

MESANE DEĞİŞİCİ EPİTEL HÜCRELİ KARSİNOMLARINDA p53, EPİDERMAL GROWTH FAKTÖR RESEPTÖR (EGFR) ve c-erbB-2 DEĞERLİLİKLERİNİN İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Faruk GÜLEÇ*, Dr. Gülay ÖZBİLİM**, Dr. Gülten KARPUZOĞLU**

ÖZET: Bu çalışma, mesane değişici epitel hücreli karsinomlarında (DEHK) p53, EGFR ve c-erbB-2 immünreaktiveleri ile prognozun belirlenmesinde rolü olan diğer parametrelerin değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına gönderilen 20 grade I, 20 grade II ve 20 grade III, toplam 60 olgu çalışmaya alınmıştır. Sonuç olarak DEHK'larda, p53 ve EGFR ekspresyonunun yüksek grade ile ilişkili olduğu, c-erbB-2 ile histolojik grade arasındaki ilişkinin ise hasta prognozunu belirlemede sınırlı değer taşıdığı saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: Mesane Karsinomları, p53, EGFR, c-erbB-2

SUMMARY: THE EVALUATION OF IMMUNOREACTIVITIES OF p53, EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGFR) AND c-erbB-2 IN TRANSITIONAL CELL CARCINOMA OF THE URINARY BLADDER: This study has been performed to evaluate the immunohistochemical detection of p53, EGFR, c-erbB-2 in transitional cell carcinoma of the urinary bladder and their prognostic value. In this study 60 cases have been analyzed (20 grade I, 20 grade II, 20 grade III). As a result, we detected that p53 and EGFR correlated with high grade, but, c-erbB-2 expression had a limited prognostic value.

KEY WORDS: Bladder carcinoma, p53, EGFR, c-erbB-2

GİRİŞ

Mesane karsinomlarının %95'i ürothelium kaynaklı olup bunlarında yaklaşık %90'ı değişici epitel hücreli karsinom tipindedir (DEHK) (1,2). Erkeklerde kadınlara oranla 3-4 misli fazla görülmektedir. Sıklıkla 50-79 yaşları arasında saptanırlar (3). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ileri teknikler kullanılarak, malignite gelişiminin birden çok kromozomal lezyonların birikimi ile ilişkili olduğu yolunda sonuçlar elde edilmiştir. Bu değişikliklerin başında da çeşitli onkogenlerin aktivasyonu ve değişik tümör süpresör genlerin inaktivasyonu gelmektedir (4,5,6). Mesane DEHK'larda tümör grade ve stage'i büyüme paterni, lenfatik invazyon ve lenf nodu metastazı prognozun belirlenmesinde kullanılan en önemli parametrelerdir. Son yapılan çalışmalarda prognoza katkısı olabilecek yeni immunohistokimyasal belirleyiciler bulunmuştur. Bunlar arasında en sık kullanılanları p53, EGFR ve c-erbB-2 dir (7,8,9). Bu çalışmada mesane DEHK'lı olgularda p53, EGFR ve c-erbB-2 değişikliklerinin araştırılıp, karşılaştırmalı değerlendirilmesiyle prognozun belirlenmesi, tümörün invazivliği ve metastaz potansiyelinin tahminiyle hastanın takip ve tedavisine katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden çıkarılan 20 grade I, 20 grade II, 20 grade III mesane DEHK tanısı almış toplam 60 olgu alındı. Seçilen olguların arşiv kayıtlarından yaşları, cinsiyetleri, makroskopik özellikleri ve lokalizasyonları ile ilgili bilgiler elde edildi. Tümörün büyüme paterni (yüzeyel invaziv), grade'i Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre (Grade I,II,III olarak) ve stage'i (Jewett Marshall ve AJCC'ye göre) yeniden değerlendirildi. İmmunohistokimyasal olarak "Streptavidin-Biotin Kompleks" yöntemi ile p53 (NO-7), EGFR (113), c-erbB-2

(Cb11) antikorları uygulandı. Ayrıca her üç antikor için boyanan alan yüzdesi negatif (%0), %10 dan daha az (+), %10-50 arası (++) , %50 den fazlası (+++), boyanma şiddeti ise hafif (+) orta (++) ve şiddetli (+++) olarak skorlandı. Elde edilen sonuçları değerlendirirken grup içi ve gruplar arası karşılaştırmalarda, ki-kare testi ve korelasyon testleri (spiramine) kullanıldı.

BULGULAR

Bu çalışmada mesane DEHK'lı 60 olgunun demografik özellikleri, histopatolojik bulguları, grade I,II ve III gruplarında p53, EGFR ve c-erbB-2 ile immunohistokimyasal boyanma sonuçları tablo I,II,III de sunulmuştur.

