

KOLOREKTAL KARSİNOMLARDA E-CADHERİN VE Ki-67 EKSPRESYONUNUN EVRE, HISTOLOJİK TIP VE DERECE İLE İLİŞKİSİ

Dr. Mehmet KEFELİ, Dr. Filiz KARAGÖZ, Dr. Sancar BARIŞ, Dr. Levent YILDIZ, Dr. Oğuz AYDIN, Dr. Bedri KANDEMİR

ÖZET: Bu çalışmada Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1998-2002 yılları arasında kolorektal karsinom tanısı almış 102 adet kolorektal rezeksiyon materyaline ait kesitler retrospektif olarak incelendi. E-cadherin ve Ki-67 ekspresyonunu saptamak amacıyla immünohistokimyasal çalışma yapıldı ve E-cadherin ve Ki-67 ekspresyonu ile tümörlerin diferansiyasyon, histolojik alt tip ve evreleri arasındaki ilişki değerlendirildi. Yüziki kolorektal adenokarsinom ve müsinöz karsinom olgusunun 89'unda (%87) E-cadherin ekspresyonu saptandı. Yirmiüç olgu (+), 32 olgu (++) ve 34 olgu (+++) olarak değerlendirildi. Ki-67 ekspresyonu 86 olguda (%84) gösterilebildi ve ortalama Ki-67 indeksi %16.7 olarak bulundu. E-cadherin ve Ki-67 ekspresyonu ile tümör diferansiyasyonu arasında ilişki gözlemlendi, ancak tümörün evresi ve histolojik tipi arasında bir ilişki bulunmadı.

ANAHTAR KELİMELEER: Kolorektal karsinom, adenokarsinom, müsinöz karsinom, E-cadherin, Ki-67

SUMMARY: E-CADHERIN AND Ki-67 EXPRESSION IN COLORECTAL CARCINOMAS AND THEIR RELATIONSHIP WITH STAGE, HISTOLOGICAL SUBTYPE AND GRADE. In this study, tissue slides from 102 colorectal resection specimens examined between 1998-2002 in the Department of Pathology, Faculty of Medicine, Ondokuz Mayıs University were retrospectively reevaluated. E-cadherin and Ki-67 expression were demonstrated immunohistochemically and relationship of E-cadherin and Ki-67 expression with differentiation, histological subtype and stage were investigated. E-cadherin expression was seen in 89 of 102 (87%) colorectal adenocarcinomas and mucinous carcinomas. Twentythree cases were (+), 32 cases (++) and 34 cases (+++). Ki-67 expression was seen in 86 cases (84%) with a mean value of 16.7%. There was a relationship between E-cadherin and Ki-67 expression and tumor differentiation. However no relationship between E-cadherin and Ki-67 index with tumor stage and histological subtype was found.

KEY WORDS: Colorectal carcinoma, adenocarcinoma, mucinous carcinoma, E-cadherin, Ki-67

GİRİŞ

Kolorektal karsinomlar tüm kanserlerin yaklaşık %11'ini oluşturlar ve tümörlere bağlı ölümlerde üçüncü sırada yer alırlar (1). Kolorektal karsinomların tedavi şeklinin ve prognozunun belirlenmesinde evre, histolojik tip, diferansiyasyon ve lenf nodu tutulumu gibi çeşitli kriterler rol oynamaktadır (2,3). Bu klasik histopatolojik kriterlerin yanı sıra hücre proliferasyonu ile ilgili bir belirleyici olan Ki-67 ve hücre adhezyon molekülü olan E-cadherin'in de patogeneze ve prognozdan saptanmasında önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir (4,5). Bu çalışmada kolorektal karsinom tanısı almış hastalarda dokuda immünohistokimyasal yöntemle Ki-67 ve E-cadherin ekspresyonu ile tümörün evresi, histolojik tipi ve diferansiyasyonu arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinde 1998-2002 yılları arası taranarak kolorektal karsinom tanısı almış toplam 102 adet olgu çalışmaya alındı. Olgulara ilişkin yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu ve histolojik tip gibi veriler kaydedildi. Olgulara ait Hematoksilin-Eozin (HE) boyalı kesitler yeniden değerlendirildi. Tümörler, hücresel tabakalanma ve glandüler yapı oluşturma özellikleri göz önüne alınarak iyi, orta ve az diferansiye olarak derecelendirildi. Barsak duvarı invazyon seviyesi ve metastatik lenf nodları varlığına göre Astler-Coller sınıflaması kullanılarak evrelendirildi. Mü-

