

RETİNOBLASTOMDA MORFOLOJİ VE HİSTOGENEZ

H. Uğur PABUÇÇUOĞLU, Özgül SAĞOL, Neriman GÖKDEN

D.E.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Retinoblastom çocukluk çağının en sık görülen intraoküler neoplazmadır. Bu tümörün histogenezine ilişkin tartışmalar halen sürmektedir. Bu çalışmada, DEÜTF Patoloji Anabilim Dalı arşivinde bulunan 7 retinoblastom olgusu yeniden gözden geçirilmiş, 6 olguya nöron spesifik enolaz ve S-100 proteinini için immün boyuma uygulanmıştır. İmmünohistokimyasal bulgularımız bu tümörün nöronal orijinli olduğu görüşünü desteklemektedir.

Anahtar sözcükler: Retinoblastom, immünohistokimya, nöron spesifik enolaz, S-100 proteini

SUMMARY

Retinoblastoma is the most common intraocular neoplasm of childhood. Controversy still exists regarding the histogenesis of this tumor. In this study, the seven cases of retinoblastoma from the archives of the department of pathology, Dokuz Eylül University Faculty of Medicine, have been reviewed. In six cases, immune staining for neuron specific enolase and S-100 protein have been performed. Our findings stand for the suggestion that this tumour is of neuronal origin.

Key words: Retinoblastoma, immunohistochemistry, neuron specific enolase, S-100 protein

Retinoblastom büyük oranda indifferansiye retinal hücrelerden oluşan ve fotoreseptör elemanlar yönünde değişik derecelerde differansiyasyonun izlenebildiği bir tümördür. Bu tümör çocukluk çağının en sık görülen intraoküler neoplazmadır (1).

Retinoblastomun köken aldığı hücre konusundaki tartışmalar yüzyıldan fazla sürmektedir. Başlangıçta, Virchow bu tümörün retina-

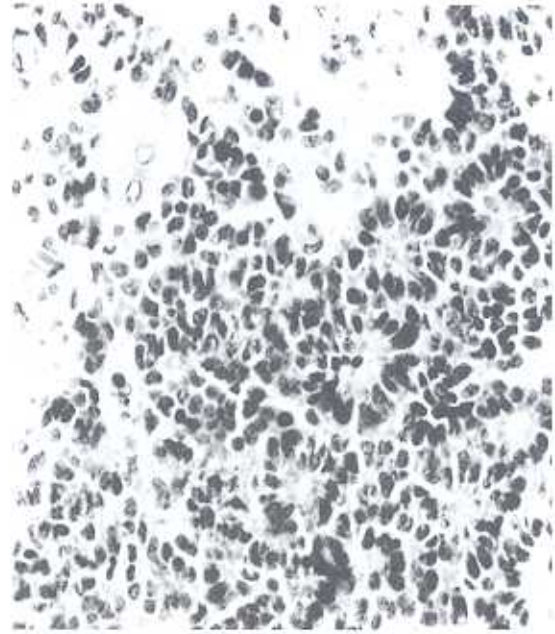
nın glial hücrelerinden kaynaklandığını ileri sürmüştür. Virchow'un 1864 yılındaki bu saptamasının ardından 1891'de Flexner retinoblastomlarda bulunabilen rozet yapılarını tanımlamış ve tümörü nöroepitelioma olarak adlandırmıştır. 1897' de Wintersteiner bir dizi olguda bu rozetleri saptamış ve gliom yerine nöroepitelioma adlandırmasının daha uygun olduğunu belirtmiştir. Retinoblastom

terimi ise 1926'da Amerikan Oftalmoloji Birliğince uygun görülmüştür (2,3).

