

ENDOMETRİUM KARSİNOMLARINDA c-erbB-2 ve p53 EKSPRESYONUNUN PROGNOSTİK PARAMETRELER İLE İLİŞKİSİ

Dr. Cenk Ergen¹, Dr. M. Murat Naki², Dr. Bahar Ergen², Dr. Oluş Api², Dr. Nimet Karadayı¹, Dr. Orhan Ünal²

ÖZET

Giriş: c-erb-B2 ve p53 genleri birçok malignitede karsinogeneze katılmaktadır, fakat endometrial kaarsinogeneziste rolleri tam olarak aydınlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, endometrial kanserde prognostik parametrelerle c-erb-B2 ve p53 arasındaki ilişkiyi klinikohistopatolojik karakteristiklerle değerlendirmektir.

Materyal ve Metod: Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde (İstanbul), tanı ve tedavi almış 56 endometrioid tipte endometrial adenokarsinom olgusu immunohistokimyasal olarak tümör supresör gen p53 ve onkogen c-erb-B2 ile çalışılmıştır. Sonuçların istatistiksel analizi SPSS 13 kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Hastaların ortalama yaşı 58,7 (43-81) idi. p53, 38 olguda pozitif (67.8 %) ve 18 olguda negatif (32.1%) idi. c-erb-B2 13 olguda pozitif (23.2 %), hafif boyanma 13 (23.2 %), orta şiddette boyanma 18 olguda (32.1%), 12 olguda (21.4 %) negatifti.

Tartışma: Sağ kalım değerlendirmeleri c-erb-B2 pozitifliği veya p53 pozitifliği ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadığını göstermiştir.

ABSTRACT

Objective: The c-erb-B2 and p53 genes participate in the carcinogenesis of many malignancies, but the role of both genes in endometrial carcinogenesis is not fully elucidated. The aim of the study was to determine the correlation between prognostic parameters with p53 and c-erb-B2 in clinicohistopathological characteristics of the studied endometrial cancers.

Material and Methods: 56 cases of endometrioid type endometrial adenocarcinoma diagnosed and treatment at Kartal Teaching and Research Hospital, İstanbul, were immunohistochemical studied for tumor suppressor gene p53, and over-expression of oncogene c-erb-B2. The statistical analysis of the results was performed by SPSS version 13.

Results: The mean age of the patients was 58.7 years with a range of 43 to 81 years. p53 was positive in 38 cases (67.8%) and negative in 18 cases (32.1 %). c-erb-B2 was positive in 13 cases (23.2 %), mild in 13 cases (23.2 %), moderate in 18 cases (32.1 %), and negative in 12 cases (21.4 %).

Conclusion: Survival analysis showed that no statistically significant relationship was found between the incidence of c-erb-B2 or p53.

Geliş tarihi: 01/05/2010

Kabul tarihi: 05/05/2010

¹Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği İSTANBUL

²Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği İSTANBUL

İletişim: Dr. M. Murat Naki

Cihat Saran Sok. Cagdas Ap. A Blok No: 11/3, 34841 Kucukyali Maltepe-İSTANBUL

Tel: 0532 770 66 66

E-posta: mmuratnaki@yahoo.com

Giriş

Gelişmiş ülkelerde kadın genital sisteminde en sık rastlanan jinekolojik malignite endometrium kansinodur. Kadınlarda görülen kanserler içinde meme, kolorektal ve akciğer kanserinden sonra 4. sıklıkta görülmektedir (1,2). Ortalama yıllık insidans 21.1/100000 olmasına rağmen, mortalite hızı 3,4/ 100000 dür (2). Histolojik grade ve myometrial invazyon derinliği prognozu önemli ölçüde etkilemektedir (3).

Hastaların %20 si menopoz öncesinde tanı almasına karşılık en sık 50-75 yaşlarında görülür (4). Tanı sırasında ortalama yaş 61 civarındadır (4). Gelişmiş ülkelerdeki düzenli periyodik muayene alışkanlığı, gelişen erken tanı yöntemlerinin ofis ortamında uygulanabilmesi tanı koymada kolaylık sağlayan etkenlerdir. Kadında ortalama yaşam süresinin artması postmenopozal görülen endometrium kanserinin görülme sıklığını arttırmaktadır (5).

