

PROSTAT KARSİNOMLARINDA p53 NÜKLEER BİRİKİMİNİN KLİNİKOPATOLOJİK PROGNOTİK PARAMATRELERLE İLİŞKİSİ

Dr. Nilüfer ONAK KANDEMİR, Dr. Nagehan ÖZDEMİR BARIŞIK, Dr. Aylin EGE GÜL, Dr. Nusret ERDOĞAN
Dr. Dilek YAVUZER, Dr. Nimet KARADAYI

ÖZET: Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği'nde, 1993-1998 yılları arasında prostat adenokarsinomu tanısı alan 50 olgu, p53 overekspresyonu yönünden immunhistokimyasal yöntemle incelendi. Olgular p53 overekspresyonu ile tümör tipi, histolojik grade, evre, vasküler ve perinöral invazyon gibi farklı prognostik parametreler arasındaki ilişki açısından değerlendirildi. Olguların %22'sinde p53 overekspresyonu saptandı. p53 pozitif olgularda boyanma yaygınlığı ve yoğunluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edildi. Erken evre ve düşük grade'li tümörlerin hiçbirinde p53 overekspresyonu saptanmazken, grade ve evre yükseldikçe istatistiksel olarak anlamlı artış dikkati çekti. p53 overekspresyonu ile vasküler ve perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. p53 pozitif olan 11 olgudan 8'inde tümöre komşu benign glandların bazal ve sekretuar hücrelerinde nükleer boyanma gözlemlendi. Çalışmamızdaki bulgular prostat kanserlerinde diğer organ kanserlerine göre p53 overekspresyonunun daha nadir bir bulgu olduğu görüşünü desteklemektedir. p53 overekspresyonunun Gleason grade'i ve evre ile ilişkili olduğu, ancak vasküler ve perinöral invazyondan bağımsız olduğu görülmüştür. Tek başına kötü prognoz göstergesi olmamakla birlikte, latent ve erken prostat kanserlerinde p53'ün saptanması tedaviyi yönlendirici olabilir.

ANAHTAR KELİMELE: Prostat, adenokarsinom, prognoz, p53.

SUMMARY: p53 OVEREXPRESSION IN PROSTATE CARCINOMA AND ITS RELATIONSHIP WITH CLINICOPATHOLOGICAL PROGNOSTIC PARAMETERS. Fifty patients with prostate adenocarcinoma have been examined for p53 overexpression using immunochemistry, between 1993-1998 in Lütfi Kırdar Education and Research Hospital's Pathology Department. Possible relations between p53 overexpression and different prognostic parameters such as type, histological grade, stage, vascular and perineural invasion have been evaluated. p53 overexpression have been encountered in 22% of all cases. Statistically significant relation between the intensity and distribution of p53 staining was seen. Tumors in early stages and lower grades did not show p53 overexpression, whereas it was noticed that there is a statistically significant correlation between p53 overexpression and late stage and/or high grade tumors. There was no correlation with vascular and perineural invasion. In eight of 11 p53 positive cases there was nuclear staining in basal and secreting cells of benign neighbouring glands. Our findings support the view that p53 overexpression in prostate cancers are seen less than other organ cancers. p53 overexpression is correlated with Gleason's grade and stage but is irrelevant with vascular and perineural invasion. Although p53 overexpression, evaluated as a single criterion is not a bad prognostic sign, its detection in latent and early prostate cancer may influence the therapy.

KEY WORDS: Prostate, adenocarcinoma, prognosis, p53.

GİRİŞ

Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen malignitelerden biridir ve kanser ölümlerinde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer alır. Yaygın bir tümör olmasına karşın karsinogenezin moleküler temelleri konusunda oldukça az bilgi elde edilebilmiştir. Genellikle yavaş büyüyen ve geç bulgu veren bir tümör olmakla birlikte, heterojen bir yapıya sahip olması nedeniyle, seyri oldukça değişkendir. Bu nedenle son yıllarda yapılan çalışmalar tümörün prognoza etkili faktörler üzerinde yoğunlaşmıştır (1,2,3). 17. kromozomun kısa kolunda yerleşmiş p53 tümör supresör gendeki mutasyonlar, insan kanserlerinde rastlanan en sık genetik değişikliktir. Prostat kanserlerinde p53 gen mutasyonu erken evredeki kanserlerde nadir bir bulgudur ancak ileri evre, histolojik grade'i yüksek ve metastatik kanserlerde daha sık karşımıza çıkmaktadır. p53 gen mutasyonu evre ve grade'den bağımsız bir prognostik parametre olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceği henüz kesinlik kazanmamıştır (4,5,6,7,8).