Çalışmaya alınan olgularda kadın/erkek oranı 1/4.4 olarak bulundu. Kadınlarda yaş ortalaması 62.8, erkeklerde ise 60.2 idi.

İmmunohistokimyasal bulgular :

p53: 60 olgunun 29'unda (%48.3) (grade I: %10, grade II %40, Grade III %95) nükleer boyanma görüldü (Resim1). Grade III tümörlerdeki pozitiflik grade I ve II ye oranla anlamlı fark gösteriyordu (p<0.001). P2-3-4 grubunda, (%73) Pa ve P1 grubuna (%29) göre de istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p < 0.001).

EGFR, 60 olgunun 19'unda (%31.6) membran ve/veya sitoplazma boyanması gösterdi (Resim 2). (grade I: %10, grade II: %35, grade III: %50). Grade III tümörlerde EGFR pozitifliği, grade I ve grade II'ye göre anlamlı farklılık gösterdi (p < 0.05). P2-3-4 grubunda (%38), Pa ve P1 grubuna (%26) göre daha fazla oranda saptanan pozitiflik istatistiksel olarak anlamlı değildi (p > 0.05).

C-erb B2 ile ise; 60 olgunun 30'unda (%50) membran ve/veya sitoplazmik boyanma görüldü (Resim 3). (grade I: %45, grade II: %50, grade III: %55). Grade III ile grade I ve II arasında boyanma istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0.05). P 2-3-4 grubunda Pa-P1 tümörler ile c-erbB-2 pozitifliği yönünden anlamlı fark saptanmadı. Ayrıca p53 ve EGFR pozitifliğinin uyumlu olduğu izlenirken p53, c-erbB-2

* Antalya Devlet Hastanesi Patoloji Bölümü, ANTALYA

** Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, ANTALYA

TABLO 1. GRADE I OLGULARIN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ, HİSTOKİMYASAL BULGULARI VE İMMUNOHİSTOKİMYA BOYANMA SONUÇLARI

Evre								İmmünohistokimya		
No	Cins	Yaş	Lokalizasyon	Büyüme Paterni	Tipi	Jewett	AJCC	P53	EGFR	c-erbB-2
1	K	49	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
2	K	64	Arka duvar	Papiller	Yüzeyel	0	Pa	-	-	-
3	E	64	Arka duvar	Düz(Flat)	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
4	E	49	Sol orifis çevresi	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
5	E	53	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
6	E	41	Arka duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	++	-
7	E	45	Sağ orifis çevresi	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
8	E	84	Sağ orifis çevresi	Papiller	İnvaziv	B1	P2	-	-	+++
9	E	66	Collum	Papiller	İnvaziv	B2	P3a	-	-	-
10	K	80	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
11	E	65	Sağ orifis çevresi	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	+++
12	K	63	Arka duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
13	E	30	Sol orifis çevresi	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
14	E	26	Collum	Papiller	Yüzeyel	0	Pa	-	-	-
15	E	64	Arka duvar	Papiller	Yüzeyel	0	Pa	-	-	+++
16	E	55	Arka duvar	Papiller	Yüzeyel	0	Pa	-	-	-
17	E	70	Sol yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
18	E	76	Collum	Papiller	Yüzeyel	0	Pa	+++	+	++
19	E	82	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
20	E	67	Sol yan duvar	Papiller	Yüzeyel	0	Pa	-	-	+

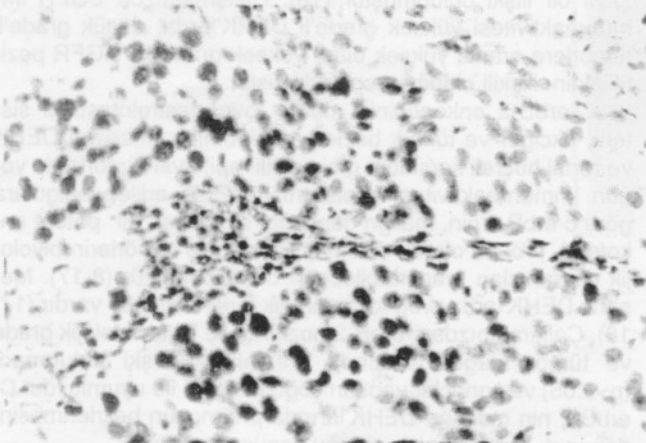
ve EGFR, c-erbB-2 arasında uyumluluk izlenmedi (p53, EGFR: $r=0,4985$, p53, c-erbB-2: $r=0,2068$, EGFR- c-erbB-2: $r=0,1679$).

