

Overin Benign, "Borderline" Ve Malign Epitelyal Tümörlerinde Glut-1 Ekspresyonu Ve Prognostik Parametrelerle İlişkisi

Müberra Seğmen Yılmaz¹, Dilek Yavuzer², Nimet Karaday², Aylın Ege Gül², Gözde Kır²

¹Ümraniye Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği, İstanbul

²Kartal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği, İstanbul

Yazışma Adresi: Ümraniye Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği 34 766 İstanbul. Türkiye

Tel: 0533 241 74 93 **e-mail:** muberraseg@gmail.com

ZET:

A g : Hücre yüzeyinde yer alan Glut 1 'in epitelyal malignitelerde aberan ekspresyonu ve neoplastik progresyonla ilişkisi bilinmektedir. Bu retrospektif çalışmada; benign, borderline, malign seröz ve müsinöz over tümörlerindeki Glut 1 ekspresyonu, borderline ve malign tümörlerde prognostik parametre olarak anlamlılığı araştırılmıştır.

Ma a e M : 38'i malign(34'ü seröz karsinom, 4'ü müsinöz karsinom), 15'i borderline(9'u borderline seröz tümör, 6'sı borderline müsinöz tümör), 34'ü benign(19'u benign seröz kist veya benign seröz kistadenom, 15'i benign müsinöz kistadenom) over tümörü ve 5'i overde endosalpingiozis tanısı almış olan toplam 92 olgunun parafin bloklarından elde edilen kesitlere Glut1-Ab-1(Rabbit PAB RB-078-A Neomarkers) antikoru ile immünohistokimyasal boyama prosedürü uygulandı.

B a : Glut-1 ile benign olgularda ve endosalpingiozis olgularında hiç boyanma olmazken borderline olguların %86,7'sinde malign olguların ise %97,4'ünde pozitif membranöz boyanma saptanmıştır (p<0,01). Seröz tümörlerde müsinöz tümörlere göre Glut 1 boyanma derecesi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0,05). Malign tümörlerde Glut 1 boyanma derecesi ile yaş arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır(p>0,05). Ca 125 değerleri açısından anlamlı olmamakla birlikte marjinal bir ilişki saptanmıştır (P<0,059)Glut 1 boyanma derecesi ile evre ve tümör grade'i arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur (p<0,05). Malign tümörlerde Glut 1 boyanma derecesi borderline tümörlere göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (p<0,05).

S : Bu çalışmada Glut 1 ekspresyonunun seröz ve müsinöz over tümörlerinde malign progresyonla ve diğer prognostik parametrelerle ilişkili olduğu görülmüştür.

A a a K e : Glut 1, seröz ve müsinöz over tümörleri

SUMMARY:

E : Glut 1 is a cell surface protein. Its expression in epithelial malignancies and its relationship with neoplastic progression is well known. Glut 1 exists on the cell surface. In this retrospective study we evaluated the Glut 1 expression, in benign, borderline malignant serous and mucinous ovarian tumours, as a prognostic parameter.

Ob. c e : Aberrant expression of Glut 1 in epithelial malignancies and its relationship with neoplastic progression is well known. Glut 1 exists on the cell surface. In this retrospective study we evaluated the Glut 1 expression, in benign, borderline malignant serous and mucinous ovarian tumours, as a prognostic parameter.

Ma a e M : We studied totally 92 cases; consisted of 38 malignant (34 serous and 4 mucinous), 15 borderline (9 borderline serous and 6 borderline mucinous), 34 benign (19 benign serous cystadenoma and 15 benign mucinous cystadenoma) and 5 cases diagnosed as endosalpingiosis of ovary. Sections from paraffin blocks of the cases had been immunohistochemically stained with Glut 1-Ab-1 (Rabbit PAB RB-078-A Neomarkers) antibody.

R : The benign and endosalpingiosis group showed non-staining with the antibody however %86,7 of borderlines and %97,4 of malignant ones revealed positive membranous staining (p<0,01). Serous tumours were stained more frequently than the mucinous tumours (p<0,05). We couldn't find significant correlation between age and staining intensity of Glut 1 in malignant group (p>0,05). No significant correlation between serum levels of Ca 125 and Glut 1 staining frequency has been observed though a marginal relation determined. We also found significant correlation between tumour grade, stage and Glut 1 expression (p<0,05). Malignant tumours exhibited more frequent Glut 1 expression than the borderline tumours (p<0,05).

C c e : These data suggest a relationship between Glut 1 expression and malignant progression, some other prognostic parameters in serous and mucinous ovarian tumours.