Bu çalışmada prostat karsinomlarında p53 overekspresyonu immunhistokimyasal yöntemle araştırılarak, klinik evre, histolojik grade, vasküler ve perinöral invazyon gibi farklı prognostik öneme sahip parametrelerle arasındaki ilişkinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

1993-1998 yılları arasında Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği'nde prostat karsino-

mu tanısı alan olgular ışık mikroskobu ile yeniden incelendi, ayrıntılı rutin inceleme ve immunhistokimyasal boyaların uygulanmasına olanak verecek 50 olgu çalışma kapsamına alındı. Olgular 5 radikal prostatektomi, 10 prostatektomi, 35 transüretal rezeksiyon materyalinden oluşmaktadır. Histolojik grade'i belirlemede Gleason Grade'leme sistemi esas alındı. Olguların hepsi vasküler ve perinöral invazyon yönünden incelendi. Yeterli klinik bilginin elde edilebildiği 24 olguda klinik evreyi belirlemede modifiye Jewett (AUA, A-D) sistemi kullanıldı. Her olgu için en yüksek Gleason Grade'ini baskın olarak içeren, aynı zamanda tümörsüz prostat dokusu bulunduran parafin bloklar immunohistokimyasal olarak p53 antikoruna ile boyanmak üzere seçildi. Immunohistokimyasal çalışma için primer antikor olarak Bp53-12 ve San Juan, CA monoklonal antikoruna kullanıldı. LSAB Alkalen Fosfataz yöntemi ile boyama işlemi tamamlandı. p53 pozitif olduğu daha önceden bilinen meme karsinomu pozitif kontrol, prostat stromasındaki nonepitelial hücreler internal negatif kontrol olarak kullanıldı.

Immunhistokimyasal sonuçların değerlendirilmesi: Sadece nükleer boyanma kriter olarak alındı. Tümör hücrelerinin en az %5'inin belirgin nükleer boyanma gösterdiği olgular, p53 pozitif kabul edildi. p53 pozitif boyanan hücrelerin, tüm tümör hücrelerine oranına göre 4 skor verildi. Boyanma görülmeyen veya tümör hücrelerinin %5'inden azında boyanma saptanan olgular negatif, tümör hücrelerinin %5-19'unda belirgin nükleer boyanma olan olgular (+), %20-50 tümör hücresinde belirgin nükleer boyanma (++), %50'den fazla tümör hücresinde belirgin nükleer boyanma (+++) olarak kabul edildi. Boyanma yoğunluklarına göre hafif, orta, şiddetli boyanma gösterenler olarak 3 gruba ayrıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde Spearman-Rank korelasyon testi kullanıldı. P<0.05 düzeyi anlamlı kabul edildi.

TABLO 1: p53 POZİTİF OLGULARIN TÜM PARAMETRELERİ

Olgular	Gleason Grade'i	Gleason Skoru	Vasküler İnvazyon	Perinöral İnvazyon	Boyanma Yaygınlığı	Boyanma Yoğunluğu	Ameliyat Şekli	Klinik Evre
1	5+4	9	-	+	+++	Şiddetli	TUR	D
2	5+5	10	+	+	+++	Orta	TUR	?
3	5+4	9	-	+	+++	Şiddetli	TUR	D
4	3+4	7	-	+	++	Orta	TUR	?
5	5+5	10	+	+	++	Orta	TUR	?
6	3+4	7	-	+	++	Hafif	TUR	?
7	3+5	8	+	+	++	Orta	TUR	D
8	4+5	9	+	+	++	Hafif	TUR	D
9	4+3	7	+	+	++	Hafif	Radikal	D
10	3+2	5	+	+	+	Hafif	TUR	?
11	2+3	5	-	-	+	Hafif	TUR	D