TARTIŞMA

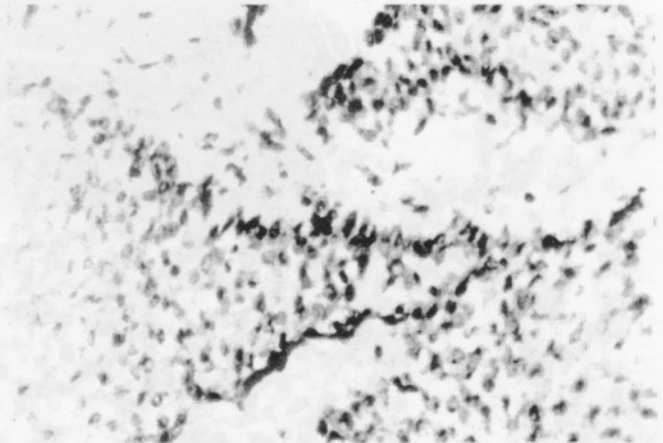
Mesane DEHK'larının %80'i, 50-79 yaşları arasında görülür ve kadın / erkek oranı 1/3-4 tür. Bizim çalışmamızda yaş ortalaması 60.7 olup, kadın/ erkek oranı da literatür ile uyumlu olarak 1/4.4 bulunmuştur. Ayrıca bu tümörlerin %60

oranında mesane yan ve arka duvarda yerleştiği bildirilmektedir (1,10). Çalışmamızda olguların %65'i mesane yan ve arka duvar yerleşimliydi. Yine literatür bilgileri ile uyumlu olarak olgularımızın %56.6 sı yüzeyel, %43.3'ü invazivdi.

Mesane DEHK'larında prognozun belirlenmesinde önemli parametreler tümörün stage'i ve grade'idir (1,10). Olgularımızda grade yükseldikçe stage'in de arttığını ve bu korelasyonun istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptadık ($p < 0,05$). Prognozda diğer bir parametre olan tümör papilleritesine bakıldığında (%75'inde papiller, %25'i düz) yüzeyel



Resim 1: Mesane DEHK grade I'de hücre nükleuslarında p53 pozitifliği (p53 x40)



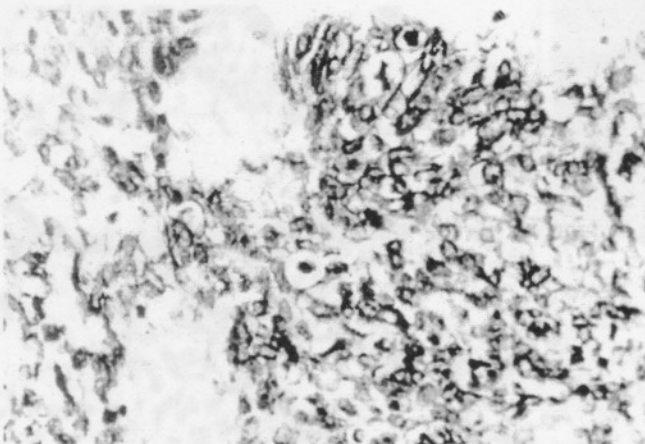
Resim 2: Mesane DEHK grade I'de hücre sitoplazmalarında EGFR pozitifliği (EGFR x40)

TABLO 2. GRADE II OLGULARININ DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ, HİSTOKİMYASAL BULGULARI VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYANMA SONUÇLARI

Evre						İmmünohistokimya				
No	Cins	Yaş	Lokalizasyon	Büyüme Paterni	Tipi	Jewett	AJCC	P53	EGFR	c-erbB-2
1	E	65	Arka duvar	Papiller	İnvaziv	B1	P2	+	-	++
2	K	55	Trigon	Papiller	Yüzeyel	A	P1	++	-	++
3	E	64	Kubbe	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
4	K	69	Sol yan duvar	Papiller	İnvaziv	B1	P2	+++	+	+++
5	K	52	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
6	E	47	Orifis çevresi	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
7	E	63	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
8	E	70	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	++	-
9	E	85	Arka duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	++	++
10	E	61	Trigon	Papiller	Yüzeyel	A	P1	+++	++	++
11	E	57	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-
12	E	66	Sol yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	++	++	++
13	K	65	Sol orifis çevresi	Papiller	Yüzeyel	A	P1	++	++	-
14	E	68	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	++
15	E	47	Trigon	Düz(Flat)	İnvaziv	B1	P2	-	-	-
16	E	38	Arka duvar	Papiller	İnvaziv	B1	P2	-	-	-
17	K	55	Arka duvar	Papiller	İnvaziv	B1	P2	-	-	++
18	E	35	Sol yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	+++	++	-
19	E	63	Arka duvar	Papiller	İnvaziv	B1	P2	+	-	-
20	E	63	Sağ yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	-	-	-

düşük grade tümörlerin (Grade I-II) invaziv yüksek grade (Grade III) tümörlere oranla, daha fazla papiller paterne sahip olduğunu gözledik.