K e : Glut 1, serous and mucinous ovarian tumours

GİRİŞ

Glut 1 hücre yüzeyinde glukoz transportunu sağlayan protein yapıda bir moleküldür. Fizyolojik olarak eritrosit membranı, kan-beyin bariyerinde kapiller endoteli ve periferik sinirlerin perineuriumunda ,plasenta, benign skuamöz epitelin bazal hücrelerinde, reaktif epidermal hücreler ve karaciğer endotelinde de eksprese edilir(1,2,3,4,5,6,7).İnsan eritrosit glukoz transporteri olan Glut 1 glukoz transporter ailesinin 7 üyesinden biridir.Bu transporterlerin ekspresyonu oncogen ve growth faktörler tarafından kontrol edilir (4,5).

Bir çok immünohistokimyasal çalışmada Glut 1'in aberan ekspresyonu epitelyal neoplasmlarda gösterilmiştir. Bu ekspresyon neoplastik progresyonla koreledir (1,2,3,4,5,6,7,8,9).Yapılan çalışmalarda Glut 1'in artmış mRNA'sı özofagus, kolon, mide, akciğer, pankreas karsinomları, baş boyun skuamöz hücreli karsinomu, meme,tiroid, mesane, böbrek, karaciğer, over ve endometrium karsinomlarında saptanmıştır. Glut 1 ekspresyonunun malign transformasyonla ilişkili olduğu görülmüştür (1,2,3,4,5,6,10). Malign potansiyel ve kötü prognozu göstermede yararlı olabileceği öne sürülmüştür(8,11,12,13). Over tümörlerinde yapılan çalışmalarda Glut 1 ekspresyonunun epitelyal over tümörlerinde malign transformasyonla yakından ilişkili olduğu ve artmış Glut 1ekspresyonunun kısa sağkalım ile bağlantılı olduğu tesbit edilmiştir. Bu nedenle over karsinomlarında Glut 1 değerlerinin klinikte yararlı bir prognostik bilgi olduğu ileri sürülmektedir(6,1).

MATERYAL VE METOD

Mart 1999 ve Eylül 2003 yılları arasında Ümraniye Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniğinde tanı alan 34'ü seröz papiller karsinom, 4'ü müsinöz kistadenokarsinom, 9'u borderline seröz tümör, 6'sı borderline müsinöz tümör, 19'u seröz kistadenom, 15'i müsinöz kistadenom ve 5'i overde endosalpingiozis olmak üzere toplam 92 vaka çalışmaya dahil edildi. Bunların 43'ü TAH+BSO, 41'i unilateral ooferektomi, 8'i bilateral ooferektomi piyesi idi.Olguların yaşları 18 ile 82 arasında

değişmekte olup, ortalama yaş 47.98±16.60'tır. Malign olgularda ortalama yaş 54,74±15,20; borderline olgularda ortalama yaş 47,47±18,05; benign olgularda ortalama yaş 40,03±14,41 ve endosalpingiozisli olgularda ortalama yaş 52,20±16,80'dir. Malign olgulardan hiç bir hasta operasyon öncesi sistemik adjuvan kemoterapi almamıştı. Bütün hastaların klinik bilgileri ve makroskopik bilgileri hastane arşiv kayıtlarından ve patoloji kliniği arşiv kayıtlarından elde edildi. Benign olgularda, kist epitelinin olduğu alanlar, endosalpingiozis alanları, borderline ve malign tümörlerde ise tümörü örnekleyen alanlardan Glut 1 ekspresyonunu belirlemek amacıyla parafin bloklara gömülü dokulardan 4 mikrometre kalınlığında 2'şer kesit "Poly-L-Lysine "li lamlara alındı.

Hazırlanan kesitlere Glut 1 Ab-1 (Rabbit PAB RB-078-A, Neomarkers Fremont CA,USA) antikoru üretici firma prospektüsüne uygun olarak 1/50 oranında sulandırılarak immünohistokimyasal boyama prosedürü uygulandı. Deparafinize edilen kesitler 15'şer dakika ksilende ve absölu alkolde bırakıldı PBS(phosphate buffer saline) ile yıkanarak 1/10 oranında distile su ile sulandırılan antijen retriyel(sitrat buffer) aşaması sonrası %3'lük hidrojen peroksit ile nemli ortamda inkübe edildi. PBS ile yıkanan kesitler 5 dakika ultra V blok ile nemli ortamda inkübe edildi. Glut 1 Ab-1 uygulanarak nemli ortamda 45 dakika inkübe edildi HRP-AEC yöntemi ile rutin boyama işlemi tamamlandı. Pozitif kontrol için kesitlerdeki eritrositler ve periferik sinir kesitlerinin perineuriumu kullanıldı. Glut 1 boyanma paterni değerlendirilirken Guilherme Cantuaria ve arkadaşlarının yöntemi esas alındı(6). Glut 1 reaktivitesinin yaygınlık ve dağılımı semikantitatif bir skorlama sistemi kullanılarak membranöz tipteki boyanma değerlendirildi. Benign, borderline, malign tümör hücrelerinin ve endosalpingiosizteki epitel hücrelerinin %50'den fazlası boyanıyorsa kuvvetli boyanma (+++), %10-50 arası orta derecede boyanma (++), %10'un altındaki boyanmalar hafif derecede boyanma(+) ve hiç boyanma olmaması negatif boyanma (-) olarak değerlendirildi.