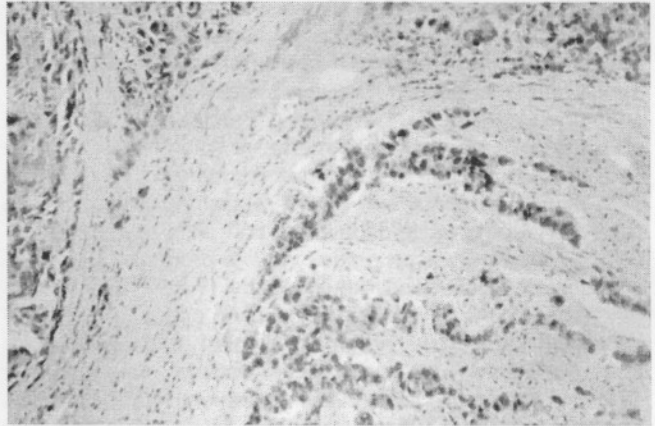
TABLO 2: p53 POZİTİF OLGULARDA BOYANMA YAYGINLIĞI İLE BOYANMA YOĞUNLUĞU ARASINDAKİ İLİŞKİ

p53 boyanma yaygınlığı	p53 Boyanma Yoğunluğu				
	0	Hafif	Orta	Şiddetli	Toplam
0	39	0	0	0	39
+	0	2	0	0	2
++	0	3	3	0	6
+++	0	0	1	2	3
Toplam	39	5	4	2	50

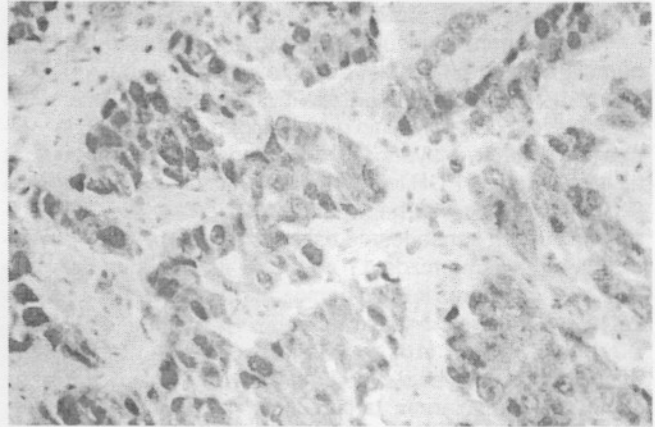
BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan 50 prostat adenokarsinomu olgusunun %40'ını intermediate grade'li, %30'unu yüksek grade'li tümörler oluştururken, düşük grade'li tümörler %30 oranında saptanmıştır. Klinik evre açısından değerlendirildiğinde, A ve B evresindeki tümörler olguların %30'unu, C ve D evresindeki tümörler %18'sini oluşturmaktadır; 26 (%52) olguda yeterli klinik bilgi elde edilemediğinden evre belirlenmemiştir. Histolojik grade ve evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Yirmi üç (%46) olguda vasküler invazyon, 37 (%74) olguda perinöral invazyon tespit edilmiştir. Vasküler invazyon ve perinöral invazyon ile Gleason grade'i ve evre arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcuttur.

İmmünohistokimyasal bulgular: 50 prostat karsinom olgusunun 11 (%22) tanesinde immünohistokimyasal olarak p53 overekspresyonu saptanmıştır (Tablo 1). p53 pozitif boyanan olgularda boyanma yaygınlığı arttıkça, boyanma yoğunluğunun da arttığı görülmüş olup, istatistiksel olarak anlamlıdır (Tablo 2). p53 pozitif olgular histolojik grade'lerine göre incelendiğinde düşük grade'li olgulardan hiçbirinde boyanma saptanmazken, intermediate gradeli olguların 6'sında, yüksek grade'li olguların 5'inde p53 overekspresyonu saptandı. Boyanma yoğunluğu ve yaygınlığı ile histolojik grade arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p_1=0.007$, $p_2=0.009$). ABC evresindeki olgulardan hiçbirinde p53 overekspresyonu saptanmazken D evresindeki 7 olgudan 6'sında pozitif boyanma saptandı (p53 pozitif boyanan 5 olguda yeterli klinik bilgi elde edilemediğinden klinik evre belirlenmemiştir). Boyanma yaygınlığı ile klinik evre ($p=0.009$), boyanma yoğunluğu ile klinik evre ($p=0.001$) arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmıştır. p53 overekspresyonu ile vasküler ve perinöral invazyon arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunmamıştır. p53 pozitif boyanan 11 olgu-



Resim 1: Prostatik adenokarsinom olgusunda (+++), şiddetli nükleer boyanma (p53 x100).



Resim 2: (++), orta şiddette nükleer boyanma (p53 x200).

dan 8 (%72.7)'inde karsinoma komşu, Prostatik İntraepitelial Neoplazi içermeyen, benign glandların bazal ve/veya sekretuar hücrelerinde hafif-orta şiddette belirgin nükleer boyanma görüldü.