İmmünohistokimyasal metodlar kullanılarak, mesane DEHK'larda p53 ekspresyonu yönünde pek çok çalışmalar yapılmış ve bazı araştırmacılar rekürrens, tümör invazivliği ve hasta prognozunun belirlenmesinde bu yöntemin değerli olduğunu belirtmişlerdir (4,5,7,11,12). Yapılan çalışmalarda %20-60 arasında p53 ekspresyonu bildirilmiş ve tümör prognozu ve p53 arasında anlamlı bir ilişki gösterilmiştir (13). Bi-



Resim 3: Mesane DEHK Grade II' de sitoplazmada c-erbB-2 pozitifliği (c-erbB-2 x40)

zim çalışmamızda da yüksek grade'li tümörlerde düşük grade'li tümörlere oranla ve invaziv tümörlerde, yüzeyel tümörlere göre daha yüksek oranda pozitiflik saptanmış ve prognoz belirlenmesinde p53 ekspresyonunun klinik kullanıma girebileceği görüşü desteklenmiştir.

Hücrelerde EGFR miktarındaki anormal artış, EGFR'e cevabın artmasına ve büyümenin stimülasyonuna neden olmaktadır (14). Yapılan çalışmalarda EGFR pozitif tümörlerin, hızlı proliferasyonu olduğu saptanmıştır (15). Ayrıca kötü diferansiyasyon ve invaziv stage ile EGFR arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Yapılan diğer bir çalışmada ise EGFR pozitifliği ile ileri tümör stage'i arasında anlamlı, histolojik grade ile zayıf bir ilişki bulunmuştur (16). Çalışmamızda EGFR immunreaktivitesi yüksek grade'li DEHK'larda, düşük grade'li tümörlere oranla yüksek olup, yüksek grade ile EGFR pozitifliğinin ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

C-erbB-2 onkogeninin meme, over, gastrointestinal sistem, akciğer ve tükrük bezleri kansinmaları, mesane DEHK ve renal hücreli kansinom gibi çeşitli epitelyal tümörlerde yoğun immunreaktivitesi saptanmıştır. Elde edilen bulgulara göre c-erbB-2'nin, malign dönüşüm sürecinde bir potansiyel onkofetal protein olarak etkileyebileceği ve tümörlerin biyolojik davranışları yansıtabileceği düşünülmüştür (8-17). Mesane DEHK'larda prognoza yönelik farklı sonuçlar vardır (17-18). Çalışmamızda c-erbB-2 pozitifliği ile histopatolojik grade ve tümör stage'i arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0.05$) ve sonuçlar yapılan çoğu çalışma ile uyumluydu. C-erbB-2 nin mesane DEHK'larında prognoz belirlenmesinde sınırlı değere sahip olduğu sonucuna varıldı.

P53, EGFR ve c-erbB-2 ile hasta yaşı, cinsiyeti ve tümör papilleritesi arasında bir ilişki bulunamadı. Ancak p53 ile tü-

TABLO 3: GRADE III OLGULARININ DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ, HİSTOKİMYASAL BULGULARI VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYANMA SONUÇLARI

Evre						İmmünohistokimya				
No	Cins	Yaş	Lokalizasyon	Büyüme Paterni	Tipi	Jewett	AJCC	P53	EGFR	c-erbB-2
1	E	69	Sağ yan duvar	Düz	İnvaziv	C	P3b	+	+	++
2	E	46	Arka duvar	Düz	İnvaziv	B2	P3a	+	-	-
3	E	49	Sol orifis çevresi	Düz	İnvaziv	D1	P4N(-)	+	+	-
4	K	68	Sağ yan duvar	Papiller	İnvaziv	B2	P3a	++	+	++
5	E	57	Arka duvar	Düz	İnvaziv	C	P3b	-	-	-
6	E	68	Trigon	Papiller	İnvaziv	B1	P2	+++	-	-
7	K	71	Sağ orifis çevresi	Düz	İnvaziv	B2	P3a	++	-	-
8	E	45	Sol yan duvar	Papiller	Yüzeyel	A	P1	++	-	+++
9	E	43	Sol yan duvar	Düz	İnvaziv	D1	P4N(-)	++	++	++
10	E	56	Arka duvar	Düz	İnvaziv	C	P3b	+	-	-
11	E	68	Arka duvar	Düz	İnvaziv	B1	P2	++	-	-
12	E	72	Trigon	Papiller	İnvaziv	B1	P2	++	-	-
13	E	74	Trigon	Papiller	İnvaziv	B1	P2	+	-	+
14	E	60	Sol yan duvar	Papiller	İnvaziv	B1	P2	+	++	++
15	E	87	Arka duvar	Düz	İnvaziv	B1	P2	+	-	+++
16	E	63	Sağ yan duvar	Papiller	İnvaziv	B2	P3a	+++	+	++
17	E	77	Collum	Düz	İnvaziv	B2	P3a	++	+	-
18	E	75	Kubbe	Papiller	İnvaziv	A	P1	++	++	+
19	E	55	Sol yan duvar	Düz	İnvaziv	B1	P2	+	+	++
20	E	74	Sol yan duvar	Düz	İnvaziv	D1	P4N(+)	+++	+	++

