

Endometrial Adenokarsinomlarda AgNOR Değerlerinin Grade ile İlişkisi

Dr. Sema Zergeroğlu¹, Dr. Orhan S. Aksakal², Dr. Ali M. Zergeroğlu³, Dr. Kenan Köse⁴

ÖZET

Kadın genitoüriner sisteminde menopoza sonrasında en sık görülen malign tümör endometrial karsinomdur. Tümör türlerinin biyolojik davranışını bilmek prognoz ve tedaviyi yönlendirmek açısından önemlidir.

Bu çalışma son bir yılda kanser tanısı alan hastalar arasında seçilen 36 endometrial adenokarsinomlu hastada AgNOR sayısı ile grade arasındaki ilişkiyi göstermek istedi; AgNOR / nükleus oranları 11 grade I, 11 grade II, 14 grade III olguda 3.52, 4.18 ve 6.10 olarak bulundu ve bu bulgularla endometrial adenokarsinomlarda artan grade ile AgNOR sayısının anlamlı olarak arttığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Endometrial karsinoma, AgNOR, Nükleolar Organizer Region

GİRİŞ

Son yıllarda en sık görülen jinekolojik malignensi endometrial adenokarsinomdur, ve insidansı gittikçe artmaktadır. Yaklaşık %80'i post menopoza dönemde tanı alır. Obez, diabetik, hipertansif ve infertil hastalar risk altındadır. Uzun süreli östrojen kullanımı ve şiddetli derecelerde endometrial hiperplazi etyolojik faktörler arasındadır⁽¹⁾.

Malignitede histolojik grade tartışmasız prognozu belirleyen en önemli faktördür^(2,3). Tümörde rekürrensi, metastaz eğilimini belirlemek, tedaviyi planlamak için grade'in bilinmesi gereklidir; günümüzde hücre proliferasyonu ile ilgili araştırmaların prognoz hakkında daha iyi fikir vereceği görüşü yaygındır.

Proliferasyon belirleyici teknikler arasında kolay kullanılabılır ve ucuz bir yöntem olan AgNOR yöntemi önemlidir. NOR'lar (nucleolar organizer regions) ribozomal RNA (rRNA) genlerini lokalize ettiği DNA komponentlerdir^(4,5).

AgNOR yöntemi ribozomal DNA (rDNA) segmentlerinde yer alan non histon proteinlerini (NOR'lar) gümüş ile siyah benekler halinde boyanarak incelenmesi yöntemidir^(6,7,8).

Çalışmamızda AgNOR beneklerinin sayı ve dağılımının nükleer ve sellüler aktiviteyi yansıttığı görüşünden hareketle, biyolojik işaretleyici olan AgNOR sayısının, endometrial adenokarsinomlarda; prognozda etkili bir parametre olan grade ile ilişkisi araştırılmıştır.

CORRELATION OF GRADING AND AGNOR SCORE IN ENDOMETRIAL ADENOCARCINOMA

The most frequently-seen postmenopausal malign tumor in the female genitourinary system is endometrial carcinoma. To know the biologic behaviors of the tumor cells is important to manage the treatment and for prognosis.

In this research, we aimed to show the relation between the AgNOR numbers and grade of the endometrial carcinoma by using AgNOR method on the 36 patients who had diagnosis of endometrial adenocarcinoma. AgNOR/ nucleus ratios of 11 grade I, 11 grade II, and 14 grade III cases were 3.52, 4.18 and 6.10 respectively. We have detected a significant increase in AgNOR number with increasing grade in endometrial carcinoma.

Key Words: Endometrial carcinoma, AgNOR, Nucleolar organizer region.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ekim 1995 ve Ekim 1996 tarihleri arasında SB. Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Hastanesi'nde tanı alan karsinom olguları arasında seçilen 36 endometrial adenokarsinom çalışma grubunu oluşturmaktadır. "Desensus Uteri" nedeniyle opere edilen orta yaşlı hastalardan endometrial doku örnekleri alınan 10 kişilik bir grup ise kontrol grubu olarak seçilmiştir.

