

SERVİKSİN SKUAMÖZ LEZYONLARINDA DNA İÇERİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Prof. Dr. M. Şerefettin CANDA (*) • Uz. Dr. Taner KABADAYI (*)

ÖZET: Tümörlerde DNA içeriğinin ölçümü ek prognostik bilgi sağlayan ve malignite tanısını destekleyen bir yöntemdir. Bu çalışmada, serviks skuamöz metaplazi (7 olgu), CIN (20 olgu) ve invaziv skuamöz karsinom (17 olgu) lezyonlarında DNA içeriği fotometrik yöntemle ölçülmüştür. Skuamöz metaplazi, CIN I ve CIN II olgularının DNA içerikleri diploidi sınırları içinde bulunmuştur. CIN III ve invaziv skuamöz karsinom olgularında ise yaklaşık % 30 oranında aneuploidi saptanmıştır.

SUMMARY: Measurement of DNA content of tumors may provide additional information and support a diagnosis of malignancy. In this study, photometric measurement of DNA content were performed in a prospective study of 7 patients with invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. A diploid DNA pattern was observed in squamous metaplasia and CIN I-II lesions. About % 30 of CIN III and invasive squamous cell carcinoma lesions were aneuploid.

GİRİŞ

Malign tümörlerin çoğu için klinik evre ve histolojik grade en önemli prognostik faktörlerdir. Serviks kanserleri için kullanılan prognostik parametrelerden de, FIGO evrelendirmesi tedavinin seçiminde etkin tek parametredir. Bununla birlikte aynı prognostik küme içindeki tümörlerin davranışları arasında farklılıklar sık görülmektedir. Tedavilerin yönlendirilmesi için yüksek riskli hastaları belirleyecek ek prognostik bilgilere gereksinim vardır. Günümüzde DNA indeksi serviks tümörleri yanısıra birçok diğer malignite için prognostik parametreler içinde yerini almıştır.

Eukaryotik organizmalarda germ hücreleri dışındaki tüm normal diploid hücrelerde, çift kromozu yansıtan 2 C değer ile mitoz arasında bir dönüşüm vardır. DNA sentezi mitozu dek atar ve 4 C değerine ulaşır. Normal diploid hücrelerin DNA indeksinin, dışına çıkan anormal DNA değerleri ise aneuploidi olarak adlandırılır (12).