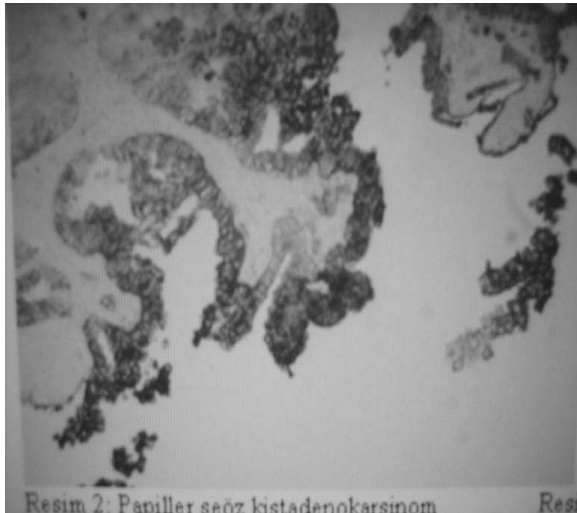
İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen parametrelerimiz Kruskal Wallis analizi ile ve Mann Whitney U test ile değerlendirildi; normal dağılım gösteren parametrelerde ise Student t test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmamızdaki Glut 1 değerlendirmesinde 34 benign vakanın ve 5 endosalpingiozis olgusunun tamamında (%100) hiç boyanma olmazken , 15 borderline vakanın 13(%86,7)'ünde, 38 malign vakanın 37(%97,4)'sinde pozitif boyanma (**Resim 1**) saptanmıştır. Benign, borderline ve malign olgularda Glut 1 negatifliği ve pozitifliği açısından istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p < 0,01$) (**Tablo I**).

Resim 1: Papiller seröz kistadenokarsinom olgusunda kuvvetli Glut 1 boyanması (Glut 1x100)



Malign + Borderline olgularda Glut 1 değerlendirmesi yaş gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir

		Malign+Borderline		
		Glut 1		
		(-X+) n=21	(++) n=20	(+++)
Yaş	40 yaş ve üstü	11 (%57,9)	17 (%85,0)	9 (%81,8)
	40 yaş altı	8 (%42,1)	3 (%15,0)	2 (%18,2)
Ca 125	Malign ort.	870,48±1221,81	1549,62±2040,98	2425,08±2383,22
	Borderline ort.	63,83±63,11	59,03±55,12	85,00±0,00
Tümör tipi	Seröz	13 (%59,14)	10 (%95,0)	11 (%100,0)
	Müsinöz	9 (%40,9)	1 (%5,0)	-

** $p < 0,01$ ileri düzeyde anlamlı

		Malign+Borderline			p
		Glut 1			
		(-X+) n=21	(++) n=20	(+++)	
Yaş	40 yaş ve üstü	11 (%57,9)	17 (%85,0)	9 (%81,8)	0,240
	40 yaş altı	8 (%42,1)	3 (%15,0)	2 (%18,2)	
Ca 125	Malign ort.	870,48±1221,81	1549,62±2040,98	2425,08±2383,22	0,059
	Borderline ort.	63,83±63,11	59,03±55,12	85,00±0,00	0,782
Tümör tipi	Seröz	13 (%59,14)	10 (%95,0)	11 (%100,0)	0,002**
	Müsinöz	9 (%40,9)	1 (%5,0)	-	

* $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı

** $p < 0,01$ ileri düzeyde anlamlı

Malign olgularda Glut 1 sınıflamasına göre 60 yaş altı ve üzerinde olan olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0,05$). Malign olgularda Glut 1 boyanma derecesi evre I+II olguların %70'inde (+) izlenirken ,evre III+IV olguların %70'inde (++),(+++)'lik saptanmış olup istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0,01$). Malign olgularda Glut 1 boyanma derecesi iyi differansiye olgularda daha çok (+) , orta derecede diferansiye ve azdiferansiye olgularda (++),(+++)' olup istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0,01$). Malign olgularda Glut 1 sınıflamasına göre Ca 125 ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte marjinal bir ilişki kaydedilmiştir ($p > 0,059$) (**Tablo III**).