mör papilleritesi arasındaki ilişkide "P" değerinin 0.05'e yakın olması dikkati çekmiştir ($p = 0.052$). Prognozun belirlenmesinde rolü olan damar invazyonu, perinöral invazyon ve lenf nodu metastazı olgu sayısı az olması nedeniyle, immunreaktivitelerle istatistiksel bir karşılaştırma yapılamadı.

Sonuç olarak; mesane DEHK'larında p53 ve EGFR ekspresyonunun yüksek grade ile ilişkili olduğu, c-erbB-2 nin ise sınırlı bir değer taşıdığı görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Rosai J: Ackerman's Surgical Pathology. Eighth edition. Mosby-Year Book Inc. St. Louis; 1996.
- Kern WH: The grade and pathologic stage of bladder cancer. Cancer 1984; 53: 1185-1189.
- Fair WR, Fuks ZY, Scher HI: Cancer of the bladder In: Cancer Principles and Practice of Oncology. Third edition, J.B. Lippincott Company Philadelphia; 1993.
- Uchida T, Woda C, Ishido H: p53 mutations and prognosis in bladder tumors. J Urol 1995; 153: 1097-1104.
- Wilham W, Vincet W, Tsakoyannis D: p53 and bladder cancer. N Engl J Med 1995; 332: 957-958.
- Roghavan D, Shipley WU, Garnick MB: Biology and management of bladder cancer. N Engl J Med 1990; 322: 1129-1138.
- Sarkis AS, Dalbagni G, Corden-Cordo C: p53 protein in transitional cell bladder carcinoma: A marker for disease progression. JNCI 1993; 85: 53-55.
- Sato K, Mariyoma M, Mori S: An immunohistologic evaluation of c-erbB-2 gene product in patients with urinary bladder carcinoma. Cancer 1992; 70(10): 2493-2498.
- Neal DE, Sharples L, Smith K: The epidermal growth factor receptor and the prognosis of bladder cancer. Cancer 1990; 65(7): 1619-1625.
- Johanson JL, Cohen SM: Lower urinary tract in: Anderson's Pathology. Tenth edition, Mosby Year Book, Inc St. Louis; 1996.
- Sarkis A, Dalbagni G, Corden-Cordo C: Association of p53 nuclear overexpression and tumor progression in carcinoma in situ of the bladder. J Urol 1994; 152: 388-392.
- Yoshimura I, Kudah J, Saito S: p53 gene mutation in recurrent superficial bladder cancer. J Urol 1995; 153: 1711-1715.
- Joini Y, Hujanen TT, Kamel D: p53 immunohistochemistry in transitional cell carcinoma and dysplasia of urinary bladder correlates with disease progression. Br J Cancer 1993; 68: 1029-1035.
- Berger MS, Greenfield C, Gullick WJ: Evaluation of epidermal growth factor receptors in bladder tumors. Br J Cancer 1987; 56: 533-537.
- Sauter G, Haley J, Chew K: Epidermal growth factor receptor expression is associated with rapid tumor proliferation in bladder cancer. Int J Cancer 1994; 57: 508-514.
- Nyugen PL, Suranson PE, Jaszcs W: Expression of epidermal growth factor receptor in invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder. Am J Clin Pathol 1994; 101 (2): 166-176.
- Mellon JK, Lunec J, Wright C: c-erbB-2 in bladder cancer: Molecular biology, correlation with epidermal growth factor receptor and prognostic value. J Urol 1996; 155: 321-326.
- Moch H, Sauter G, Moore D: P53 and c-erbB-2 protein overexpression are associated with early invasion and metastasis in bladder cancer. Virchows Archiv Pathol Anat 1993; 423: 329-334.