

ENDOMETRİUMUN PROLİFERATİF LEZYONLARINDA BEZ EPİTELLERİNİN DNA DEĞERLERİNİN MİKROSPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLE ÖLÇÜLMESİ

Prof. Dr. Tülay CANDA (*) • Uz. Dr. M. Mustafa AKIN (*)

ÖZET: 30 endometrial hiperplazi (hafif, orta, atipik), 10 endometrial adenokarsinom, 10 proliferatif dönem endometriumu (kontrol grubu olarak olgusunda, Galloçyanin-chrome alum ile boyalı bez epitel nükleuslarının mikrospektrofotometrik ölçümleri yapıldı. Diploid (2C) değeri belirleyebilmek için 20 lenfosit DNA değerinin ortalaması alındı. Endometrial adenokarsinom ve atipik endometrial hiperplazi olgularında anormal DNA dağılımı gözlemlendi. Bu çalışmada, ilgili kaynakların ışığında bulgularımızı tartıştık.

SUMMARY: Microspectrophotometrically measurement of the gland cells DNA values in proliferative lesions of the endometrium. Microspectrophotometric measurements of Galloçyanin-chrome alum stained gland cells nuclei were carried out in 30 cases of endometrial hyperplasias (mild, moderate, atypical), 10 adenocarcinomas of endometrium and 10 proliferative phase endometrium (being control group). Average of 20 lymphocytes DNA values were calculated to determine diploid value. An abnormal DNA distribution was observed in atypical endometrial hyperplasia and endometrial adenocarcinoma cases. We discussed the results of this study in the light of literature information.

GİRİŞ

Tümör hücrelerindeki DNA içeriğinin normal hücrelerinkinden farklı olması çok doğaldır. Özellikle malign tümörlerde olduğu gibi büyüme hızı artmış olan hücrelerde protein ve DNA sentezi artmakta bunun sonucu olarak da hiperkromatize nükleuslar izlenmektedir (3,4,7,15).

Malignitenin belirlenmesinde objektif veri olarak kromozomların esas yapısını oluşturan deoksiribonükleik asidin ölçülmesine gidilmiş ve 1936'da Casperson ilk kez mikrospektrofotometriyi tek hücrenin histosimik yapısını incelemek için kullanılmıştır (4,7).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, proliferatif endometrium, kistik glandüler hiperplazi ve hipertroidizmde, proliferatif ya da hiperplazik epitelde tetraploidi gözlemlenebileceğini, lösemi, lenfoma, myeloma ve bazı solid tümörlerde diploidi ya da peridiploidi bulunabileceği bildirilmiştir (2,8,10). Ayrıca DNA oranının prognozu belirlemede önemli bir ölçüt olduğu, parafin bloklara uygulanabilmesi nedeniyle rutinde kullanılabileceği benzeri çalışmalarda vurgulanmıştır (6,8,9,11,14). Çalışmamızda bu düşünceleri benimsemiş endometriumun proliferatif lezyonlarında bez epitelindeki DNA düzeyi ve değişiklikleri mikrospektrofotometrik yöntemle ölçülerek belirlenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, DEÜTF Patoloji Anabilim Dalı'nda tanı almış, 30 endometrial hiperplazi (hafif, orta, atipik), 10 endometrial karsinom ve kontrol olarak seçilen 10 proliferatif dönem endometrium olmak üzere 3 grupta 50 olguda çalışıldı.

Parafin kesitler, 37 C'lık etüvde % 10'luk perchloric asit içinde 15 dakika tutularak

Tablo 1: Proliferasyon döneminde endometriumun nükleer DNA değerleri.

Hipodiploidi	78 (% 31,2)
Diploidi	3 (% 1,2)
Hiperdiploidi	138 (% 55,2)
Triploidi	12 (% 4,8)
Hipertriploidi	19 (% 7,6)

Tablo 2: Hafif derecede endometrial hiperplazide nükleer DNA değerleri.

Hipodiploidi	39 (% 15,6)
Diploidi	13 (% 5,2)
Hiperdiploidi	145 (% 58)
Triploidi	10 (% 4)
Hipertriploidi	43 (% 17,2)

Tablo 3: Orta derecede endometrial hiperplazide nükleer DNA değerleri.

Hipodiploidi	19 (% 7,6)
Diploidi	7 (% 2,8)
Hiperdiploidi	152 (% 60,8)
Triploidi	13 (% 5,2)
Hipertriploidi	58 (% 23,6)

Tablo 4: Atipik endometrial hiperplazide nükleer DNA değerleri.