sinöz karsinom tanısı için müsinöz komponentin en az %50 olması kriteri uygulandı (2). Her olgudan tümörle birlikte normal mukozaya da sahip olan, kanama ve nekroz içermeyen uygun birer blok seçildi ve E-cadherin (klon 36B5, Novocastra) ve Ki-67 (klon MM1, Novocastra) primer antikorlarıyla streptavidin biotin peroksidaz yöntemi kullanılarak immünohistokimyasal çalışma yapıldı. Renklendirici ajan olarak 3,3'-diamino benzdin (DAB) içeren universal kit (DAKO, Carpinteria, USA) kullanıldı.

Her iki antikor için de kesitlerde bulunan normal kolon mukozası internal pozitif kontrol olarak kullanıldı. Buna göre E-cadherin için normal kolon mukozası epitel hücrelerinin sitoplazmik membranları, Ki-67 için kriptlerin 1/3 alt kısmında proliferatif zondaki epitel hücrelerinin nükleuslarının boyanması esas alındı. Sonuçlar Olympus BX50 ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

Olguların E-cadherin ile boyanma yoğunluğunun değerlendirilmesi Schumacher ve arkadaşlarının (6) çalışmalarında uyguladıkları gibi 4 gruba ayrılarak yapıldı. Buna göre her kesitte mevcut olan normal kolon mukozası ile aynı yoğunlukta boyanan tümörler normal yoğunlukta (+++), normal kolon mukozasına göre daha az şiddette boyanan tümörler azalmış yoğunlukta (++) ve boyanma şiddeti zorlukla seçilen tümörler minimal yoğunlukta (+) olarak gruplandırıldı. Boyanma kriteri olarak sitoplazmik membran boyanması esas alındı ve sitoplazmik membran boyanması olmaksızın yoğun sitoplazmik veya nükleer boyanma negatif kabul edildi. Tümöral dokudaki %25' den daha az olan membranöz boyanmalar negatif olarak kabul edildi.

Ki-67 ile boyanan olgular değerlendirilirken X40 objektif ile toplam 1000 tümör hücresi sayılarak pozitif boyanan nükleusların yüzdesi saptandı. Tüm nükleer boyan-

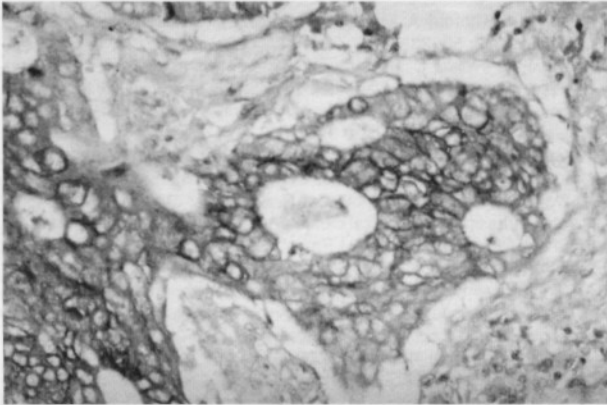
(The Turkish Journal of Pathology)

malar boyanma şiddetindeki farklılıklara bakılmaksızın pozitif kabul edildi. Ki-67 boyanma indeksi pozitif boyanan hücrelerin yüzdesi olarak ifade edildi.

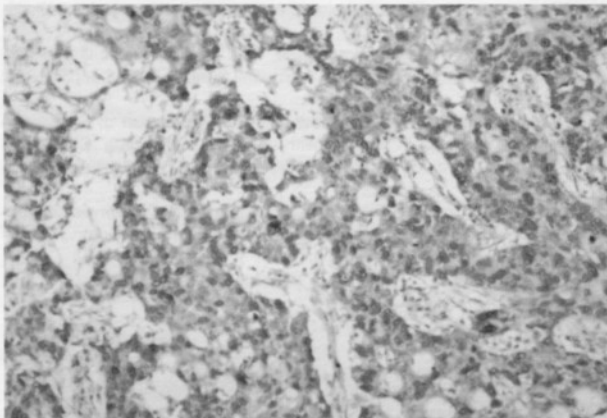
İstatistiksel olarak tümörlerin histolojik alt tip, diferansiyasyon ve evrelerine göre E-cadherin boyanma yoğunluğu bakımından farklılıklarını belirlemede Ki-kare, Ki-67 indeksi bakımından farklılığını belirlemede ise Mann-Whitney U testi kullanıldı.