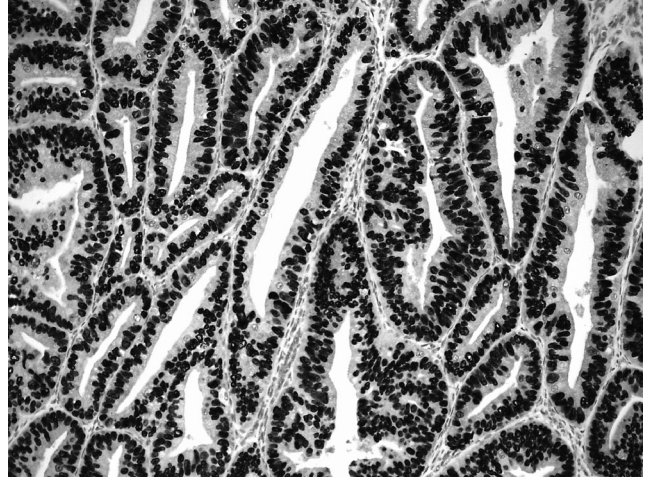
Nulliparite, geç menopoz, ailevi öykü, obezite, hayvansal yağ kullanımı, anovuluar infertilite, diabetes mellitus, östrojen salgılayan over tümörleri, Poliksitik over sendromu (Stein Leventhal Sendromu), meme kanseri nedeniyle 2 yıldan fazla tamoksifen kullanımı, bazı malign hastalıklar (meme, herediter nonpolipozis kolorektal kanser) bilinen risk faktörleridir (5).

Buna karşın östrojen düzeyini düşüren veya progesteron düzeylerini yükselten faktörler, örneğin; oral kontraseptifler ve doğum sayısının artmasının endometrium kanserine karşı koruyucu etkileri vardır (5,6).

Endometrium kanserinin etiolojisinde yer alan moleküler genetik değişimlerle ilgili birçok çalışma mevcuttur. Etyopatogeneizde tümör supresör genlerin bazılarında değişiklikler bildirilmiştir. K-ras nokta mutasyonunun endometrial hiperplaziye eşlik eden endometrium kanserinde tümörögenезisin tetikleyicisi olduğu saptanmıştır (6). Bazı olgularda p53 tümör supresör gende tek baz missense mutasyon tespit edilmiştir. Ayrıca HER-2/neu onkoprotein, transforming growth faktör alfa protein ve makrofaj koloni uyarıcı faktör protoonkogen m RNA'larında artmış ekspresyon tanımlanmıştır (6).

Endometrium adenokarsinomlarının yaklaşık üçte ikisinde DNA içeriği diploiddir. Aneuploid hücre popülasyonu içeren tümörlerde ölüm oranları genellikle daha yüksek olarak bildirilmektedir. Proliferatif indeks prognozla ilişkili bulunmuştur (7).

Tümör supresör geni olan p53'teki değişiklik %20



Şekil 1—Endometrioid adenokarsinom olgusunda p53 nükleer boyanması (p53x20).

hastada meydana gelmektedir. Bu; papiller seröz tip, ileri evre ve kötü prognozla ilişkilidir. K-ras onkojeninde kodon 12 ya da kodon 13'e ait mutasyonlar ise endometrium adenokarsinomlarının %10-20'sinde tespit edilmiştir. Bir çalışmada, K-ras mutasyonu varlığı kötü prognoza işaret eden bağımsız bir faktör olarak bulunmuştur (8,9).

MATERYAL VE METOD

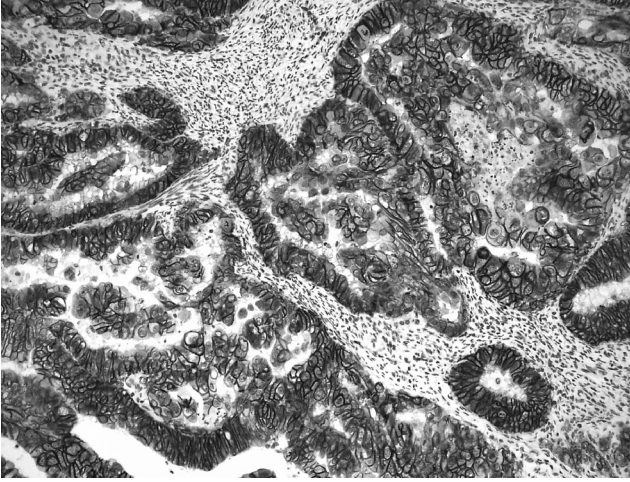
Arşiv kayıtları incelenerek 2005-2009 tarihleri arasında Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniğinde tanı almış toplam 56 adet endometrial adenokarsinom vakası çalışmaya alındı. Vakalara ait H&E boyalı preparatlar tekrar değerlendirilerek tümörü en iyi örnekleyen lama ait parafin bloklar immunohistokimyasal inceleme için seçildi.