Hipodiploidi	3 (% 1,2)
Hiperdiploidi	58 (% 23,2)
Triploidi	4 (% 1,6)
Hipertriploidi	164 (% 65,6)
Tetraploidi	2 (% 0,8)
Hipertetraploidi	19 (% 7,6)

Tablo 5: Endometrial adenokarsinomda nükleer DNA değerleri.

Hipertriploidi	4 (% 1,6)
Hipertriploidi	149 (% 59,6)
Tetraploidi	7 (% 2,8)
Hipertetraploidi	71 (% 28,4)
Hipertetraploidi	7 (% 2,8)

RNA'sı ayrıldı. Daha sonra oda sıcaklığında 48 saat PH'ı 1,6 ya ayarlanmış Gallocyanin-chrom alum boya solüsyonunda tutularak DNA'sı boyandı. Her olgudan 25 olmak üzere toplam 1250 bez epitelindeki DNA değerleri ile diploid kromozom değerini belirlemek için 25 lenfositteki DNA değerleri mikrospektrofotometrede 550 dalga boyunda extinction (söndürme) değeri olarak Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde Zetopan Binolux'e monte edilmiş Reichert microphotometer'de ölçüldü. Ölçüm sonuçları, gruplar arasındaki karşılaştırmalar, Ege Üniversitesi Elektronik Hesap Bilimleri Merkezinde yapıldı.

BULGULAR

Histopatolojik olarak tanı almış, 10 proliferasyon döneminde endometrium, 30 endometrial hiperplazi (hafif, orta, atipik), 10 endometrial karsinom olgusunda Gallocyanin kuvvetli boyanan 1250 bez epitelinde ve ayrıca Gallocyanin kuvvetli boyanan 25 lenfositte mikrospektrofotometrik ölçüm yapıldı. Lenfositlerde ölçülen nükleer DNA değerlerinin ortalaması diploid DNA (2C=46) değeri olarak belirlendi. Herbir grubun DNA dağılımı tablo: 1-5'de tüm olguların histogramları tablo: 6'da verildi.

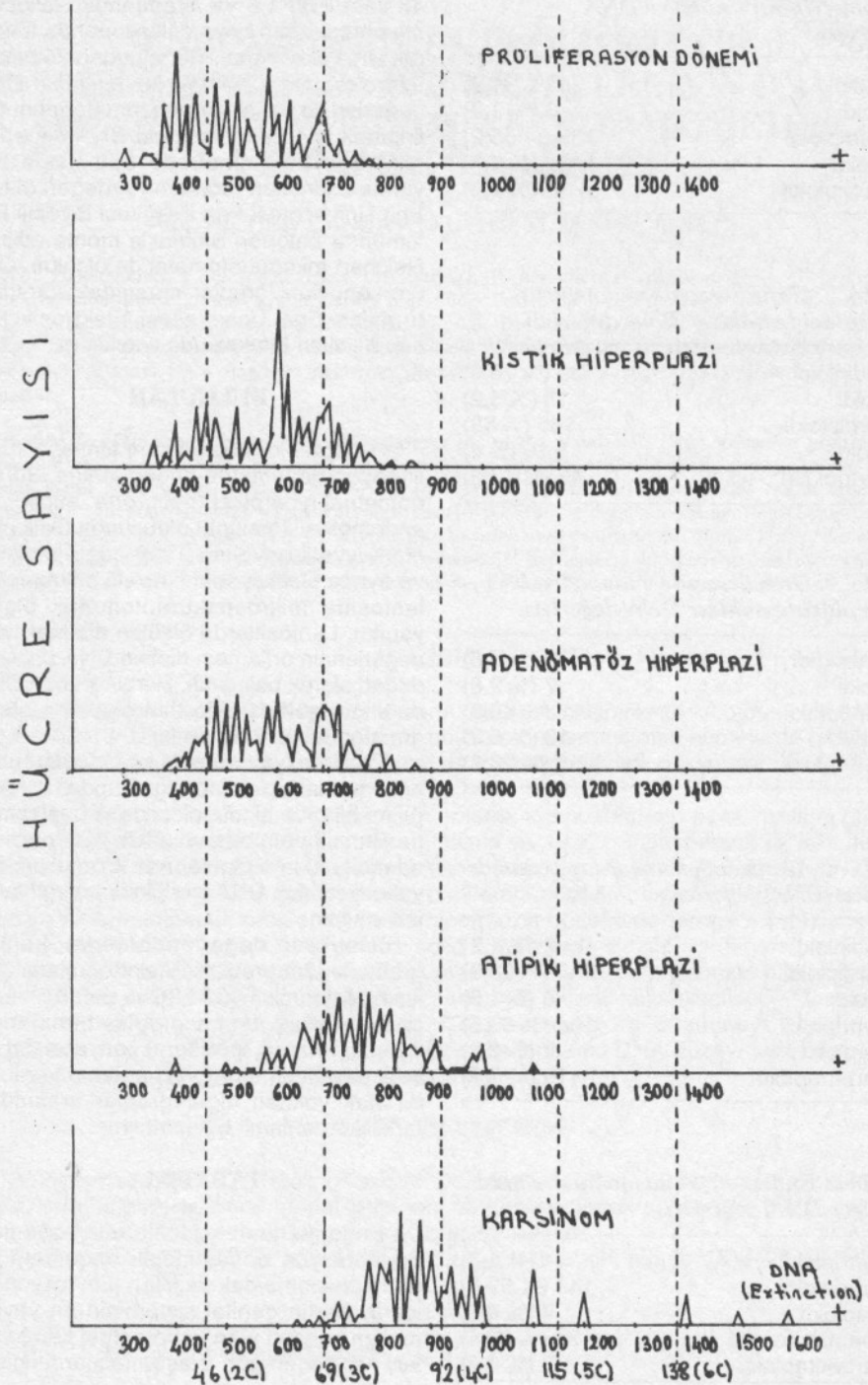
Proliferasyon dönemi ve hafif derecede endometrial hiperplazi olgularında DNA dağılımı hipo ve hiperdiploidide yoğunlaşmıştır. Buna karşın orta ve atipik hiperplazide, adenokarsinom olgularında kromozom sayısını yansıtan DNA içeriğinde belirgin artış izlenmiştir.