BULGULAR

Kolorektal karsinom tanısı alan olguların en genci 21, en yaşlısı 88 yaşında olup yaş ortalaması 58.16 ± 13.24 idi. Olgulardan 56'sı erkek, 46'sı kadındı ve kadın:erkek oranı 1:1.2 olarak bulundu. Yerleşim yerlerine göre tümörler 38 olguda sol kolon, 32 olguda sağ kolon ve 32 olguda rektumda yer almaktaydı. Histopatolojik olarak 89 olgu (%87) nonmüsinöz adenokarsinomdu. Bunlardan 28'i iyi diferansiye (İD), 48'i orta derecede diferansiye (OD), 13'ü az diferansiye adenokarsinomdu (ADAK). Müsinöz karsinomlar (MK) ise 13 olguda (%13) saptandı. Evrelerine göre olguların dağılımına bakıldığında evre A'da 1 olgu, evre B'de 39 olgu, evre C'de 52 olgu ve evre D'de 10 olgu yer almaktaydı. Olguların 40'ında (%39) metastatik lenf nodu saptanmazken 62 olguda (%61) metastatik lenf nodu izlendi.



Resim 1: İDAK'da (+++) membranöz E-cadherin immünreaktivitesi (X400).



Resim 2: ADAK'da yüksek Ki-67 immünreaktivitesi (X200).

TABLO 1: E-CADHERİN BOYANMA YOĞUNLUĞUNUN HİSTOLOJİK ALT TİPLERE VE DİFERANSİYASYONA GÖRE DAĞILIMI

	E-Cadherin Boyanma Yoğunluğu			
	(-)	(+)	(++)	(+++)
İDAK*	1	4	8	15
ODAK*	4	9	16	19
ADAK*	3	6	4	-
MK*	5	4	4	-
Toplam	13 (%13)	23 (%23)	32 (%31)	34 (%33)

İDAK: İyi diferansiye adenokarsinom, ODAK: Orta derecede diferansiye adenokarsinom, ADAK: Az diferansiye adenokarsinom, MK: Müsinöz karsinom
*p<0.001, İDAK ve ODAK, ADAK ve MK ile karşılaştırıldığında.

Olgular E-cadherin ekspresyonu açısından incelendiğinde 102 olgunun 89'unda (%87) E-cadherin pozitifliği saptandı (Resim 1). Geriye kalan 13 olguda (%13) E-cadherin ekspresyonu izlenmedi. E-cadherin pozitif olgularda boyanma yoğunluğu 34 olguda (%33) (+++), 32 olguda (%31) (++), 23 olguda (%23) (+) olarak bulundu (Tablo 1). Tümörlerin histolojik alt tiplere ve diferansiyasyonlarına göre E-cadherin boyanma yoğunluğuna bakıldığında ADAK ve MK'da, İDAK ve ODAK'lara oranla E-cadherin boyanma şiddetinde azalma izlendi ($p<0.001$). E-cadherin immünreaktivitesi ile olguların evresi arasında belirgin bir ilişki izlenmedi ($p>0.05$) (Tablo 2). E-cadherin pozitifliği ile lenf nodu veya uzak organ metastazı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmadı ($p>0.05$).

