

EPİTELYAL OLMAYAN OVER KANSERLERİNDE PCNA EKSPRESYONU VE PROGNOZA ETKİLERİ

PCNA Expression in Non-Epithelial Ovarian Tumors and Correlation of Prognosis

Faruk ABİKE¹, Sema ZENGEROĞLU², İlkan DÜNDER³

¹ Bayındır Hastanesi,
Kadın Hastalıkları ve
Doğum Kliniği, ANKARA

² Dr Zekai Tahir Burak
Kadın Sağlığı Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
Patoloji Bölümü, ANKARA

³ Bilim Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Jinekolojik Onkoloji Bölümü,
İSTANBUL

Geliş Tarihi: 04.02.2010
Kabul Tarihi: 12.05.2010

İletişim:
Faruk ABİKE
Bayındır Hastanesi,
Kadın Doğum Kliniği, ANKARA
Tel : +90 312 287 90 00
E-posta : farukabike@gmail.com

ÖZET

Amaç: PCNA kolorektal ve mesane kansinomlarında proliferasyon belirtici olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, PCNA'nın non-epitelyal over tümörlerinde proliferasyon indeksi olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Yöntem: Patolojik olarak non-epitelyal over kanseri tanısı alan 30 olgunun PCNA immünreaktivitesi, streptoavidin-biotin antikor kompleksi kullanılarak değerlendirilmiştir. PCNA immünreaktivitesi ve LI indeksi ile non-epitelyal tümörlerdeki stage, grade ve lenf nodu tutulumu arasındaki olası ilişki araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışmamıza alınan hastaların yaş ortalaması 52.6 ± 6.7 , ortalama doğum sayısı 3.1 ± 1.5 ve ortalama vücut kitle indeksleri 26.7 ± 4.2 kg/m² olarak belirlenmiştir. Olguların % 83'ü postmenopozal, % 17'si premenopozal dönemde olduğu, % 47'sinin 5 yıldan uzun süreli sigara kullanımı öyküsü bulunduğu saptanmıştır. En sık rastlanan histolojik tipin disgerminom (% 27) olduğu, klinik evrelerine göre dağılımlarının ise; stage 1, 2, 3 ve 4 için sırasıyla % 33, % 13, % 47, % 7 olduğu gözlenmiştir. Histolojik olarak % 47'si grade 3, % 33'ü grade 2 ve % 20'si grade 1 olarak belirlenmiştir. Non-epitelyal over tümörlerinde klinik stage ve grade arttıkça PCNA immünreaktivitesi ve LI indeksi de paralel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p < 0.001$). Diğer taraftan lenf nodu tutulumu ve tümör histolojik tipi ile PCNA immünreaktivitesi arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır ($p > 0.05$).

Sonuç: Non epitelyal over tümörlerde klinik ve histolojik evre ile PCNA ekspresyonu arasında bir korelasyon bulunmakla beraber, tümör proliferasyonu indeksi olarak PCNA kullanımı için daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: Non epitelyal over tümörleri, PCNA, prognoz

ABSTRACT

Objective: In colorectal and bladder carcinoma PCNA is used as a proliferation marker. In this study the utility of PCNA as a proliferation index in non-epithelial ovarian tumors was examined.

Method: In 30 cases diagnosed by routine pathological procedures as non-epithelial ovarian cancer, the PCNA immunoreactivity was evaluated by a streptavidin-biotin antibody complex. The possible correlations between PCNA immunoreactivity and LI index with stage, grade and lymph node involvement in non epithelial ovarian tumors were investigated.

Results: In our study, average patient age 52.6 ± 6.7 years old, average parity 3.1 ± 1.5 and average BMI 26.7 ± 4.2 kg/m² were determined. It was found that 83 % of the patients were at postmenopausal period and 17 % premenopausal; 47 % of patients were smoking over the five years. Most common hystological type was found as dysgerminoma (27%) and clinical stage distributions were determined as stage 1 (33%), stage 2 (13%), stage 3 (47%), stage 4 (7%) in all patients. Grade 1 (20%), grade 2 (33%) and grade 3 (47%) were found according to histological classification.

In our study, it was determined in non-epithelial ovarian tumors that as stage and grade of tumor increased, PCNA immunoreactivity and LI index were also elevated statistically ($p < 0.001$). No statistically meaningful correlation was found between PCNA immunoreactivity and lymph node involvement, or in PCNA and histopathological type of the tumor ($p > 0.05$).