		Glut 1			P
		(-)	(+)	(++)	
Yaş	60 yaş ve üstü	4 (%40,0)	9 (%50,0)	5 (%50,0)	0,863
	60 yaş altı	6 (%60,0)	9 (%50,0)	5 (%50,0)	
Evre	I+II	7 (%70,0)	2 (%11,1)	-	0,0001**
	III+IV	3 (%30,0)	16 (%88,9)	10 (%100,0)	
Ca 125 (ortalama)		840,48±1221,8	1549,62±2040,9	2425,08±2383,2	0,059
Tümör tipi	Müsinöz	4 (%40,0)	-	-	-
	Seröz	6 (%60,0)	18 (%100,0)	10 (100,0)	
Grade	İyidif.	7 (%70,0)	-	-	0,0001**
	Orta der. dif.	-	13 (72,2)	8 (%80,0)	
	Az dif.	3 (%30,0)	5 (%27,8)	2 (%20,0)	

** p<0,01 ileri düzeyde anlamlı

Malın ve borderline tümörler arasında Glut 1 boyanma düzeyleri de istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır (p<0,01). Malın olgularda çoğunlukla (++) düzeyinde boyanma görülürken, borderline olgularda çoğunlukla (-)/(+) düzeyinde boyanma görülmektedir. (Tablo IV)

Tablo IV: Malın ve Borderline olgularda Glut 1 değerlendirilmesi

		Malın	Borderline	P
Glut 1	(-) (+)	10 (%26,3)	12 (%80,0)	
	(++)	18 (%47,4)	2 (%13,3)	
	(+++)	10 (%26,3)	1 (%6,7)	

** p<0,01 ileri düzeyde anlamlı

TARTIŞMA

Glut 1 hücre yüzeyinde yer alan ve glukoz transportunu kolaylaştıran protein yapıda bir moleküldür (1,2,3,4,5,6,7). Fizyolojik ekspresyonu dışında normal epitelyal dokularda immünohistokimyasal olarak gösterilememiştir (6). Glut 1'in aberan ekspresyonu bir çok immünohistokimyasal çalışmada epitelyal neoplazmlarda tesbit edilmiş ve bu ekspresyonun neoplastik progresyonla korele olduğu görülmüştür(1,8,2,3,4,5,6,7). Kalir T ve arkadaşları benign, borderline ve malın epitelyal over tümörlerinde Glut 1 ile yaptıkları bir çalışmada membranöz boyanmayı değerlendirerek benign tümörlerin ve endosalpingiozis olgularının %100'ünde hiç boyanma görmezken, borderline tümörlerin %80'ninde hafif ve orta dereceli pozitif boyanma, malın tümörlerin %96'sında orta derecede ve kuvvetli pozitif boyanma saptamışlardır(1).

olarak ileri düzeyde anlamlı farklılıklar bulunmuştur (p<0,01) (Tablo I) Cantuarria G ve arkadaşları borderline ve malın epitelyal over tümörlerinde Glut 1 ile yaptıkları bir çalışmada borderline ve malın tümörler arasında Glut 1 boyanma derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada glut 1 boyanma derecesinin grade'lere göre anlamlı farklılıklar içerdiğini ve seröz tümörlerde müsinöz tümörlere göre boyanma oranının istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır(7).Kawamura T ve arkadaşları gastrik karsinomlarda Glut 1 ile

nvazyon derinliği, du metastazı, evre si arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptamışlardır (4).Kim YW ve arkadaşları safra kesesi karsinomlarında Glut 1 ile yaptıkları bir çalışmada Glut 1 pozitifliğinin diferansiyasyon derecesi, evre yüksekliği ve c-erbB-2 pozitifliği ile korele olduğunu bildirmişlerdir (5).Çalışmamızda malın+ borderline tümörlerde Glut 1 boyanma derecesi, tümör tipi ile karşılaştırıldığında seröz tümörlerde müsinöz tümörlere göre Glut 1 boyanması anlamlı derecede yüksek bulunmuştur . Yaş gruplarına göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmamıştır. Malın olgularda, Glut 1 boyanma derecesi ile prognostik parametreler karşılaştırıldığında Glut 1 boyanması ile yaş arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>0,05). Evre III+IV olgularda Glut 1 boyanma oranının evre I+II olgulara göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (p<0,01). Ca 125 ortalamaları ile Glut 1 boyanma derecesi arasında anlamlı olmamakla birlikte marjinal bir ilişki kaydedilmiştir(p>0,059). Tümör grade'i ile Glut 1 boyanma derecesi karşılaştırıldığında grade'lere göre anlamlı farklılıklar bulunmuştur (p<0,05).Malın ve borderline olgular Glut 1 ekspresyonu açısından karşılaştırıldığında

