumors, in **Pathology of Pulmonary Disease** (eds. Saldana MJ), JB Lippincott Co, Philadelphia, 1994; 657-675.
16. Branchaud RM, Garant LJ, Kane AB: Pathogenesis of mesothelial reactions to asbestos fibers. **Pathobiology** 1993; 61, 154-163.
17. Brown RW, Clark GM, Tandon AK, Allred DC: Multiple-marker immunohistochemical phenotypes distinguishing malignant pleural mesothelioma from pulmonary adenocarcinoma. **Hum Pathol** 1993; 24:4, 347-354.
18. Cagle PT, Truong LD, Roggli VL, Greenberg SD: Immunohistochemical differentiation of sarcomatoid mesotheliomas from other spindle cell neoplasms. **Am J Clin Pathol** 1989; 92, 566-571.
19. 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.
20. Carbone M, Rizzo P, Pass HI: Simian virus 40, poliovaccines and human tumors: a review of recent developments. **Oncogene** 1997; 15, 1877-1888.
21. Chailleux E, Dabouis G, Pioche D, et. al: Prognostic factors in diffuse malignant mesothelioma. **Chest** 1988; 93:1, 159-162.
22. Churg A: Asbestos fiber content of the lungs in patients with and without asbestos airways disease. **Am Rev Respir Dis** 1983; 127, 470-473.

23. Collins CL, Ordonez NG, Schaefer R, et. al: Trombomodulin expression in malignant pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma. **Am J Pathol** 1992; 141:4, 827-833.
24. Dejmek A, Hjerpe A: Cacinoembryonic antigen-like reactivity in malignant mesothelioma. **Cancer** 1994; 73, 464-469.
25. Dejmek A, Hjerpe A: Immunohistochemical reactivity in mesothelioma and adenocarcinoma: A stepwise logistic regression analysis. **APMIS** 1994; 102, 255-264.
26. Donna A, Betta PG, Chiodera P, et. al: Newly marketed tissue markers for malignant mesothelioma: immunoreactivity of rabbit AMAD-2 antiserum , compared with monoclonal antibody HBME-1 and a review of the literature on so-called antimesothelioma antibodies. **Hum Pathol** 1997; 28:8, 929-937.
27. Edwards C, Oates J: OV 632 and MOC 31 in the diagnosis of mesothelioma and adenocarcinoma: an assessment of their use in formalin fixed and paraffin wax embedded material. **J Clin Pathol** 1995; 48, 626-630.
28. Erlandson RA: **Diagnostic Transmission Electron Microscopy of Tumors** Raven Press, New York, 1994; 529-534.
29. Gaertner E, Zeren H, Fleming MV, et. al: Biphasic synovial sarcomas arising in the pleural cavity. A clinicopathologic study of five cases. **Am J Surg Pathol** 1996; 20, 36-45.
30. Gaffney E: Carbonhydrates, in **Laboratory Methods in Histotechnology**. Armed Forces Institute of Pathology, Washington DC.
31. Gelder TV, Hoogsteden HC, Vandenbroucke JP, et. al: The influence of the diagnostic technique on the histopathological diagnosis in malignant mesothelioma. **Virchows Arch A** 1991; 418, 315-317.
32. Gelder TV, Damhuis RAM, Hoogsteden HC: Prognostic factors and survival in malignant pleural mesothelioma. **Eur Respir J** 1994; 7, 1035-1038.
33. Gibbs AR: Role of asbestos and other fibres in the development of diffuse malignant mesothelioma. **Thorax** 1990; 45, 649-654.
34. Gibbs AR: Occupational lung disease, in **Spencer's Pathology of the Lung** (Eds. Hasleton P), 5 th ed. Mc Grow-Hill Co, USA, 1996; 461-506.