Conclusion: Further studies are needed in order to use PCNA as tumor proliferation index in non-epithelial ovarian tumors.

Key Words: Non epithelial ovarian tumors, PCNA, Prognosis

GİRİŞ

Her yıl 100,000 kadından yaklaşık olarak 15-25'i over kanserine yakalanmaktadır (1-3). Non epitelyal over kanserleri, epitelyal tümörlerden sonra en sık görülen ikinci sıradaki over tümör grubudur (%15-20) (4-6). 20 yaş altı kadınlarda en sık görülen over tümörleridir (%70) ve yaklaşık olarak %30'u maligndir (7-9).

Miyachi ve arkadaşları, 1978 yılında sistemik lupus eritamatozisli bir hastanın serumunda proliferasyondaki hücrelerin çekirdeğinde bulunan bir antijeni tespit etmişler ve buna PCNA (Prolifere olan hücre nükleer antijeni) adını vermişlerdir (10). PCNA, normal hücre siklusu sırasında sentezlenen ve hücre siklusunu düzenleyen bir proteindir (11,12). PCNA nükleotid eksizyonu tamir olayında rol oynamakta ve böylece siklusta olmayan DNA'sı hasarlanmış hücrelerde de ekspresyonu olmaktadır (13,14). PCNA'nın immünohistokimyasal olarak saptanması hem aktif DNA replikasyonunu hem de karsinogenezis ile sonuçlanan DNA hasarını göstermektedir. PCNA ekspresyonu düzensiz hücre proliferasyonunun göstergesi olarak kullanılabilir (15).

Bu çalışma kapsamında, epitelyal olmayan over tümörlerinde PCNA ekspresyonu ile grade, stage, lenf nodu tutulumu ve metastazlar arasındaki ilişki araştırıp prognoza etkisi incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Non-epitelyal over tümörü tanısı alan, yaşları 17-82 arasında değişen 30 olgunun ameliyat örnekleri %10'luk formalinle fikse edilerek patoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Patolojideki örnekler rutin doku takip işlemlerinden geçirildikten sonra parafin bloklar hazırlanarak bu bloklardan 5 mm'lik kesitler yapılarak hematoksilin eozinle (HE) boyandıktan sonra değerlendirme yapılmıştır. Tümörlerin klinik özellikleri göz önünde bulundurularak grade, stage, metastaz ve tümör tipi açısından World Health Organization (WHO) ve International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) kriterlerine göre sınıflandırılmıştır (16,17).

Parafin bloklardan 5 mm'lik kesitler hazırlanarak 60°C'de bir gece etüvde (ULVAC TH-500)

bekletilmiştir. Rutin deparafinizasyon işleminden sonra kesitler “Biogenex’s Str Avi Gen Süpersensitivite ve Universal İmmünostaining Kit”, PCNA PC10 monoklonal fare primer antikorları kullanılarak indirekt Biotin-Streptoavidin Amplified (B-SA) sistemi ile boyanmıştır.

Elde edilen veriler istatistiksel olarak “Ki-kare testi”, “Mann-Whitney U testi”, “Fisher’s Exact test” ve “Kruskal-Wallis testi” kullanılarak karşılaştırılmıştır.

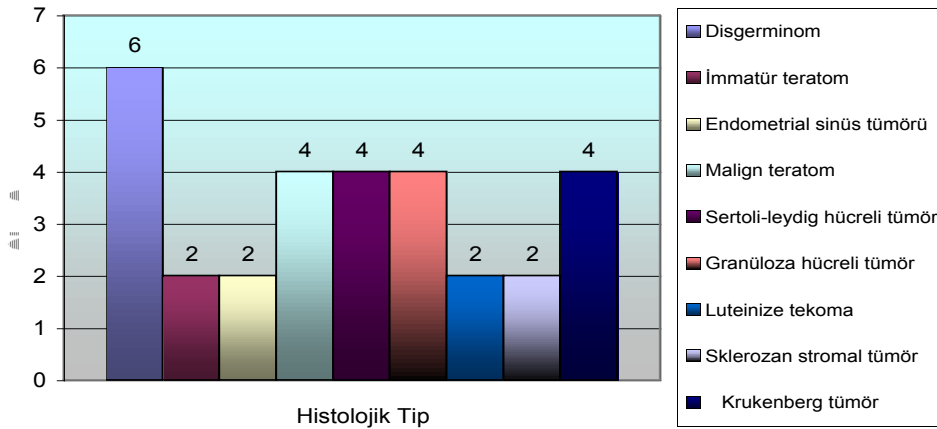
BULGULAR

Çalışmamıza alınan hastaların yaş ortalaması 52.6 ± 6.7 olup ortalama doğum sayısı 3.1 ± 1.5 ’idi.