GEREÇ VE YÖNTEM

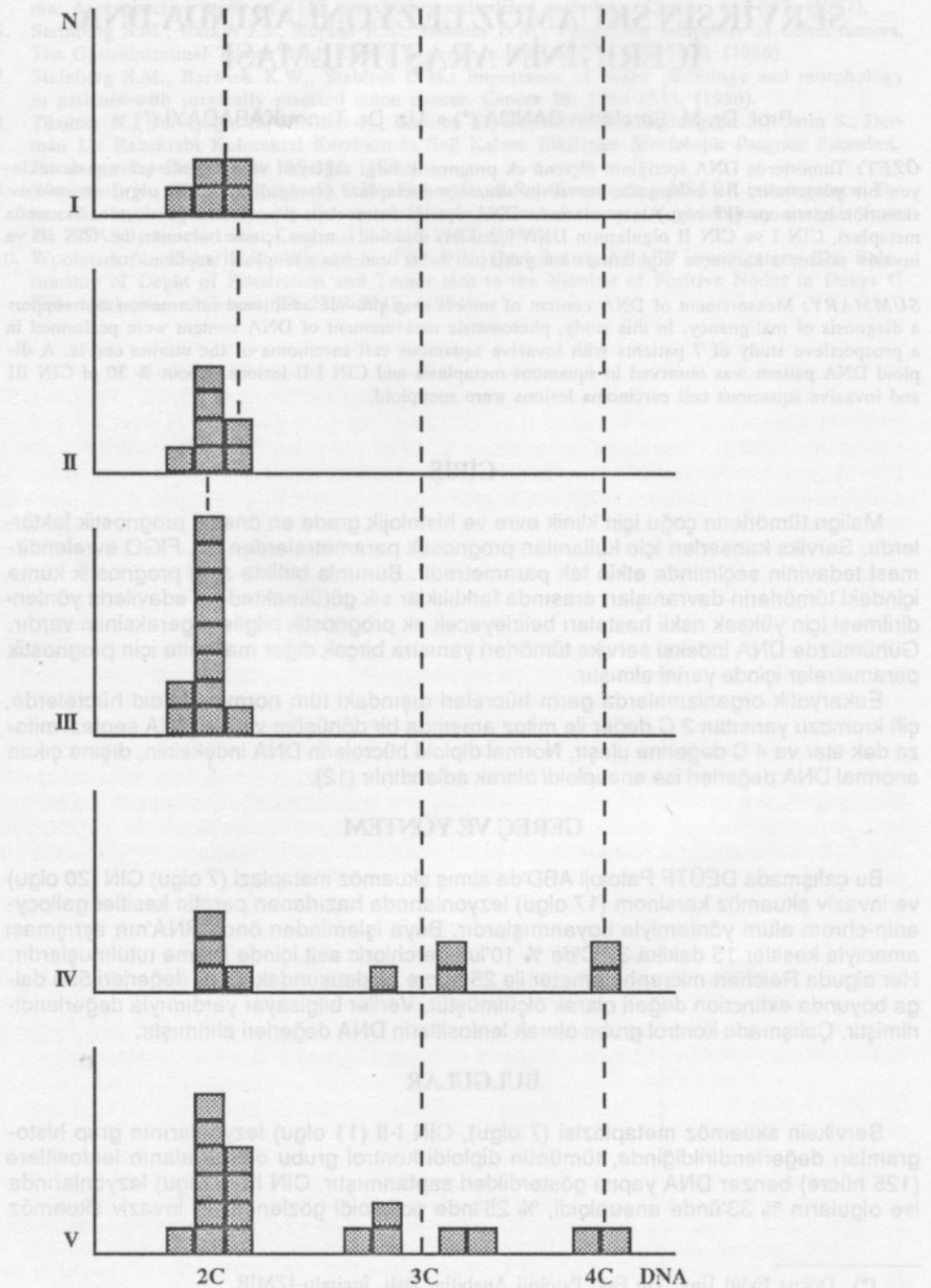
Bu çalışmada DEÜTF Patoloji ABD'da almış skuamöz metaplazi (7 olgu) CIN (20 olgu) ve invaziv skuamöz karsinom (17 olgu) lezyonlarında hazırlanan parafin kesitler gallocy-anin-chrom alum yöntemiyle boyanmışlardır. Boya işleminden önce RNA'nın ayrışması amacıyla kesitler 15 dakika 37 C'de % 10'luk perchloric asit içinde işleme tutulmuşlardır. Her olguda Reichert microphotometer ile 25 hücre nükleusundaki DNA değerleri 550 dalga boyunda extinction değeri olarak ölçülmüştür. Veriler bilgisayar yardımıyla değerlendirilmiştir. Çalışmada kontrol grubu olarak lenfositlerin DNA değerleri alınmıştır.

BULGULAR

Serviks skuamöz metaplazisi (7 olgu), CIN I-II (11 olgu) lezyonlarının grup histogramları değerlendirildiğinde, tümünün diploidi kontrol grubu olarak alanın lenfositlere (125 hücre) benzer DNA yapısı gösterdikleri saptanmıştır. CIN III (9 olgu) lezyonlarında ise olguların % 33'ünde aneuploidi, % 25'inde poliploidi gözlenmiştir. İnvaziv skuamöz

(*) Dokuz Eylül Ün. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı, İnciraltı-İZMİR

Grafik I: Çalışmamızda olgu gruplarında DNA değerleri. I: Lenfosit kontrol, II: Skümaöz metaplazi, III: CIN I-II, IV: CIN III, V: Invaziv skuamöz karsinom.



karsinom olgularında da aneuploidi % 30, poliploidi % 12 sıklığında bulunmuştur. Grafik I'de gözleendiği gibi çalışmamızda, CIN III ve invaziv karsinom olgularımızın DNA değerlerinde 4.3 C'ye ulaşan artımlar vardır.

TARTIŞMA

DNA içeriğinin ölçümü normal ve kanser hücrelerinin ayırımında tek ve kesin bir kriter değildir. Yangı ve rejenerasyon gibi yüksek fonksiyonel gereksinimlerin bulunduğu durumlardaki normal yanıtlarda, hücrelerde 4 C hatta 8 C'ye varan poliploid DNA değerleri saptanmıştır (8). Buna karşın malign tümörlerin bir kısmında da normal diploid DNA içeriği bulunmaktadır (4,11). Yapılan çok sayıda çalışmada DNA ölçümleriyle gösterilen aneoploidinin özellikle kolorektal, mesane, akciğer ve meme kanserlerinde kötü prognozla bağlantılı olduğu ortaya konmuş ve DNA ölçümleri prognostik bir parametre olarak, birçok tümörde araştırılmaya başlanmıştır (2,11,12).