- 35.Hasleton P: Pleural disease, in **Spencer's Pathology of the Lung** (Eds. Hasleton P), 5 th ed. Mc Grow-Hill Co, USA, 1996; 1131-1210.
- 36.Heineman EF, Bernstein L, Stark AD, Spirtas R: Mesothelioma, asbestos and reported history of cancer in first-degree relatives. **Cancer** 1996; 77, 549-554.
- 37.Heintz NH, Janssen YM, Mossman BT: Persistent induction of c-fos and c-jun expression by asbestos. **Proc Natl Acad Sci USA** 1993; 90,3299-3303.
- 38.Huncharek M: Genetic factors in the aetiology of malignant mesothelioma. **Eur J Cancer** 1995; 31A:11, 1741-1747.
- 39.Johansson L, Linden CJ: Aspects of histopathologic subtype as a prognostic factor in 85 pleural mesotheliomas. **Chest** 1996; 109, 109-114.
- 40.Khun C, West WW, Craighead JE, Gibbs AR: Lung, in **Anderson's Pathology** (Eds Damjanov I, Linder J), vol 1, 10 th Ed. Mosby, St Louis, 1996; 1470-1559.
- 41.Kobzik L, Schoen FJ: The lung, in **Pathologic Basis of Disease** (Eds Cotran RS, Kumar V, Robbins SL), 5 th Ed. Saunders Co. Philadelphia, 1994; 673-734.
- 42.Kortsik CS, Werner P, Freudenberg N, et. al: Immunocytochemical characterization of malignant mesothelioma and carcinoma metastatic to the pleura: IOB3- a new tumor marker. **Lung** 1995; 173, 79-87.
- 43.Koss MN, Travis WD, Moran C, Hochholzen L: Pseudomesotheliomatous adenocarcinoma: a reappraisal. **Semin Diagn Pathol** 1992; 9, 117-123.
- 44.Manzini VDP, Brollo A, Franceshi S, et. al: Prognostic factors of malignant mesothelioma of the pleura. **Cancer** 1993; 72, 410-417.
- 45.Mezger J, Lamerz R, Permanetter W: Diagnostic significance of carcinoembryonic antigen in the differential diagnosis of malignant mesothelioma. **J Thorac Cardiovasc Surg** 1990; 100, 860-866.
- 46.McCaughey WT, Colby T, Battifora H, et. al: Diagnosis of diffuse malignant mesothelioma; experience of a US/Canadian mesothelioma panel. **Modern Pathol** 1991; 4, 342-353.

47. McDonald JC, Armstrong B, Case B, et. al: Mesothelioma and asbestos fiber type. **Cancer** 1989; 63, 1544-1547.
48. Moch H, Oberholzer M, Dalquen P, et. al: Diagnostic tools for differentiating between pleural mesothelioma and lung adenocarcinoma in paraffin embedded tissue. Part I: immunohistochemical findings. **Virchows Arch A Pathol Anat** 1993; 423, 19-27.
49. Moran CA, Travis WD, Rosado de Christenson M, et. al: Tymomas presenting as pleural tumors. Report of eight cases. **Am J Surg Pathol** 1992; 16, 138-144
50. Mossman BT: Carcinogenesis and related cell and tissue responses to asbestos: a review. **Ann Occup Hyg** 1994; 38:4, 617-624.
51. Motoyama T, Watanabe T, Okazaki E, et. al: Immunohistochemical properties of malignant mesothelioma cells in histologic and cytologic specimens. **Acta Cytol** 1995; 39, 164-170.
52. Otis CN, Carter D, Cole S, Battifora H: Immunohistochemical evaluation of pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma. A biinstititunal study of 47 cases. **Am J Surg Pathol** 1987; 11, 445-456.
53. Patz EF, Valerie WR, Heelan R: The proposed new international TNM staging system for malignant pleural mesothelioma: Application to imaging. **AJR** 1996; 166, 323-327.
54. Rogers AJ, Leigh J, Berry G, et. al: Relationship between lung asbestos fiber type and concentration and relative risk of mesothelioma. **Cancer** 1991; 67, 1912-1920.
55. Roggli VL, Pratt PC, Brody AR: Asbestos fiber type in malignant mesothelioma: An analytical scanning electron microscopic study of 94 cases. **Am J Ind Med** 1993; 23, 605-614.
56. Roggli VL: The pneumoconioses: Asbestosis, in **Pathology of Pulmonary Disease** (Eds. Saldana MJ), JB Lippincott Co, 1994; 395-410.
57. Rosai J: Lung and pleura, in **Ackerman's Surgical Pathology** vol 1, 8 th ed. Mosby- year book inc, 1996; 338-342.