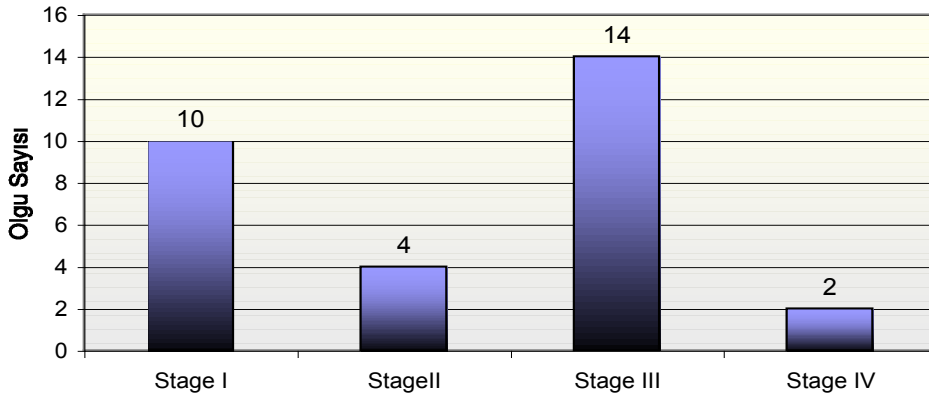
Hastaların % 83’ü (n=25) postmenopozal, % 17’si (n=5) premenopozal dönemdeydi. Hastaların % 47’sinin (n=14) 5 yıldan uzun süreli sigara kullanımı öyküsü vardı. Ortalama vücut kitle indeksleri 26.7 ± 4.2 kg/m² idi.

Çalışma grubumuzda en sık rastlanan histolojik tip Disgerminom (% 27, n=6) olarak tespit edilmiştir. Olguların histolojik tiplere göre dağılımları Şekil 1’de verilmiştir.

Çalışma grubundaki olguların klinik evrelerine göre dağılımı incelendiğinde; stage 1 % 33 (n=10), stage 2 % 13 (n=4), stage 3 % 47 (n=14), stage 4 % 7 (n=2) olarak saptanmıştır (Şekil 2).



Şekil 1. Non epitelyal over tümörü olan 30 olgunun histolojik tiplere göre dağılımları



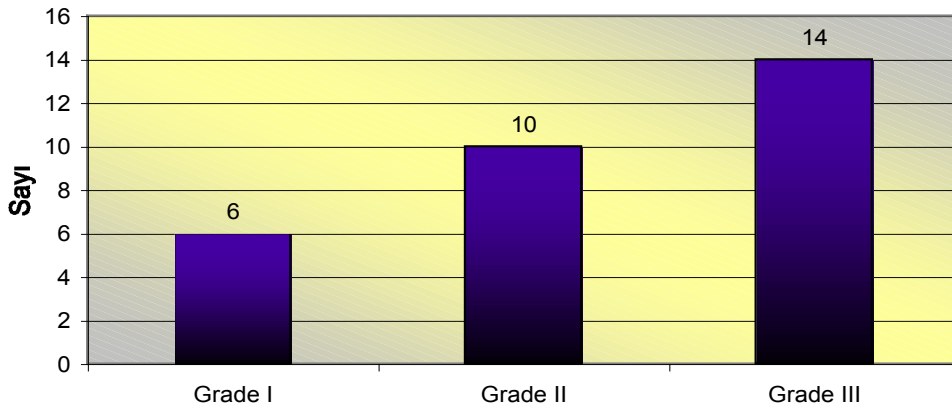
Şekil 2. Non epitelyal over tümörü olan 30 olgunun stajelere göre dağılımı

Çalışma grubundaki hastalar histolojik olarak değerlendirildiğinde % 47 (n=14)'si grade 3, % 33 (n=10)'ü grade 2 ve % 20 (n=6)'si grade 1 olarak saptanmıştır (Şekil 3).