Günümüze değin yapılan yoğun araştırmalara karşın retinoblastomun histogenezi halen tartışmalıdır. Her ne kadar, başlangıçta glial orijinden söz edilmişse de immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik çalışmalar nöronal orijini destekler niteliktedir. Bu çalışmalarındaki bulgular, tümörün retinanın nöroblastik hücrelerinden geliştiğini ve normal retinanın fotoreseptörleri yönünde differansiye olabileceğini göstermektedir. Yine yukarıdaki yöntemlerle birlikte hücre kültürü ve moleküler tekniklerle yapılan çalışmalar tümörün hem nöronal ve hem de glial hücre yönünde differansiyasyon kapasitesine sahip olduğu savını gündeme getirmiştir (4,5).

Fotoreseptör elemanlar yönündeki differansiyasyona dayanılarak retinoblastomlar histopatolojik düzeyde differansiye ve indifferansiye olarak sınıflandırılmaktadır.

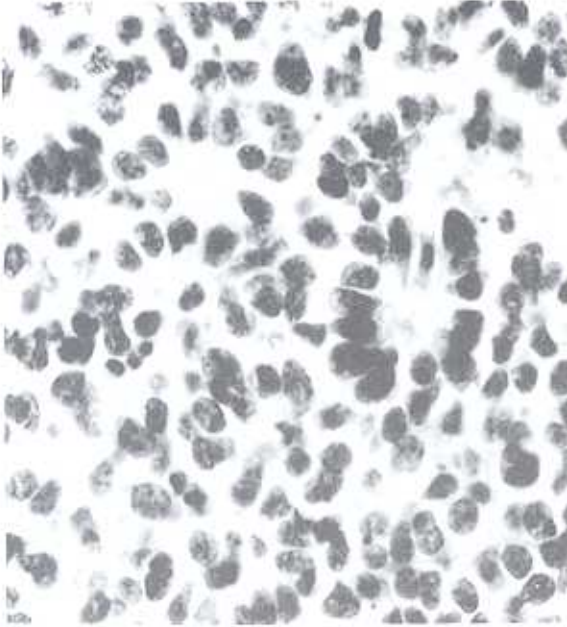
İndifferansiye retinoblastom başlıca hiperkromatik nukleuslu ve dar sitoplazmalı anaplastik hücrelerden oluşmakta olup yüksek mitotik aktivite ve geniş nekrozlar içerir. Bu tür tümörlerde fotoreseptör differansiyasyonuna ilişkin kanıtlar azdır. Buna karşın differansiye retinoblastomda en belirgin ve sık görülen differansiyasyon bulgusu Flexner-Wintersteiner rozetleridir. Kesitte, bunlar santral lümen çevresinde yerleşmiş ve bu lümeden keskin bir sınırlayıcı membran ile ayrılan kübik veya kolumnar hücrelerden meydana gelir. Rozetlerin luminal yüzeyinde



Şekil 1. Retinoblastomda Flexner-Wintersteiner rozetleri. Hematoksilen-eozin, X 10

alcian blue boyası ile gösterilebilen mukopolisakkarit tabakası yer alır (Şekil 1).

Bazen görülebilen diğer bir differansiyasyon bulgusu ise tümör hücrelerinin ileri derecede fotoreseptör gelişimi göstermesi ile karakterlidir. Bu fotoreseptör elemanları nispeten büyük çomak biçimi cisimler olup küçük gruplar halinde izlenirler ve fleurette (flöret) adını alırlar. Bir çok alanda rozet ve flöret yapısı gösteren retinoblastomlar differansiye retinoblastom kategorisine girerler (1,3). Daha az sıklıkla görülen ve daha az karakteristik bir rozet tipi Homer-Wright rozetidir. Bu rozet tipinde hücreler bir lümen çevresinde dizilmez. Ancak, bunun yerine, gönderdikleri sitoplazmik uzantılar rozetin ortasını dolduran bir düğüm oluşturur (6) (Şekil 2).