- 58.Rush VW, Venkatraman E: The importance of surgical staging in the treatment of malignant pleural mesothelioma. **J Thorac Cardiovasc Surg** 1996; 111, 815-826.
- 59.Ryan PJ, Oates L, Crocker J, Stableforth DE: Distinction between pleural mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma using MOC 31 in an asbestos sprayer. **Respir Med** 1997; 91, 57-60.
- 60.Selçuk ZT, Çöplü L, Emri S, et. al: Malignant pleural mesothelioma due to environmental mineral fiber exposure in Turkey. **Chest** 1992; 102, 790-796.
- 61.Shebani K, Battifora H, Burke JS: Antigenic phenotype of malignant mesothelioma and pulmonary adenocarcinomas. **Am J Pathol** 1986; 123, 212-219.
- 62.Shebani K, Esteban JM, Bailey A, et. al: Immunopathologic and molecular studies as an aid to the diagnosis of malignant mesothelioma. **Hum Pathol** 1992; 23:2, 107-116.
- 63.Skov BG, Lauritzen AF, Hirsch F, Nielsen HW: The histopathological diagnosis of malignant mesothelioma v.pulmonary adenocarcinoma: reproducibility of the histopathological diagnosis: **Histopathology** 1994; 24, 553-557.
- 64.Skov B, Lauritzen AF, Hirsch F, et. al: Differentiation of adenocarcinoma of the lung and malignant mesothelioma: predictive value and reproducibility of immunoreactive antibodies. **Histopathology** 1994; 25, 431-437.
- 65.Sosolik RC, Mcgaughy VR, De Young BR: Anti-MOC 31: A potential addition to the pulmonary adenocarcinoma versus mesothelioma immunohistochemistry panel. **Mod Pathol** 1997; 10:7, 716-719.
- 66.Spirtas R, Heineman EF, Bernstein L, et. al: Malignant mesothelioma: attributable risk of asbestos exposure. **Occup Environ Med** 1994; 51, 804-811.
- 67.Stayner LT, Dankovic DA, Lemen RA: Occupational exposure to chrysotile asbestos and cancer risk: a review of the amphibole hypothesis. **Am J Public Health** 1996; 86, 179-186.

68. Van der Kwast TH, Versnel MA, Delahaye M, et. al: Expression of epithelial membrane antigen on malignant mesothelioma cells. **Acta Cytol** 1988; 32, 169-174.
69. Vogelzang NJ: Malignant mesothelioma: diagnostic and management strategies for 1992. **Seminars in Oncology** 1992; 19:4 suppl 11, 64-71.
70. Wagner JC: Mesothelioma and mineral fibres. **Cancer** 1986; 57:10, 1905-1911.
71. Warnock ML, Stoloff A, Thor A: Differentiation of adenocarcinoma of the lung from mesothelioma: periodic acid schiff, monoklonal antibodies B 72.3 and leu M1. **Am J Pathol** 1988; 133, 30-38.
72. Wirth PR, Legier J, Wright GL: Immunohistochemical evaluation of seven monoclonal antibodies for differentiation of pleural mesothelioma from lung adenocarcinoma. **Cancer** 1991; 67, 655-662.
73. Xiao S, Li D, Vijg J, et. al: Deletion of p15 and p16 in primary malignant mesothelioma. **Oncogene** 1995; 11, 511-515.
74. Yazıcıoğlu S, Ilcayto R, Balcı K, et. al: Pleural calcification, pleural mesotheliomas and bronchial cancers caused by tremolite dust. **Thorax** 1980; 35, 564-569.
75. Yazıcıoğlu S, Oktem K, Ilcayto R, et. al: Association between malignant tumors of the lungs and pleurae and asbestosis. A retrospective study. **Chest** 1978; 73:1, 52-56.
76. Yegles M, Janson X, Dong HY, et. al: Role of fibre characteristics on cytotoxicity and induction of anaphase/telophase aberrations in rat pleural mesothelial cells in vitro: correlations with in vivo animal findings. **Carcinogenesis** 1995; 10:11, 2751-2757.
77. Zeng L, Feith J, Monnet I, et. al: Immunocytochemical characterization of cell lines from human malignant mesothelioma: characterization of human mesothelioma cell lines by immunocytochemistry with a panel of monoclonal antibodies. **Hum Pathol** 1994; 25:3, 227-234.

Ek Tablo I: Çalışmaya alınan olguların yaş, cinsiyet histopatolojik tanı dağılımı ve histokimyasal ve immünohistokimyasal boyanma sonuçları