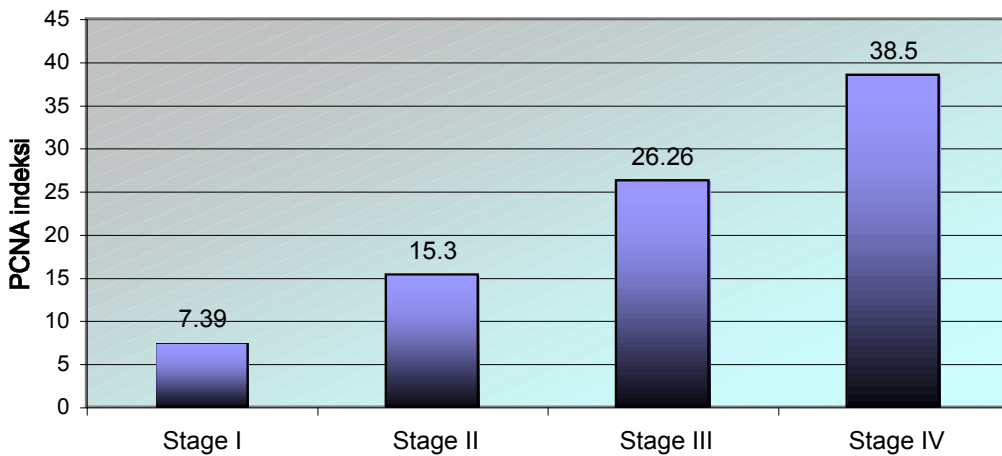
Tümörün histolojik tipi ile PCNA reaktif boyanma özellikleri arasında anlamlı istatistiksel fark belirlenmemiştir (p=0,67). Stajelere göre PCNA reaktivitesi incelendiğinde, Stage 1'de PCNA Li indeksi 7.39 bulunurken, Stage 4 olgularda PCNA Li indeksi 38.5 olarak tespit edilmiştir. Klinik stage arttıkça buna paralel olarak PCNA

Li indekslerinde de paralel olarak istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir (p=0.0008) (Şekil 4).

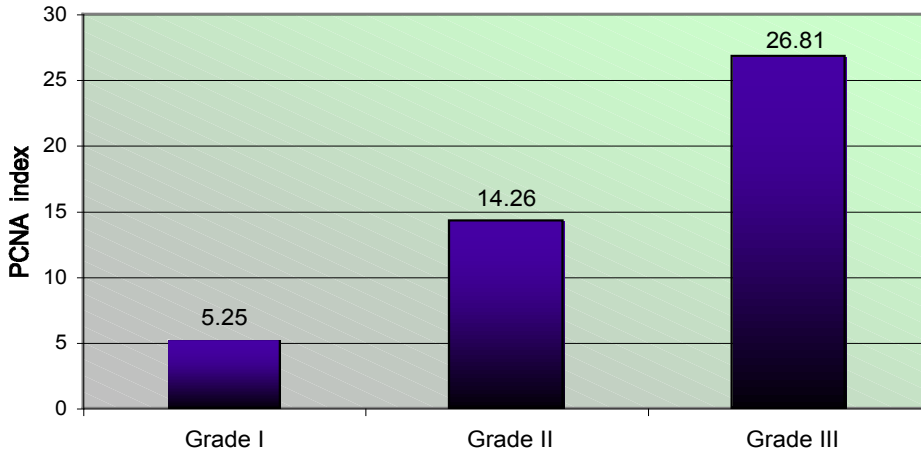
Histolojik gradelere göre PCNA indeksleri değerlendirildiğinde; Grade 1'de PCNA Li indeksi 5.25; grade 2'de 14.26 ve grade 3 de ise 26.81 olarak saptanmıştır. Tümörün grade derecesi arttıkça PCNA Li indekslerinde de anlamlı olarak artış belirlenmiştir. Grade'lere göre PCNA değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.0004) (Şekil 5).