Şekil 2, Homer-Wright rozeti. Hematoksilen-eozin, X 40

Bu çalışmada, retinoblastomlardaki değişik immünoreaktivitedeki hücrelerin dağılım ve morfolojilerinin histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi, differansiyasyon potansiyelleri ile muhtemel histogenezlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde bulunan retinoblastom olgularının preparatları yeniden gözden geçirilmiş, olguların yaşı, cinsi, tümörlerin boyutu ve mikroskopik özellikleri, differansiyasyonları, belirlenmiştir. Daha sonra aynı olguların seçilmiş bloklarından immünohistokimyasal çalışma için 5 mikronluk kesitler hazırlanmış ve bunlar lysinli lamlara alınmıştır.

Olgulardan hazırlanan kesitlere peroksidaz-antiperoksidaz yöntemiyle Neuron spesifik enolase (NSE), (1: 100, Dako Corporation, CA, USA), ve S-100 proteini (1: 300, Dako Corporation, CA, USA) için immünohistokimyasal boyamalar uygulanmıştır. Bulgular kaynaklar ile karşılaştırılmıştır.

BULGULAR

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde bulunan 7 retinoblastom olgusu yeniden gözden geçirilmiş olup, parafin bloğu elde edilebilen

Tablo I. Olguların yaşı, cinsi, tümörlerin differansiyasyonu ve immün boyalarla boyanma karakteristikleri.

Olgu	Prot.No	Yaş (ay)	Cins	Boyut (mm)	Hist. diff.	NSE	S-100
1.	7567/94	19	K	12x11	Diff.	Fokal +	Pvask.+
2.	4855/94	18	E	6x4	Diff.	*	*
3.	1148/94	36	E	20x15	Indiff.	Fokal +	Pvask.+
4.	10751/93	24	K	17x15	Indiff.	Negatif	Pvask. +
5.	1695/93	30	E	17x10	Indif.	Fokal +	Pvask. +
6.	6058/91	7	K	10x5	Indif.	Negatif	Negatif
7.	3683/90	36	E	-	Indif	Negatif	Negatif

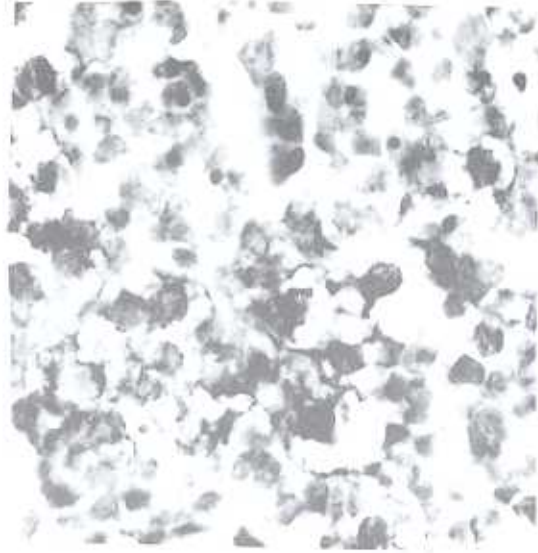
(Hist. diff.: Histolojik differansiyasyon, Diff: differansiye, Indiff: Indiferansiye, Pvask: perivasküler, *: Immün boya uygulanamadı, K= Kız E= Erkek

6 tanesine NSE ve S-100 için immünohistohistokimyasal boyama uygulanmıştır. Sonuçlar toplu olarak Tablo I'de gösterilmiştir.

Tabloda da izlendiği gibi, 2 nolu olgunun blokları elde edilemediğinden bu olguya immün boyama uygulanamamıştır. Bir nolu olguda Homer Wright ve Flexner Wintersteiner rozetleri ve 4 nolu olguda az sayıda Homer Wright rozeti görülmüştür. Bir no'lu olgudaki NSE pozitifliği rozetlerin bulunduğu alanlara sınırlıdır. Üç ve 5 no'lu olgularda ise pozitivite odaksaldır ve geniş alanlar negatiftir. Beş nolu olguda fokal olarak, retinanın bipolar hücrelerine benzeyen (bipolar benzeri) hücre grupları izlenmiş olup NSE pozitifliği bu hücrelerde saptanmıştır (Şekil 3,4).