TARTIŞMA

Prostat karsinomlarında aynı grade ve evredeki tümörlerin prognozlarının çoğu kez birbirlerinden farklı olduğu görülmektedir. Agresif tümörleri önceden belirleyebilmek ve buna uygun radikal tedaviye olabildiğince erken başlamak, yaşam süresini uzatmak için önemlidir. Bu amaçla daha objektif ve

güvenilir parametrelere ihtiyaç duyulmuştur (1,2,3). p53 geninde ortaya çıkan mutasyonlar insan kanserlerinde en sık rastlanan genetik değişikliklerdir. Fizyolojik koşullar altında p53 proteininin yarı ömrü çok kısadır. İmmünohistokimyasal tekniklerle saptanamaz. Mutant p53 gen ürününün yarı ömrü oldukça uzun olup, nükleus içinde birikir ve immünohistokimyasal teknikler ile saptanabilecek hale gelir (4,5,6,7). Kromozom analizleri ve immünohistokimyasal yöntemlerin birlikte kullanıldığı çalışmalarda immünohistokimyasal olarak saptanan p53 overekspresyonunun, gen mutasyonunun güvenilir bir göstergesi olduğu bildirilmiştir (8,9,10). Kolayca uygulanabilirliği, çok sayıda tümör materyali üzerinde çalışılabilmesi, daha ekonomik olması, monoklonal antikorlar kullanılarak yapılan immünohistokimyasal boyama yöntemlerini yaygın hale getirmektedir.

Çalışmalarda prostat kanserlerinde p53 gen mutasyonuna rastlanma oranı %6-%79 arasında değişmektedir. İmmünohistokimyasal teknikler ile yapılan bu çalışmaların sonuçları kullanılan sistemlerin farklılığına, formalin fiksasyonunun süresine, seçilen hasta gruplarının grade ve evre dağılımlarına göre değişebilmektedir. Prostat kansinomlarında p53 gen mutasyonu akciğer, meme ve kolon kansinomlarına göre daha nadir olarak karşımıza çıkmaktadır ve ortalama %20 olguda görülmektedir (6,8,9). Çalışmamızda saptanan %22 oranı bu görüş ile uyumludur. p53 ekspresyonunun ileri evre, yüksek Gleason grade'i ve kötü prognoz ile korelasyon gösterdiği üzerinde durulmaktadır (7,8,9). Bizim çalışmamızda prognozlara ulaşmak mümkün olmasa da prognoza etkileri kanıtlanmış parametreler olan grade ve evre ile p53 overekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. p53 overekspresyonu ile prognostik önemleri tartışılmalı parametreler olan vasküler ve perinöral invazyon arasında korelasyon saptanmamıştır. Bu bulgu p53 overekspresyonunun vasküler ve perinöral invazyondan bağımsız bir parametre olduğunu düşündürmektedir. Kallakury (14) ve Foster (16), tümör içermeyen benign prostat dokularında ve tümöre komşu benign prostat glandlarında bazal hücrelerde belirgin nükleer boyanma saptamış, benign prostat dokusunda p53 immün reaktivitesi gösteren hücrelerin malignleşme potansiyelinin diğerlerinden yüksek olabileceğini bildirmişlerdir. Mayers (15) ve arkadaşları, benign prostat hiperplazilerinde PCR tekniği kullanarak yaptıkları çalışmada 9 olgudan 5'inde p53 gen mutasyonu saptamışlar ve bu olguların yüksek kanserleşme riskine sahip olabileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda 11 adet p53 pozitif olgudan 8'inde (%72.7), kansinoma komşu benign glandlarda çoğunlukla bazal hücrelerde hafif orta şiddette nükleer boyanma saptandı. Bu bulgu Foster (16) ve Kallakury'nin (14) sonuçlarını destekler nitelikteyse de, bu konuda yapılan çalışmaların az sayıda ve sonuçlarının tartışılmalı olması nedeniyle sağlıklı yorum yapmak için prospektif ve iyi planlanmış çalışmalara gereksinim vardır. p53 gen mutasyonunu saptamada immünohistokimyasal yöntemlerle yapılan incelemelerde henüz p53 pozitif kabul edilecek sınır değeri konusunda görüş birliği yoktur. Bazı araştırmacılar tümör hücrelerinin %20'sinde