Şekil 3. Non epitelyal over tümörü olan 30 olgunun gradelere göre dağılımı



Şekil 4. Non epitelyal over tümörü olan olguların stajelere göre PCNA indeksleri



Şekil 5. Non epitelyal over tümörlü olguların gradelere göre PCNA indeksleri

Lenf nodu tutulumu olan 19 olgudan sekizinde (%42) PCNA reaktivitesi varken lenf nodu tutulumu olmayan 11 olgunun altısında (%54) PCNA reaktivitesi belirlenmiştir. Lenf nodu tutulumu olan ve PCNA reaktif olguların ortalama PCNA indeksleri 21.25 ± 2.59 iken lenf nodu tutulumu olmayan PCNA reaktif olguların ortalama PCNA indeksleri $18,6 \pm 4.56$ olarak saptanmıştır. Non-epitelyal over tümörlerinde, lenf nodu tutulumu ile PCNA ekspresyonu arasında korelasyon tespit edilmemiştir ($p=0.078$).

TARTIŞMA

Over kanserleri kadın ölümlerinde jinekolojik kanserler arasında birinci sırada, tüm kanserler arasında beşinci sırada yer almaktadır. Over kanserlerine bağlı mortalitenin bu kadar yüksek olmasının nedeni tanı konulan tüm olguların çoğunun ileri evrelerde belirlenebilmesidir (18-21).

PCNA, hematolojik maligniteler, gastrointestinal sistem maligniteleri, meme, cilt, akciğer ve üriner sistem malignitelerinde proliferasyon indeksi olarak başarılı bir şekilde kullanılmıştır (11-14).

Çalışmamızda tümörlerin histolojik tipleri ile PCNA immünreaktivitesini karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Garzetti ve arkadaşları

ise 35 endometrial karsinomlu hastanın operasyon öncesi küretaj materyallerinde, yüksek PCNA ekspresyonu olan hastalarda daha fazla myometriyal invazyon olduğunu belirlemişlerdir (22).

Bizim çalışmamızda non-epitelyal over tümörlerinde lenf nodu tutulumu ile PCNA pozitifliği arasında korelasyon saptanamamıştır ($p>0.05$). Xue ve arkadaşları 60 servikal intraepitelyal neoplazili (CIN) ve servikal kanser nedeniyle opere hastaların materyallerinde yaptığı çalışmada, PCNA ve mitotik indeksin CIN I-II' ye oranla CIN III ve servikal kanserde daha yüksek olduğunu belirlemiş ancak PCNA ve mitotik indeks yüksekliği ile lenf nodu metastazı ve klinik evre arasında korelasyon olmadığını vurgulamışlardır (23).

Çalışmamızda tümör grade'i ve stage ile PCNA LI indeksleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur ($p<0.001$). Tümör grade ve stage arttıkça PCNA LI indeksi pozitifliği korele olarak artış göstermektedir. Nakano ve arkadaşları 27 over karsinomlu hastada yaptığı çalışmada stage ve grade ile PCNA indeksleri arasında korelasyon belirlemiştir (24). Li ve arkadaşlarının 84 epitelyal over karsinomlu hastada yaptıkları çalışmada, PCNA ekspresyonun beş yıllık yaşama süresi ve prognoz ile herhangi bir ilişkisi saptanamamıştır (25). Mesane ve kolorektal

kanserler için de benzer bir korelasyon bulunmuştur (11-15, 18).

Jinekolojik malignitelerde tanı ve prognoz için PCNA ile ilgili yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Çalışmaya alınan hasta grubundaki sayının düşük ve homojen olmamasının bu bağlantıyı etkilediği