İMMUNOHİSTOKİMYA

Seçilen parafin bloklardan elde edilen 2 µm lik kesitler önceden poly-L-lysin ile kaplanmış lamlara alındı. Kesitler bir gece 370 C ısıda etüvde bekletildikten sonra Leica Bond-Max immunohistokimya otomatik makinesinde sırayla çeşitli solüsyonlardan geçirildi.

İmmunhistokimyasal Boyamanın Değerlendirilmesi

p53 boyasının değerlendirilmesinde, sadece nükleer boyanma kabul edildi. Pozitif kontrol olarak da-



Şekil 2–Endometrioid adenokarsinomunda c-erbB-2 3+ membranöz boyanması (c-erbB-2x40).

ha önceden p53 birikimi saptanan endometrial karsinomlar kullanıldı. Değerlendirmede x20 objektif kullanıldı. p53'ün en yoğun boyandığı alanlar seçildi. p53 tümör hücrelerinin %10'undan fazlasında boyanma olması pozitif kabul edildi (10) (Şekil 1)

c-erbB-2 boyanmasının değerlendirilmesinde membranöz boyanma dikkate alındı, sitoplazmik boyanma negatif immunreaktivite olarak kabul edildi. Membranöz boyanma; zayıf, şiddetli, tam (komplet) ve kısmi (inkomplet) membranöz boyanma özelliklerine göre değerlendirildi. Buna göre, tümör dokusunda hiç boyanma olmaması negatif, tümörün %10'undan daha az bir alanında zayıf veya şiddetli, tam membranöz boyanma olması veya %10'undan daha fazla alanında kısmi boyanma bulunması durumunda immunreaktivite +1 (hafif) olarak değerlendirildi. Tümörün %10'undan fazlasında zayıf ve tam membranöz boyanma olması durumunda immünreaktivite +2 (orta), %10 undan fazlasında şiddetli ve tam membranöz boyanma olması durumunda ise immünreaktivite + 3 (şiddetli) olarak değerlendirildi (11) (Şekil 2).

İstatistiksel İncelemeler

Çalışmamızda elde edilen bulgular değerlendirilirken istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 13.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra niteliksel verilerin karşılaştırılmasında

ise Ki-kare testi kullanıldı. Parametreler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde Spearman's korelasyon testinden yararlanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmaya 2005-2009 tarihleri arasında Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniğinde tanı alan, retrospektif olarak incelenen 56 endometrium adenokarsinomu olgusu dahil edilmiştir. Olguların yaşları 43 ile 81 arasında değişmekte olup ortalama yaş $58,7 \pm 7,97$ idi.

60 yaş altı karsinom olgularının %43,8'i grade 1, %50 si grade 2, %6,3'ü grade 3 olup, 60 yaş üstü grupta olguların %33,3 'ü grade 1, %62,5'i grade2, %4,2 si grade 3 idi.

Karsinom olgularının %65,6'sında myometrial invazyon $1/2$ den az iken, %34,4'ünde $1/2$ den fazla idi.

Karsinom olgularının %83,85'inde endoservikal invazyon izlenmezken, %16,15'inde endoservikal invazyon mevcuttu.

Olguların %45,85'ine lenf nodu örnekleme yapılmış olup bunların %3,65'inde lenf nodu tutulumu mevcuttu.

Olguların %6,25'i evre Ia, %51,55'i evre Ib, %24'ü evre Ic, %16,15'i evre IIa, %2,1'i evre IIIc idi.

p53 ile histolojik grade, nükleer grade, myometrial invazyon derinliği, endoservikal invazyon, lenf nodu tutulumu, evre, sağ kalım ve c-erbB-2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p > 0,05$).

p53 ile metastaz varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamaktadır ($p < 0,05$).

c-erbB-2 ile histolojik grade, nükleer grade, myometrial invazyon derinliği, endoservikal invazyon, lenf nodu tutulumu, evre ve sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p > 0,05$).

c-erbB-2 ile metastaz varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamaktadır ($p < 0,05$).

TARTIŞMA

Kadın genital sisteminin en sık görülen tümörü olan endometrium karsinomlarında bilinen prognostik parametreler tümör tipi, grade ve evredir. Bu kabul görmüş parametrelerin yanında son yıllarda im-

münhistokimyasal çalışmalar da değer kazanmaya başlamıştır.