lut 1 değerlendirilmesinde ve 5 endosalpingiozis a (%100) hiç boyanma orderline vakanın 38 malın vakanın if boyanma saptanmıştır. : malın olgularda Glut 1 ifliği açısından istatistiksel

istatistiksel anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0,05$) Sonuç olarak seröz ve müsinöz over tümörlerinde malign transformasyonun artmasıyla Glut 1 ekspresyonu artmaktadır. Seröz ve müsinöz over karsinomlarında Glut 1 ekspresyonu evre ve tümör grade'i ile koreledir. Malign+ borderline olgularda seröz tümör tipinde müsinöz tümör tipine göre Glut 1 ekspresyonu anlamlı derecede yüksektir. Bu sonuçlar gözönüne alındığında Glut 1 ekspresyonu seröz ve müsinöz over tümörlerinde prognostik açıdan anlamlıdır. Az diferansiye mikst tümörlerde seröz komponenti belirlemede, ara olgularda, borderline tümörlerdeki invaziv fokusu yakalama ve onaylamada tanıs olarak yardımcı bir marker olabilir. Bu tarz kullanımı için daha geniş serilerle, yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Kalir T, Wang BY, Goldfischer M, et al: İmmünohistochemical staining of Glut 1 in benign, borderline and malignant ovarian epithelia. *Cancer* 2002; 94: 1078-1082.
2. Wang BY, Kalir T, Sabo E, et al: İmmünohistochemical staining of Glut 1 in benign, hyperplastic, and malignant endometrial epithelia. *Cancer* 2000; 88: 2774-2781.
3. Alo PL, Visca P, Botti C, et al: İmmünohistochemical expression of human erythrocyte glucose transporter and fatty acid synthase in infiltrating breast carcinomas and adjacent typical/atypical hyperplastic or normal breast tissue. *Am J Clin Pathol* 2001; 116: 129-134.
4. Kawamura T, Kusakabe T, Sugino T, et al: Expression of glucose transporter 1 in human gastric carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 634-641.
5. Kim YW, Park YK, Yoon TY, et al: Expression of the Glut 1 glucose transporter in gallbladder carcinomas. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 907-911.
6. Cantuaria G, Fagotti A, Ferrandina G, et al: Glut 1 expression in ovarian carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 1144-1150.
7. Cantuaria G, Magalhaes A, Penalver M, et al: Expression of Glut 1 glucose transporter in borderline and malignant epithelial tumours of the ovary. *Gynecol Oncol* 2000; 79: 33-7.
8. Furudo A, Tanaka S, Haruma K, et al: Clinical significance of human erythrocyte glucose transporter 1 expression at the deepest invasive site of advanced colorectal carcinoma. *Oncology* 2001; 60:162-169.
9. Iserovich P, Wang D, Ma L, et al: Changes in glucose transport and water permeability resulting from the T310I pathogenic mutation in Glut 1 are consistent with two transport channels Per monomer. *J Biol Chem* 2002; 277: 30991-30997.
10. Mensch LS, Weller L, Simmons-Arnold L, et al: Glut 1 antibody staining in thin-layer specimens of benign and malignant body cavity effusions. *Acta Cytol* 2002; 46: 813-818.
11. Nguyen XC, Lee WW, Chung JH, et al: FDG uptake, glucose transporter type 1, and Ki-67 expressions in non-small-cell lung cancer: Correlations and prognostic values. *Eur J Radiol*. 2007 May; 62 (2) : 214-9. Epub 2007 Jan 18.
12. Wincewicz A, Sulkowska M, Koda M, et al: Significant coexpression of GLUT-1, Bcl-xL, and Bax in colorectal cancer. *Ann NY Acad Sci*. 2007 Jan; 1095:53-61.
13. Kundel M, Moergel M, Stockinger M, et al: Overexpression of GLUT-1 is associated with resistance to radiotherapy and adverse prognosis in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oral Oncol*. 2007 Jan 3