Olgular Ki-67 immünreaktivitesi açısından incelendiğinde, 102 olgunun 16'sında (%16) boyanma izlenmezken 86 olguda (%84) ise Ki-67 indeksi ortalaması $16.7 (\pm 16.8)$ olarak bulundu (Resim 2). Histolojik tiplere ve diferansiyasyonlarına göre olgularda Ki-67 indeksi ortalamalarının dağılımı İDAK'da $12.9 (\pm 11.9)$, ODAK'da $14.9 (\pm 16.5)$, ADAK'da $25.8 (\pm 20.3)$ ve MK'larda $22.5 (\pm 20.1)$ olarak bulundu. Diferansiyasyonun azalması ile Ki-67 indeksinin arttığı izlendi. ADAK'ların Ki-67 indekslerinin ortalamaları İDAK ve ODAK'lara göre yüksek bulundu ve bu farklılık istatistiksel olarak da anlamlıydı ($p=0.041$ ve $p=0.049$). MK'ların Ki-67 indekslerinin ortalamaları da İDAK ve ODAK'lara göre yüksek bulunmak-

TABLO 2: E-CADHERİN BOYANMA YOĞUNLUĞUNUN EVRELERE GÖRE DAĞILIMI

	E-Cadherin Boyanma Yoğunluğu			
	(-)	(+)	(++)	(+++)
Evre A	-	-	1	-
Evre B	5	11	8	15
Evre C	5	9	20	18
Evre D	3	3	3	1
Toplam	13 (%13)	23 (%23)	32 (%31)	34 (%33)

la birlikte bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

Genel olarak nonmüsinöz tümörlerin Ki-67 indeks ortalaması %16 olarak bulundu ve bu oranın müsinöz tümörlere göre düşük olduğu görüldü. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

Olguların evrelerine göre Ki-67 indeks ortalamalarına bakıldığında, evre A'daki tek olguda boyanma izlenmemiş olup, evre B'de %18.3 (± 18.6), evre C'de %14.1 (± 14.4) ve evre D'de %25.9 (± 19.4) olarak bulundu. Evre D'de Ki-67 indeks ortalaması diğer evrelere göre yüksekti ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

Tüm olguların Ki-67 indeks ortalaması olan %16 baz alındığında, %16'nın altında ve %16'nın üzerinde Ki-67 değeri olan olguların E-cadherin boyanma yoğunluğuna bakıldığında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

TARTIŞMA

Malign epitelyal hücrelerdeki intersellüler kohezyon kaybının invazyon ile ilişkisi yaklaşık 60 yıl önce ilk defa Coman tarafından tanımlanmıştır (7). Daha yakın tarihte ise Fearon ve arkadaşları tarafından 18. kromozomun uzun koluna lokalize bir transmembran proteini olan ve yapısal olarak hücre adezyon molekülleri ile yakın benzerlik gösteren DCC (Deleted in colon carcinoma) geni tanımlanmıştır (8). Bu genin kaybı kolorektal karsinomların %70-75'inde bulunmaktadır. Kolorektal tümörlerde hücre kohezyonu ve epitelyal bütünlüğün korunmasını sağlayan ve hücre membranında yer alan bir diğer molekül E-cadherindir. E-cadherin geni kromozom 16q22.1'de lokalizedir ve bu bölgedeki homozigot kayıplar çeşitli epitelyal tümörlerde tanımlanmıştır. Kolorektal tümörlerde E-cadherin ekspresyonu birçok çalışmada araştırılmıştır. Dorudi ve arkadaşları 1993'de yaptıkları çalışmada 72 kolorektal karsinomda immünohistokimyasal yolla E-cadherin ekspresyonunu değerlendirmişler ve derece ile evresi yüksek olan daha agresif tümörlerde E-cadherin ekspresyonunda belirgin azalma izlemişlerdir (4). Schuhmacher ve arkadaşları 1998'de yaptıkları çalışmada 29 kolorektal karsinom materyalinde E-cadherin ekspresyonunu değerlendirmişler ve invazyon ve metastazla ilişkili bulmuşlardır (6). Bazı çalışmalarda ise E-cadherin ekspresyonu ile evre ve diferansiyasyon arasında bir ilişki bulunamamıştır (9,10).

Bizim çalışmamızda, histolojik alt tiplere ve diferansiyasyonlarına göre E-cadherin boyanma yoğunluğuna bakıldığında, az diferansiye adenokarsinom ve müsinöz karsinomlarda, iyi diferansiye adenokarsinom ve orta derecede diferansiye adenokarsinoma oranla E-cadherin boyanma şiddetinde azalma izlendi. Tümörlerin evresi ve metastaz yapma özelliği yönünden bakıldığında ise bir ilişki bulunmadı.