düşünülmektedir. Gelecekte PCNA'nın jinekolojide proliferasyon indeksi ve prognoz belirteci olarak kullanılabilirliğinin araştırılması için daha geniş ve homojen vaka grupları üzerinde yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Dodd JK, Henry RJW, Tyler PP, Houghton CRS. Cervical Carcinoma: A comparison of four potential biochemical tumor markers. *Gynecol Oncol* 1989; 32:248.
2. Sciarra JJ, Knapp RC, Berhomitz RS. Naturel history and detection of ovarian cancer. *Gynecol Obstet*, 1984; 28: 1-14.
3. Yavuz H, Tezcan S, Erk A. Over karsinomları. *Kadın Genital Kanserleri Kitabı*, 1978; 9: 385-438.
4. Scully RE. Tumors of the ovary and mal developed gonads. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1979; 16: 247-56.
5. Abu-rustum NR, Aghajanian C. Management of malignant germ cell tumors of the ovary. *Semin Oncol*, 1998; 25(2): 235-42.
6. Chen LM, Berek JS. Ovarian and Fallopian Tubes, In: Haskell CM, eds. *Cancer Treatment*. 5 th ed. Philadelphia. WB Saunders, 2000: 928-76.
7. Imai A, Furvi T, Tamai T. Gynecologic tumors and symptoms in childhood and adolescence: 10 year experience. *Gynecol Obstet*, 1994; 45: 227-34.
8. Obata NH, Nakasima N, Kawai M, Nikkanua F, Mombe s, Tomeda Y. Gonadoblastoma with disgerminoma in one ovary and gonadoblastoma with disgerminoma and yolc salk tumor in the contralateral ovary in a girl with 46XY karyotype. *Gynecol Oncol*, 1995; 58: 124-8.
9. Arroyo JG, Harris W, Laden SA. Recurrent mixed germ cell sex cord stromal tumor of the ovary in an adult. *Int J Gynecol Pathol*, 1998; 17(3): 281-3.
10. Miyachi K, Fritzler MJ, Tan EN. Autoantibody to nuclear antigen in proliferatif markers. *J Immunology*, 1978; 121: 2228-34.
11. Ogata K, Kurki P, Celic J. Monoclonal antibodies to a nuclear protein associated DNA replication. *Exp Cell Res*, 1986; 168: 476-86.
12. Iachino C, Katsikoyiannis N, Dallera F. Assessment of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunoreactivity in carcinomas. *Pathologica*, 1995; 87: 56-8.
13. Jaskulski D, Gatti C, Travali S, Calabretta B, Baserga R. Regulation of the proliferating cell nuclear antigen cyclin and thymidine kinase m RNA levels by growth factors. *J Biol Chem*, 1998; 263: 101-7.
14. Scott RJ, Hall PA, Haldane JS et al. A comparison of immunohistochemical markers of cell proliferating with experimentally determined growth fraction. *J Pathol*, 1999; 165: 173.
15. Andre F, Fiazzi K, Culline S, Droz JP, Gatineau M, Takahashi Y, Oudard S, Theadore C. Peritoneal carsinomatososis in germ cell tumor: relations with retroperitoneal lymph node dissection. *Am J Clin Oncol*, 2000; 23(5): 460-2.
16. Benedet JL, Bender H, Ngan HY, Pecorelli S. FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers. FIGO Committee on Gynecologic Oncology, 2000; 70(2): 209-62.
17. Kaku T, Ogawa S, Kawano Y, Ohishi Y, Kobayashi H, Hirakawa T, et al. Histological classification of ovarian cancer. *Med Electron Microsc*, 2003; 36(1): 9-17.
18. Julian CG, Woodruff JD. The biological behavior of low grade papillary serous carcinoma of the ovary. *Obstet Gynecol*, 1972; 40: 860-7.
19. Genodry R, Poliakoff S, Rotmensch J, Rosenshein NB, Parmley TH, Woodruff JD. Primary papillary peritoneal neoplasia. *Cancer* 1988; 62: 2212-22.
20. Smith LH and Oi RH. Detection of malignant ovarian neoplasms, a review of the literature. Detection of the patient at risk, clinical, radiological and cytological detection. *Obstet Gynecol Survey*, 1984; 39: 313-28.

21. Snider DD, Stuart GC, Nation JG and Robertson DI. Evaluation of surgical staging in stage 1 low malignant potential ovarian tumors. *Gynecol Oncol*, 1991; 40: 129-32.
22. Garzetti GG, Ciavattini A, Goteri G, De Nictolis M, Romanini C. Proliferating cell nuclear antigen in endometrial carcinoma: pretreatment identification of high-risk patients. *Gynecol Oncol*, 1996; 61(1):16-21.
23. Xue Y, Feng Y, Zhu G, Zhang X. Proliferative activity in cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma. *Chin Med J (Eng)*, 1999; 112(4):373-5.
24. Nakano T, Enoki K, Nakashima M, Ishikawa H, Ametani Y, Ohta S, Ohkuchi A, Satake S, Kojima Y, Funamoto H, Tateno M, Miwa A. Survival in patients with clear cell carcinoma of the ovary. *Gan To Kagaku Ryoho*, 1998; 25(1):67-73.
25. Li JD, Li MD, Li YF, Huang X, Liu JH, Liu FY, Zhang CQ. Relationship between expressions of p53, c-erb genes, proliferating cell nuclear antigen and prognosis of patients with ovarian epithelial carcinoma. *Al Zheng*, 2002; 21(3):292-6.