İstatiksel değerlendirmede, kontrol grubu ile tüm gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmiş $F=334,36$ ve $p=0,01$ olarak bulunmuştur. Ayrıca gruplar birbirleriyle karşılaştırılmış, proliferasyon dönemi ve hafif derecede hiperplazi arasında anlamlı bir fark yokken diğer gruplar arasındaki farklılıklar anlamlı bulunmuştur.

TARTIŞMA

Endometriumun proliferatif lezyonları, proliferasyon dönemindeki endometriumdan karsinoma dek değişen tüm lezyonları içerir. Kadın genital sisteminin en yaygın malign kanseri olan endometrial karsinomlar, her geçen gün araştırmacıların ilgisini

Tablo 6: Olguların toplu olarak DNA değerlerinin histogramı.



daha çok çekmektedir.

Atipik hiperplazi ile iyi diferansiye karsinomu birbirinden ayırabilmek için bir çok morfolojik kriterler bulunmasına karşın, bu ayırımı yapmak oldukça güçtür. Baak, atipik hiperplazilerin % 10-20'sinin sansere dönüştüğünü ve bu ayırımın önemli olduğunu vurgulamıştır (1).

Skaarland, Norris, Ferenczy, Tsou gibi araştırmacılar, endometriumun proliferatif lezyonlarını birbirinden ayırabilmek için sitofotometrik, morfometrik ve enzimatik çalışmalar yapmışlar ancak proliferatif lezyonların, özellikle atipik hiperplazi ve iyi diferansiye karsinomun ayırıl edilebilmelerinde tam ve kesin bir sınır belirleyememişlerdir (2,5,11,12,13).

Barlogie ve ark. larının çalışmalarında, kanser tanısı için DNA indeksinin, solid tümörlerin ve myelomanın % 80 inde, lenfomaların % 50 sinde ve lösemilerin % 20 sinde anormal değerlerde bulunduğu bildirilmiştir. DNA ölçümleri yalnız malignitenin belirlenmesinde değil prognozun belirlenmesinde de kullanılmış ve yüksek DNA değerlerinin ALL dışında kötü prognozu belirlediği vurgulanmıştır (2).

Wagner ve ark. ları, 16 olguluk çalışmalarında, kistik hiperplazi ve adenomatöz hiperplazide diploidi ve tetraploidi izlerken, iki adenomatöz hiperplazi ve altı karsinomda aneuploidi berillemişlerdir. Ayrıca, altı olguun tümünün invaziv karsinom özelliğinde olduğunu bildirmişlerdir (15). Karsinom olgularımızın tümünde poliploidi saptanmış hipertriploidi ve bunun üzerindeki DNA içeriği % 93,6 bulunmuştur. Bu oran atipik hiperplazide % 74 orta derecede hiperplazide % 23,6, hafif hiperplazide % 17,2, proliferasyon döneminde ise % 7,6 dır.