nükleer boyanmayı sınır kabul ederken, bir diğer grup %5 boyanmayı yeterli kabul etmektedir. Bizim çalışmamızda tümör hücrelerinin en az %5'inin nükleer boyandığı olgular pozitif kabul edildi. Yapılan çok sayıda çalışmada tümör hücrelerinin boyanma yaygınlığı esas alınırken, boyanma yoğunluğu dikkate alınmamıştır (13,14). Diğer bir grup araştırmacı ise boyanma yaygınlığı ile yoğunluğu arasında korelasyon olduğunu, kuvvetli boyanmanın prognoz ile yakından ilişkili olduğunu savunmuşlardır (10,11). Çalışmamızda p53 pozitif tümörlerde boyanma yaygınlığı arttıkça, boyanma yoğunluklarının da belirgin olarak yükseldiği görülmüştür. Ayrıca boyanma yaygınlığında olduğu gibi, boyanma yoğunluğu ile grade ve evre arasında korelasyon saptanmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar p53 overekspresyonunun prostat kanserlerinde diğer organ kanserlerine göre daha nadir bir bulgu olduğu görüşünü desteklemektedir. p53 overekspresyonunun prognoza etkileri kabul edilen parametreler olan Gleason Grade'i ve evre ile ilişkili olduğu, vasküler ve perinöral invazyondan ise bağımsız bir parametre olduğu görülmüştür. Tek başına prognoz göstergesi olmasa da latent ve erken prostat kanserlerinde p53 overekspresyonu saptanması tedaviyi yönlendirici olabilir.

KAYNAKLAR

1. Rosai J: Male reproductive system. Chapter 18, In Ackerman's Surgical Pathology, ed. Rosai J. St. Luis, Mosby 8th ed, 1996; pp 1221-1256.
2. Damjanov I, Linder J, Male Reproductive System. Chapter 67, In Anderson's Pathology, ed. Damjanov I. St. Louis Mosby, 10th ed. 1990; pp: 2197-2219.
3. Mostofi FK, Price EB. Tumors of the Male Genital system. Armed Forces Institute of Pathology Washington 1973; pp: 196-257.
4. Gaox X, Phorter A, Gripen DJ: Diagnostic and prognostic markers for human prostate cancer. The prostate 1997; (31): 264-281.
5. Greenblatt MS, Bennete WP, Holstein M: Mutation in the p53 tumor suppressor gene: Clues the cancer etiology and molecular pathogenesis. Cancer Research 1994; (54): 4855-4878.
6. Bishop SM: The molecular genetics of cancer. Science 1987; (235): 305-310.
7. De Wolf CW: An important key to understanding urologic cancer. Science 1991; (253): 15-16.
8. Nigro MS: Baker SJ, Preisinger AC: Mutation in the p53 metastatic in diverse human tumor types. Nature 1989; (342): 25-26.
9. Soini Y, Paako P, Nuorva K: Comparative analysis of p53 protein immunoreactivity in prostatic, lung and breast carcinomas. Virchow's Archiv-A: 1992; (421): 423.
10. Visakorpi T, Kallioniemi OP, Heikkinen A: Small sub group of aggressive highly proliferative prostatic carcinomas defined by p53 accumulation. J Natl Cancer Ins 1992; (84): 883-887.
11. Navone NM, Troncoso P, Pisters L: p53 protein accumulation and gene mutation in the progression of human prostate carcinoma. J Natl Cancer Ins 1983; (85): 20.
12. Alkibay T, Sınık Z, Ataoğlu Ö: Prostat adenokanserlerinde p53 nükleer birikiminin yeri. Üroloji Bülteni 1996; (7): 101-104.
13. Orhan D, Tulunay Ö, Sak S: Prostat adenokanserlerinde immünohistokimyasal Ras, c-myc onkojenleri ve p53 tümör supresör gen mutasyonunun klinikopatolojik parametreler ile ilişkisi. Ankara Patoloji Bülteni 1999; 16 (3): 20-25.
14. Kallakury BV, Figge J, Ross JS: Association of p53 immunoreactivity with high Gleason Tumor grade in prostate carcinoma. Hum Pathol 1994; (25): 92.
15. Mayers FJ, Sung-Gil Chi, Firshman JR: p53 mutation in benign prostatic hyperplasia. J Natl Cancer Ins 1993; (85): 22.
16. Foster CS, Mc Loughin S, Bashir I: Markers of the metastatic phenotype in prostate cancer. Hum Pathol 1992; (23): 381-394.