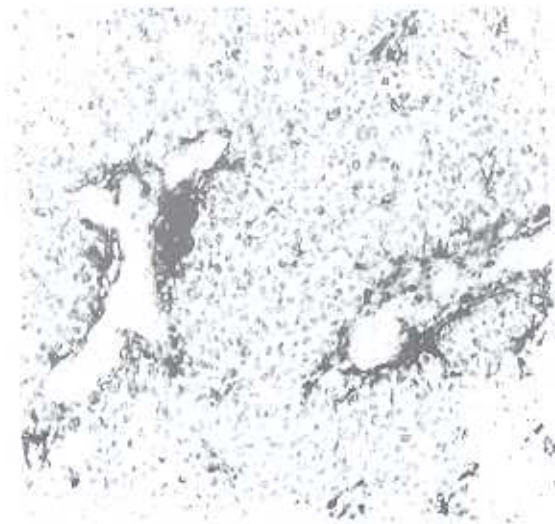


Şekil 3. Bipolar benzeri hücre grupları, Hematoxylin-eozin, X 20



Şekil 4. Bipolar benzeri hücrelerde NSE pozitifliği, NSE, X 40

Dört olgudaki S-100 pozitifliği tamamen perivasküler lokalizasyonda izlenmiştir (Şekil 5). Altı nolu olgu yaygın kalsifikasyon içermektedir. Yedi nolu olguda tümörün tüm göz küresini doldurduğu saptanmış ve makroskopik boyut bildirilmemiştir.



Şekil 5. Perivasküler S-100 pozitifitesi, S-100, X 4

TARTIŞMA

Kaynaklarda retinoblastomların immünohistokimyasal karakterizasyonuna ilişkin çeşitli çalışmalar mevcuttur. Kullanılan başlıca immünohistokimyasal işaretleyiciler, S-100, NSE, Glial fibriler asidik protein (GFAP), Synaptophysin, Retinal S-antijen, Leu 7 olarak sıralanabilir (4-7).

NSE glikolitik bir enzim olup nöronlar ve nöroendokrin hücrelerde bulunmaktadır. Çeşitli çalışmalarda retinoblastom hücrelerinde gösterilmiş ve retinoblastom hücreleri için bir differansiyasyon işaretleyicisi (marker) olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir (7,8). Bununla birlikte, neoplastik hücrelerdeki spesifitesinin kuşkulu olduğunu ileri sürenler de mevcuttur (5).

Kivela (7) 46 retinoblastom üzerindeki çalışmasında, 44'ünün NSE ile pozitif boyanan hücreler içerdiği ve bu pozitivitenin küçük tümörlerde, bilateral tümörlerde ve rozet içeren tümörlerde daha büyük oranda bulunduğunu bildirmiştir.

He ve arkadaşları (4) ise, rozet oluşturan hücrelerin genellikle NSE ve synaptophysin için pozitif ve S-100 proteini ve GFAP için negatif boyandığını, buna karşın indifferansiye hücrelerin NSE ve synaptophysin için negatif sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Yine çalışmamızda bir olguda saptadığımız (5 nolu olgu) bipolar benzeri hücrelerde kendileri de NSE pozitifliği bulmuşlardır.

Perentes ve arkadaşları (5) da Flexner-Wintersteiner rozetlerinin ve indifferansiye hücrelerin NSE'yi eksprese ettiğini bildirmiştir.

NSE ile ilgili olarak bizim bulgularımız da kaynaklardakiler ile paralellik göstermektedir. Ancak, elde ettiğimiz sonuçlar NSE'nin başlıca differansiye hücrelerde pozitif sonuç verdiğini ortaya koymaktadır.