Endometrium adenokarsinomlarında bazı proto-onkogenlerde ve tümör supresör genlerde değişiklikler bildirilmiştir. K-ras geninde aktive nokta mutasyon tümörögenizde ilk gerçekleşen değişikliktir (12). Bunun yanı sıra p53 geninde tek baz missense mutasyon, c-erbB-2 onkoproteinde, transforming growth faktör α ve makrofaj koloni uyarıcı faktör'de artmış ekspresyon tanımlanmıştır (13).

Gassel ve ark. 236 hastanın dahil edildiği çalışmalarında immunhistokimyasal metodla hormon reseptör durumu, p53 ekspresyonunu, c-erbB-2 ekspresyonunu ve Cathepsin D ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. Östrojen ve progesteron (sırasıyla %59 ve %47) reseptör pozitifliği ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada p53 ekspresyonu (%31) ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (14).

Çalışmamızda da benzer olarak P53 pozitifliği (%68) ile sağ kalım arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Backe ve ark. yaptığı çalışmada; tümör supresör gen olan p53 ekspresyonunun, ileri evre kanserlerin %20-30'unda saptanması nedeniyle bu genin endometrial karsinogenezisin geç evrelerinde rolü olduğu düşünülmüştür (15).

Apel ve ark., yaptığı çalışma sonucunda ise p 53 pozitifliğinin ölüm riski ile doğru ilişkili olduğu vurgulanmıştır (16).

Oreskovic ve ark., çalışmalarında grade 1 ve 2 tümörlerde p53 pozitifliğinin sağ kalım üzerine olumsuz etkisini gözlemlemişlerdir (17).

Çalışmamızda p53 pozitifliği ile grade arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Apel ve ark., yaptığı çalışmada p53 pozitifliği ile hastaların yaşı arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Aynı çalışmada cerrahi evreyle p53 ekspresyonu arasında anlamlı ilişki bulunmazken yalnızca lenf nodu pozitifliği olan olgularda p53 immunreaktivite sıklığının daha fazla olduğu bildirmiştir (16).

Günümüzde lenf nodu invazyonu endometrium karsinomlarında en önemli prognostik faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda olguların %45,85'ine lenf nodu örneklemesi yapılmış olup, p53 pozitifliği ile lenf nodu invazyonu arasında ve c-erbB-2 pozitifliği ve lenf nodu invazyonu arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

c-erbB-2 ekspresyonu endometrial kanserlerin %9-60'ında pozitif olarak bildirilmektedir. Berchuck ve ark. yaptığı çalışmada c-erbB-2 pozitifliği ile hastalığın evresi ve sağ kalım arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (18).

Yapılan diğer çalışmalar bu bulguları doğrulamıştır. Khalifa ve ark. yaptığı çalışmada c-erbB-2 ekspresyonu ile myometrial invazyon derinliği arasında pozitif yönde anlamlı ilişki bulunmuş fakat sağ kalım ile ilişkilendirilememiştir (19).

Gassel ve ark. yaptığı çalışmada ise c-erbB-2 (%49) ekspresyonu olmayan grupta sağ kalımda uzama eğiliminden söz edilmiştir (14). Lambropoulou ve ark. yaptığı çalışmada ise olgular sitoplazmik c-erbB-2 pozitifliğine göre iki gruba ayrılmışlar, sitoplazmik c-erbB-2 ekspresyonu %10'dan az olan 31 hasta ve c-erbB-2 aşırı ekspresyonu olan 71 hasta 10 yıl süreyle izleme alınmış ve 10 yıllık sürede sağ kalım sırasıyla %86,4±6,4 ve %60,3±7,9 olarak tespit edilmiştir. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (20).

Çalışmamızda c-erbB-2 ekspresyonu ile sağ kalım arasında anlamlı fark bulunmamış olmakla birlikte bunun olgu sayısının 56 ile kısıtlı olmasına ve c-erbB-2 nin değerlendirilmesindeki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kohlberger ve ark.'nın c-erbB-2 ekspresyonu, myometrial invazyon derinliği, klinik evre ve histolojik grade'i karşılaştırdıkları çalışmalarında anlamlı ilişki bulunmamışlardır (21).

Çalışmamızda da c-erbB-2 pozitifliği ile myometrial invazyon derinliği arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Fakat çalışmamızda metastaz varlığı ile p53 pozitifliği ve c-erbB-2 pozitifliği karşılaştırılmış ve aralarında anlamlı ilişki bulunmuştur.