Serviksin skuamöz metaplazi ve hafif displazi lezyonlarında, DNA değerleri çalışmamızda ve kaynaklarda diploid sınırları içinde bulunmuştur. CIN II lezyonlarında ise bazı çalışmalarda aneuploidi gözlenmiş ve bu lezyonların da preinveziv olabilecekleri düşünülmüştür (15). Bilindiği gibi CIN lezyonların regresif, kalıcı ya da progressif alt türlere ayırmak pür sitolojik, histolojik ve klinik kriterlerle olanaksızdır. Bu konuda DNA ölçümü gibi objektif parametreler araştırılmıştır.

CIN III olgularında birçok araştırmada ve çalışmamızda yüksek oranda aneuploidi saptanmıştır (1,6,7,9). Prognostik çalışmalarda aneuploidi gösteren CIN lezyonlarında, kalıcılık ve progresyon, diploid ve poliploid lezyonlara göre daha yüksek oranda bulunmuştur (6). Deneyisel skuamöz karsinom çalışmalarında oluşturulan servikal ve bronkojenik karsinomların gelişiminde artan oranda aneuploidi gözlenmiştir (2). Benzer biçimde, serviks skuamöz karsinomlu hastaların, önceki smearlarında yapılan retrospektif bir çalışmada, klinik malignitenin epitelin son malign değişiminden yıllarca önce ploidi değişimleri ile belirlenebileceği gösterilmiştir (2). İnvaziv karsinoma eşlik eden CIN lezyonlarının % 90'ında, karsinoma benzer DNA yapısı saptanmış ve CIN'lerin invaziv karsinomların prekürsörleri olduğu görüşü desteklenmiştir (6).

Diploid CIN lezyonları olan genç hastalarda anlamlı bir oranda invaziv potansiyel gözlenmiştir. Bu nedenle diploidinin CIN olgularında otomatikman iyi bir prognozu göstermeyeceği bilinmelidir (6).

CIN lezyonlarında poliploidinin anlamı belirsizdir. Poliploidi gösteren CIN lezyonu bulunan genç hastalarda invaziv potansiyelin hiç görülmemesi, yaşlı hastalarda da % 10 gibi düşük bir oranda invaziv kansere dönüşüm, poliploidinin reaktif bir durum olabileceğini düşündürmektedir. Bazı poliploid CIN lezyonlarında immunohistokimyasal yöntemlerle HPV saptanması, poliploidinin enfeksiyöz bir kökenini akla getirmiştir (6).

CIN lezyonlarında yapılan kromozon çalışmaları da benzer sonuçlar vermiştir. İki Barr cismi ve tetraploidinin displazi bulgusu olabileceği öne sürülmüştür (9,13).

Serviksin invaziv skuamöz karsinomlarında yapılan DNA ölçüm çalışmalarında yüksek oranlarda aneuploidi saptanmıştır (Tablo 1). Mikrospektrofotometrik DNA ölçümü yapan Atkin, diploidiye yakın değerler gösteren tümörlerde daha kötü prognoz bildirmiştir. Bunu, belkide yüksek DNA değerine sahip tümörlerin ışına daha duyarlı oldukları görüşüyle açıklamıştır (1). Hanselear DNA değeri 1.5 C'den daha düşük serviks skuamöz karsinomlarında, sık lenf düğümü metastazı saptamıştır (6). Jakobsen'in 171 olguluk flow sitometrik DNA ölçüm çalışmasında ise, düşük ploidi olgularda daha iyi prognoz gözlenmiştir (7). Strang'da benzer olarak yüksek ploidi ve aneuploidi gösteren tümörlerde, tüm evrelerde yüksek yineleme ve metastaz oranı bildirmiştir. Yine serviks karsinomlarında S fazı oranını araştıran Strang, yüksek oranların ağırlıklı olarak S fazı olduğunu öne sürmüştür (14). Işın tedavisi görmüş serviks karsinomlu hastaların kontrol smearlarında izlenen aneuploid hücrelerin, premalign ve malign hücreleri yansıttığı ileri sürülmüş ve böyle olgularda aneuploidinin erken bir yinelemenin işareti olabileceği düşünülmüştür (10). Tedavi görmüş serviks kanserli hastaların smearlarında yapılan bir araştırmada, diploid ve poliploid DNA

Tablo 1: Çalışmamızda ve kaynaklardaki araştırmalarda serviksın invaziv skuamöz karsinomlarında, diploidi, aneuploidi ve poliploidi oranları.