Ki-67 tümör içersindeki proliferatif hücreleri gösterme özelliğine sahip monoklonal antikordur. Çeşitli tümörlerde

çalışılmış ve prognozla ilişkisi araştırılmıştır. Santral sinir sistemi tümörlerinde ise rutin olarak kullanılmaktadır. Ki-67 pozitifliğinin prognostik faktörlerle ilişkisi kolorektal karsinomlarda da incelenmiştir. Kyzer ve arkadaşları 30 kolorektal karsinom rezeksiyon materyalinde Ki-67 indeksinin evre, lokalizasyon, tümör çapı, cinsiyet, yaş ve tümör diferansiyasyonu gibi çeşitli parametrelerle ilişkisini değerlendirmişler, Ki-67 indeksi ile metastazı bulunan hastalar arasında korelasyon bulmuşlar, ancak diğer parametreler arasında bir ilişki saptamamışlardır (11).

Bizim çalışmamızda az diferansiye adenokarsinomların Ki-67 indeksi, iyi diferansiye adenokarsinom ve orta derecede diferansiye adenokarsinoma göre yüksek bulundu. Tümörlerin histolojik alt tipi, evresi ve metastaz yapma özelliği yönünden bakıldığında ise gruplar arasında Ki-67 indeksi ile anlamlı bir ilişki bulunmadı.

Bu çalışmada kolorektal karsinomlarda evre, diferansiyasyon ve histolojik alt tip gibi prognostik parametreler ile E-cadherin ve Ki-67 indeksi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı. Bu iki belirleyici birbirinden bağımsız olarak tümörün diferansiyasyonu ile ilişkili bulundu ve doylaylı olarak Ki-67 ve E-cadherin'in kolorektal karsinomların prognozunu belirlemede iyi tanımlanmış histopatolojik parametreler ile birlikte ek olarak kullanılabilecek kriterler olduğu sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. Cancer Statistics. CA Cancer J Clin 2002; 52: 23-47.
2. Fenoglio-Preiser C, Noffsinger AE, Stemmermann GN, et al. Carcinoma and other epithelial and neuroendocrine tumors of the large intestine. In: Gastrointestinal Pathology An Atlas And Text. Philadelphia, Lippincott-Raven; 1999; pp 909-1068.
3. Leon M, Sant M, Micheli A, et al. Clinical and pathologic prognostic indicators in colorectal cancer. Cancer 1992; 69: 626-35.
4. Dorudi S, Sheffield JP, Poulson R, Northover JM, Hart IR. E-cadherin expression in colorectal cancer. An immunocytochemical and in situ hybridization study. Am J Pathol 1993; 142: 981-6.
5. Linden MD, Ma CK, Kubus J, Brown RD, Zarbo RJ. Ki-67 and proliferating cell nuclear antigen tumor proliferative indices in DNA diploid colorectal adenocarcinomas. Correlation with histopathologic characteristics and cell cycle analysis with two-color DNA flow cytometry. Am J Clin Pathol 1993; 100: 206-12.
6. Schuhmacher C, Becker I, Oswald S, et al. Loss of immunohistochemical E-cadherin expression in colon cancer is not due to structural gene alterations. Virchows Arch 1999; 434: 489-95.
7. Coman DR. Decreased mutual adhesiveness, a property of cells from squamous cell carcinomas. Cancer Res 1944; 1: 625-9.
8. Fearon ER, Cho KR, Nigro JM, et al. Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. Science 1990; 247: 49-56.
9. Nigam AK, Savage FJ, Boulos PB, et al. Loss of cell-cell and cell-matrix adhesion molecules in colorectal cancer. Br J Cancer 1993; 68: 507-14.
10. Gofuku J, Shiozaki H, Tsujinaka T, et al. Expression of E-cadherin and alpha-catenin in patients with colorectal carcinoma. Correlation with cancer invasion and metastasis. Am J Clin Pathol 1999; 111: 29-37.
11. Kyzer S, Gordon PH. Determination of proliferative activity in colorectal carcinoma using monoclonal antibody Ki-67. Dis Colon Rectum 1997; 40: 322-5.