Sonuçta, çalışmamızda endometrium kanseri olgularında her ne kadar karsinogenez sürecinde anlamlı rolü olduğu bilinen p53 ve c-erbB-2'nin, immunhistokimyasal yöntemle elde edilen pozitifliğinin sağ kalım ve prognoz üzerine anlamlı etkisi olmadığı gösterilse de, prognoz ve sağ kalım üzerine etkilerini açığa çıkarabilmek için daha geniş vaka serilerine ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Burton JL Wells M Recent advances in the histopathology and molecular pathology of carcinoma of the endometrium 1998. 33. 297-303.

2. Jones SW, Jones GS. Anatomy in Novak text book of gynecology, 10th ed. Baltimore 1981 Wilkins.
3. Voigt LF, Weiss NS. Epidemiology of endometrial cancer. *Cancer Treat Res.* 1989. 1-21.
4. Rose PG. Endometrial carcinoma. *N. Eng J Med* 1996; 335:640-649.
5. Geisler HE, Huber CP, Rogers S. Carcinoma of the endometrium in premenopausal women. *Am J Obstet. Gyn.* 1969. 104. 657-663.
6. Burton JL, Wells M. Recent advances in the histopathology and molecular pathology of carcinoma of the endometrium 1998. 33. 297-303.
7. Ikeda M, Watabe Y, Nanjoh T, Noda K. Evaluation of aneuploidy in endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.* 1993 50. 25-29.
8. Tornøse C, Silva EG. Aggressive stage 1, grade 1 endometrial carcinoma. *Cancer* 1992 70:790-798.
9. Zaino RJ, Davis AT. DNA content is an independent prognostic indicator in endometrial carcinoma. *Int J Gynecol. Pathol.* 1998 17:312-319.
10. Marcia LM. p53 and bcl-2 as prognostic markers in endometrial carcinoma. *Pathol. Oncol.* 2008 14:23-30.
11. Hetzel DJ, Wilson TO. HER-2/neu expression. A major prognosis factor in endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.* 1992 47. 179-185.
12. (Lester D.R, Cauchi MN. Point mutations at codon 12 of c-k-ras in human endometrial carcinomas. *Cancer Lett.* 51:7-10, 1982.
13. Bahman Safari, Jones LA, Naggar EA, Felix JC, George J et al. Amplification and overexpression of HER-2/neu (c-erb b2) in endometrial cancer: Correlation with overall survival. *Cancer Research* 55, 5693-98, 1995.
14. Gassel AM et al. Endometrial carcinoma: immunohistochemically detected proliferation index is a prognosticator of long term outcome. *J Clin Pathol.* 1998;51:25-29.
15. Backe J et al. Die Proliferationsrate als Prognosekriterium beim Endometriumkarzinom - eine immunhistochemische Analyse mit dem monoklonalen Antikörper Ki-S1. *Zentralbl Gynakol*
16. Marcia LM, Apel, Edelweiss M, Fleck J, Rivero LF, Riviere WA, Monego HI et al. p53 ve bcl-2 as prognostic markers in endometrial carcinoma. *Pathol. Oncol. Res.* 14:23-30, 2008.
17. Oreskovic S, Babic D, Kalafatic D, Barisic D, Beketic-Oreskovic LA. Significance of immunohistochemical determination of steroid receptors, cell proliferation factor ki-67 and protein p53 in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 93:34-40, 2004.
18. Berchuck A, Rodriguez, Kinney RB. Overexpression of HER-2/neu in endometrial cancer is associated with advanced stage disease. *Am J Obstet Gynecol* 164: 15-21, 1991.
19. Khalifa MA et al. Expression of EGFR, HER-neu, P53, and PCNA in endometrioid, serous papillary and clear cell endometrial adenocarcinomas. *Gynecol Oncol.* 53: 84-92 (1994)
20. Maria Lambropoulou, Stefanou D, Alexiadis G, Tripsianis G, Chatzaki E, Vandaros GP et al. Cytoplasmic expression of c-erb b2 in endometrial carcinomas. *Oncologie.* 30:495-500, 2007.
21. Kohlberger P, Loesch A, Koelbl H, Breitenecker G, Kainz C, Gitsch G. Prognostic value of immunohistochemically detected HER-2/neu oncoprotein in endometrial cancer. *Cancer-Letter* 98: 151-55.