Patoloji prot. no	Adı soyadı	Yaş, cins	Histopat. Tanı	Keratin	EMA	HBME-1	CEA	MOC 31	D. PAS	Müsin
6375/88	Ş.G..	27 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
929/89	M.T.	92 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
792/90	F.B.	65 , K	Epitelyal MM	+	+	+	-	+	-	+
7085/90	E.Y.	30 , K	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
11651/90	Ü.B.	62 , K	Epitelyal MM	+	+	-	-	-	-	-
10404/92	M.Ö.	67 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
10615/92	A.A.	68 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
5790/94	A.R.Ş	49 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	+
12252/95	S.K.	55 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
12563/95	F.K.	67 , K	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
4231/96	Ö.B.	50 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
15974/96	M.I.	65 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
14763/96	S.U.	42 , K	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	+
10070/97	A.C.	60 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
8345/97	Ü.O.	68 , K	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
10020/97	B.Ç.	42 , K	Epiyelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
12907/97	M.A.	41 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	+	-	-
14914/97	A.O.	38 , K	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
16319/97	P.İ.	55 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
1597/98	M.K.	65 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
10917/93	İ.K.	55 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
16636/96	B.K.	55 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
2704/91	F.Ö.	65 , K	Epitelyal M M	+	+	+	-	-	-	-
502/94	M.K.	52 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
2232/94	S.D.	67 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
391/95	İ.B.	75 , E	Epitelyal MM	+	+	-	-	-	-	-
294/95	M.K.	50 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
3283/95	A.A.	58 , K	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
4094/95	S.B.	56 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
2640/95	Y.A.	30 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
2103/96	Y.K.	68 , K	EpitelyalMM (periton)	+	+	+	-	-	-	-
129/96	A.D.	62 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
4596/96	S.Ç.	66 , E	Epitelyal MM	+	+	-	+	+	-	-
7966/91	A.S.	55 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
1868/92	K.K.	71 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
10953/95	Ş.T.	59 , E	Epitelyal MM	+	+	+	-	-	-	-
6259/96	H.S.	60 , K	Sarkomatöz	+	-	+	-	-	-	-
10442/93	M.Ç.	60 , E	Sarkomatöz	+	-	+	-	-	-	-
3592/95	H.Ç.	30 , E	Sarkomatöz	+	-	+	-	-	-	-

Patoloji prot. no	Adı soyadı	Yaş, Cins	Histopat. Tanı	Keratin	EMA	HBME-1	CEA	MOC 31	D PAS	Müsin
353/96	A.U.	71 , E	Sarkomatöz	+	+	+	-	-	-	-
1644/96	H.B.	33 , K	Sarkomatöz	+	+	+	-	-	-	-
3599/96	A.K.	64 , E	Sarkomatöz	+	-	+	-	-	-	-
6538/95	A.Y.	63 , E	Desmoplastik	+	-	+	+	+	-	-
970/91	M.B.	50 , K	Bifazik MM	+	+	+	-	-	-	-
7882/94	M.C.	65 , E	Bifazik MM	+	+	+	-	-	-	-
6149/96	M.K.	41 , K	Bifazik MM	+	+	+	+	-	-	-
6439/96	A.I.B.	42 , E	Bifazik MM	+	+	+	-	+	-	-
5462/97	A.K.	68 , E	Bifazik MM	+	+	+	-	-	-	-
637/95	F.E.	63 , K	Bifazik MM	+	+	+	-	-	-	-
520/96	B.K.	40 , K	Bifazik MM	+	+	+	-	-	-	-
7851/97	H.G.	52 , E	Fibröz plak							
97/90	M.T.	50 , E	Adenokar.	+	+	-	+	+	+	+
3639/90	H.K.	55 , E	Adenokar.	+	+	+	+	+	+	+
4191/93	G.A.	45 , K	Adenokar.	+	+	-	+	+	+	+
6988/93	O.G.	64 , E	Adenokar.	+	+	+	+	-	+	+
3645/94	Y.E.	59 , E	Adenokar.	+	+	+	+	+	+	+
4756/96	S.E.	60 , E	Adenokar.	+	+	+	+	-	+	+
9910/96	Ş.Ö.	58 , E	Adenokar.	+	+	+	+	+	+	+
17250/96	N.A.	55 , E	Adenokar.	+	+	+	+	+	+	+
575/97	K.P.	60 , E	Adenokar.	+	+	-	+	+	+	+
15725/97	N.Y.	41 , E	Adenokar.	+	+	+	+	-	+	+
1308/91	M.D.	65 , E	Plevral met.	+	+	-	+	+	+	+
6806/93	Y.Y.	43 , K	Plevral met.	+	+	-	+	+	+	+
1548/94	R.G.	64 , E	Plevral met.	+	+	-	+	+	+	+
2639/94	C.Ş.	65 , K	Plevral met.	+	+	-	+	+	+	+
1099/95	F.K.	50 , K	Plevral met.	+	+	+	-	-	+	+
15058/96	İ.D.	52 , E	Plevral met.	+	+	+	+	+	+	+
4842/95	A.D.	41 , K	Plevral met.	+	+	+	+	+	+	+
11937/97	M.A.	67 , E	Plevral met.	+	+	-	+	-	+	+
462/97	L.L.S.	56 , E	Plevral met.	+	+	+	-	-	+	-
11553/92	N.S.	35 , K	Plevral met.	+	+	-	+	+	+	+

- : Adana SSK Hastanesi olguları
■ : Özel laboratuvar olguları
■ : Adana Numune Hastanesi olguları