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda, nükleer DNA içeriğinin, östrojen reseptörü, progesteron reseptörü, myometrial invazyon derecesi, cerrahi evre, histolojik derece gibi morfolojik ölçütlerin tümü yada birkaçı ile birlikte prognozun belirlenmesinde çok anlamlı olduğu vurgulanmıştır (1,2,6,9).

Iversen'in 52 olguluk araştırmasında, 14 olguda aneuploidi ve 38 olguda diploidi saptanmıştır. Aneuploidilerin 7 (% 78) si, diploidilerin 2 (% 22) si derece III iken, 3 (% 10) aneuploidi olgusu ve 27 (% 90) diploidi olgusu derece I e girmiştir. Ölüm oranını aneuploidide % 50, diploidide % 11 olarak gözlemiştir (8).

Sonuç olarak, endometriumun proliferatif lezyonlarında poliploidi oranının çok yüksek belirlenmesi atipik hiperplazi ve endometrial adenokarsinom lehine yorumlanabilir. Ancak kesin ayırım histopatolojik bulgularla birlikte yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Baak JPA, Nauta JJP et al. Architectural and nuclear morphometrical features together are more important prognosticators in endometrial hyperplasias than nuclear morphometrical features alone. *Journal of Pathology*, 154: 335-341 (1988).
2. Barlogie B, Raber MN et al.: Flow cytometry in clinical cancer research. *Cancer Research*, 43, 3982-97 (1983).
3. Canda MŞ, Canda T: Temel Patoloji I, 2. baskı, Sivas, Dilek Basımevi s. 201(1988).
4. Canda T: Mikrospektrofotometrik yöntem ile meme kanserleri, benign meme tümörleri ve meme displazilerindeki nükleer DNA değerlerinin karşılaştırılması. III. Ulusal Patoloji Kongre Kitabı. 19-21 eylül 1977, İzmir, Bilgehan matbaası, s. 411-419, (1978).
5. Ferenczy A: Cytodynamics of endometrial hyperplasias and neoplastic, Part II. *Human Pathology* 14 (1): 77-82 (1983).
6. Geisinger KR, Homesley HD et al. :Endometrial adenocarcinoma, A multiparameter clinicopathologic analysis including the DNA profile and the sex steroid hormone receptors. *Cancer* 58: 1518-25 (1986).
7. Günel Ö: Akciğer tümörlerinde feulgen boyası ile saptanan mikrospektrofotometrik nükleer DNA değerlerinin rutin histolojik ve sitolojik sonuçlar ile karşılaştırılması. III. Ulusal Patoloji Kongre Kitabı, 19-21 eylül 1977, izmir, Bilgehan matb. s. 119-131, (1978).
8. Iversen OE: Flow cytometric deoxyribonucleic acid index. A prognostic factor in endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gyn*, 155: 770-76 (1986).
9. Iversen OE, Utaker E et al.: DNA ploidy and steroid receptors as predictors of disease course in

- patients with endometrial carcinoma. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 67: 531-37 (1988).
10. Izuo M, Okasaki T et al.: Nuclear DNA content in apocrine metaplasia of fibrocystic disease of the breast. *Cancer*, 27: 643, 1971.
 11. Norris HJ, Becker RL et al.: A comparative morphometric and cytophotometric study of endometrial hyperplasia, atypical hyperplasia and endometrial carcinoma. *Hum Pathol*, 20: 219-23, (1989).
 12. Skaarland E: Nuclear size and shape of epithelial cells from the endometrium: lack of value as a criterion for differentiation between normal, hyperplastic and malignant conditions. *J Clin Pathol*, 38: 502-506, (1985).
 13. Tsou KC, Hong DH et al.: Flow cytometric DNA and 5'-nucleotide phosphodiesterase in endometrium. *Cancer* 56: 2340-7 (1985).
 14. Van Der Putten HWHM, Baak JPA et al.: Prognostic value of quantitative pathologic features and DNA content in individual patients with stage I endometrial adenocarcinoma. *Cancer* 63: 1378-87 (1989).
 15. Wagner D, Richart RM et al.: Deoxyribonucleic acid content of presumed precursors of endometrial carcinoma. *Cancer*, 20 (12): 2067-77 (1967).