İki polipeptid zincirinden oluşan ve asidik bir protein olan S-100 proteini nöral dokuda (glial hücrelerde, Schwann hücrelerinde) kondrositlerde, yağ dokusunda, melanositlerde, myoepitelial hücrelerde bulunmaktadır. Dolayısı ile çeşitli tümörlerde gösterilebilmektedir. Ancak santral sinir sisteminde başlıca glial hücrelerde lokalizedir (5,9).

Perentes ve arkadaşları (5) retinoblastomlarda GFAP ve S-100 proteini için yaptıkları boyamalarda yalnızca iyi differansiye glial hücrelerde her iki proteinin eksprese edildiğini göstermişlerdir. Bu nedenle, retinoblastomlarda yalnızca S-100 proteini için yapılan boyalarla glial hücreleri göstermek mümkün olabilmektedir. Bu reaktivite paralelliği nedeniyle çalışmamızda sadece S-100 proteini için immün boyamaya gidilmiştir.

Retinoblastomlarda S-100 pozitif hücrelerin görülebildiği ve bunların çoğunun perivasküler reaktif astrositler olduğu bildirilmektedir (4). Rozet oluşturan hücreler ve indifferansiye retinoblastom hücreleri S-100 için negatiftir. Bizim olgularımızda da S-100 ile yalnızca

perivasküler hücrelerde pozitif boyanma izlenmiş, tümör hücrelerinde pozitivite saptanmamıştır.

Rozetlerin nöronal işaretleyici olan NSE için pozitif ve glial işaretleyici olan S-100 proteini için negatif oluşu, ayrıca, bipolar benzeri hücrelerin NSE pozitivitesi, retinoblastom hücrelerinin nöronal orijinli olduğunu desteklemektedir. Bu tümörlerdeki glial hücreler

reaktif pre-ekzistan elemanlardır (reaktif perivasküler gliosis) ve tümör hücrelerinin differansiyasyonu ile ilgili değildir.

Çalışmamızdaki bulgular, retinoblastomların nöroblastik olduğu ve muhtemelen fotoreseptör hücre progenitörlerinden köken aldığı düşüncesini (5) desteklemektedir.

KAYNAKLAR

1. Zimmerman LE, Sobin LH. Histological Typing of tumours of the Eye and Its Adnexa, WHO International Histological Classification of Tumours No: 24, Geneva: World Health Organization, 1980.
2. Hungerford J. Histogenesis of retinoblastoma. Br J Ophthalmol 1990; 74: 131-2.
3. Ts'o MOM, Fine BS, Zimmerman LE. The Flexner-Wintersteiner rosettes in retinoblastoma. Arch Pathol 1969; 88: 664-71.
4. He W, Hashimoto H, Tsuneyoshi M, Enjoji M, Inomata H. A reassessment of histologic classification and an immunohistochemical study of 88 retinoblastomas. Cancer 1992; 70: 2901-7.
5. Perentes E, Herbert CP, Rubinstein LJ, et al. Immunohistochemical characterization of human retinoblastomas in situ with multiple markers. Am J Ophthalmol. 1987; 103: 647-58.
6. Zimmerman LE. Retinoblastoma and retinocytoma. In: Spencer W, ed. Ophthalmic pathology. Third Edition, Philadelphia: W.B. Saunders, 1985: 1292-348.
7. Kivela T. Neuron-specific enolase in retinoblastoma. An immunohistochemical study. Acta Ophthalmologica 1986; 64: 19-25.
8. Trojanowski JQ. Cytoskeletal proteins and neuronal tumors. In: Colvin RB, Bhan AK, McCluskey RT, ed. Diagnostic Immunopathology, First Edition, New York: Raven Press, 1988; 225-43.
9. Bhan AK. Differentiation antigens and strategies in tumor diagnosis. In: Colvin RB, Bhan AK, McCluskey RT, ed. Diagnostic Immunopathology, First edition, New York: Raven Press, 1988; 199-24.