	Skuamöz karsinom		
	Diploidi %	Aneuploidi %	Poliploidi %
-Jakobsen (7)	6	94	.
-Jakobsen (7)	20	80	.
-Strang (14)	44	66	.
-Strang (14)	29	71	.
-Nishia (9)	41	59	.
-Hanselaar (6)	40	50	10
-Claestrophe (3)	36	50	14
-Atkin (1)	31	49	20
-Davis (1)	32	68	.
-Sunulan çalışma	58	30	12

nülmektedir. İnvaziv skuamöz karsinomlarda ise, yapılan çalışmaların çoğunda, aneuploidi kötü prognozu gösteren bir parametre olarak saptanmıştır. Ayrıca genç ve yaşlı hastalarda farklı DNA içeriklerinin belirlenmesi, serviks skuamöz karsinomlarının genç ve yaşlı hastalarda ortaya çıkışlarında farklı patogeneizlerin söz konusu olabileceğini akla getirmektedir.

KAYNAKLAR

1. Atkin NB: Prognostic significance of ploidy level in human tumours, I. Carcinoma of the uterus. J Nat Cancer Inst 56: 909-910, 1976.
2. Aver G, Askensten U, Ahrens O: Cytophotometry. Hum Pathol 20: 518-527, 1989.
3. Claestrophe RW, Langstrom E, Ranstam J, Killander D, Cleese L: Prospective malignancy grading and flow cytometry DNA distribution in biopsy specimens from invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Anticancer Research 7: 235-242, 1987.
4. Friadlender ML, Hedley DW, Taylor IW: Clinical and biological significance of aneuploidy in human tumors. J Clin Pathol 37: 961-974, 1984.
5. Goppinger A, Fraudenberg N, Ross A: The prognostic significance of the DNA distribution in squamous-cell carcinoma of the uterine cervix. Anal Quant Cytol Histol 8: 148-151, 1986.
6. Hanselaar AGJM, Vooijs GP, Oud PS, Pahlplatz MMM, Beck LJM: DNA plidity patterns in cervical intraepithelial neoplasia grade III with and without synchronous invasive squamous carcinoma. Cancer 62: 2537-2545, 1988.
7. Jakobsen A: Prognostic impact of ploidy level in carcinoma of the cervix. Am J Clin Oncol 7: 475-480, 1984.
8. Kass L: Diagnostic Cytology. Vol one, 3. ed. J B Lippincott Co. Philadelphia pp. 77, 144, 1129, 1979.
9. Nishiya I, Ishizake Y, Sasaki M: Nuclear DNA content and the number of Barr bodies in premalignant and malignant lesions of the uterine cervix. Acta Cytologica 25: 407-411, 1981.
10. Ogaki T, Meyer AA, Sciarra JJ: Prognosis of irradiated carcinoma of cervix uteri and nuclear DNA in cytologic postirradiation dysplasia Cancer 33: 647-652, 1974.
11. Seckinger D, Sufarbaker E, Frankfurt O: DNA content in human cancer. Arch Pathol Lab Med 113: 619-626, 1989.
12. Shapiro HM: Flow cytometry of DNA content and other indicators of proliferative activity 13. Arch Pathol Lab Med 113: 591-597, 1989.
13. Spriggs AI: Cytogenetics of cancer and precancerous status of the cervix uteri. Chromosomes and cancer. Edt: German J. John Wiley and sons, pp. 425-450, 1974.
14. Strang P, Stendahl U, Frankendal B, Lindgren A: Flow cytometric DNA patterns in cervical carcinoma. Acta Radiologica Oncology 25: 249-253, 1986.
15. Wilbanks GD, Turner JY, Richart RM: The DNA content of Cervical intraepithelial neoplasia studied by two-ware length Feulgen cytophotometry. Am J Obstet Gynecol 98: 792-795, 1967.

değeri gösteren olguları tümünün 10 yıl sonra hayatta olduğu gözlenirken, aneuploid olgularda 10 yıl sonra hayatta kalma oranı % 17 olarak bildirilmiştir (5). Cleastrope, tümörlerin DNA içeriği ile MGS (Malignancy Grading Scores) arasında bağlantı saptamış ve DNA indeksinin multifaktöriyel prognostik index içinde değerlendirilebileceğini düşündürmüştür (3).

Sonuçta, CIN lezyonlarında aneuploidi kalıcılığı ve progresyonu işaret ettiği düşü-