Tüm materyal %10'luk formalin solusyonu içerisinde fikse edilmiş olup, rutin takip işlemlerinden sonra parafin bloklara gömülmüştür. Bloklardan hazırlanan kesitlere HE boyası uygulanmıştır; ayrıca 4-6 mikronluk yeni kesitler yapılarak rutin deparafinizasyondan sonra Crocker ve arkadaşlarının uyguladığı AgNOR boyanma yöntemi uygulanmıştır⁽⁹⁾. Her olguda 100 hücre sayılarak hücre başına düşen (AgNOR/nükleus) ortalama AgNOR sayısı hesaplanmıştır. Sayım işlemi aynı uzman patolog tarafından artefaksız alanlar seçilerek x 1000 (immersion oil) büyütme ile gerçekleştirilmiştir; özellikle tümoral lezyonun bulunduğu, adenoid yapıların mevcut olduğu alanlar tercih edilmiştir. Her olguda tümoral epitelyal hücrelerdeki nükleolar siyah renkli tek olan benekler (dot) sayılmıştır.

Histolojik grade için FIGO'nun önerdiği gradeleme sistemi esas alınmıştır⁽¹⁰⁾. Verilerin istatistiksel analizi için "Tek yönlü varyans analizi" testi kullanılmıştır; ve 0.05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edilmiştir.

1 SB. Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Hastanesi Patoloji Bölümü

2 SB. Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Hastanesi Kadın Doğum Başasistanı

3 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi

4 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyostatistik Bölümü

BULGULAR

Endometrial adenokarsinom tanısı alan 36 olgunun %30.55'i, Grade I (11 olgu), %30.55'i, Grade II (11 olgu), %34.90'i Grade III (14 olgu) olarak değerlendirilmiştir (Resim 1, 2).

Olguların en genci 46, en yaşlısı 74 yaşındadır, ortalama yaş 56.8'dir. Kontrol grubunda ise en genç hasta 60, en yaşlı hasta 68 yaşındadır, ortalama yaş 62.1'dir. Çalışma grubumuzda mevcut hiperplazi zemininde gelişen adenokarsinomlu 12 olgumuz bulunmaktaydı (%33.3). 5 olguda tedavi öncesinde yaygın obezite (%16.6) mevcuttu, 3 olguda infertilite (%8.6) nedeniyle belli aralıklarla hormon kullanma öyküsü mevcuttu. Kontrol olgularımızın 4'ün de hormon kullanma öyküsü vardı, bu 4 olguda (%40) (endometrial kalınlık USG de 8-16 mm olarak ölçülmüş) basit atipisiz hiperplazi gözlenirken, 3 olgu (%30) atrofik endometrium, 3 olgu ise (%30) preatrofik endometrium tanısı almıştır.

Her olgu ve kontrol grubu için ortalama AgNOR / nükleus sayısı bulunduğundan sonrası standart sapmalar hesaplanmıştır. Olgulara ait AgNOR sayıları, grade, ortalama yaş değerleri Tablo 1'de verilmiştir. Görüldüğü üzere artan grade ile anlamlı artan AgNOR / nükleus oranları bulunmuştur (Resim 3,4).

TARTIŞMA

Fazla östrojenik stimülasyonun mevcut risk faktörleri eşliğinde endometrial adenokarsinomda önemli rol oynadığı yadsınmaz bir gerçektir ⁽¹⁾.

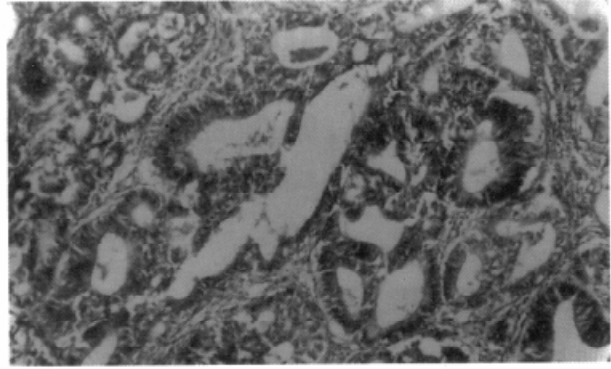
Stein Leventhal sendromu, granüloza hücreli over tümörleri ve tekomalarda fazla östrojen salınımı görülür. Bu olgularda nadir de olsa endometrial adenokarsinom gelişebileceğini bildiren yayınlara rastlanmaktadır ⁽¹⁾. Artan östrojenik stimülasyonun zamanla hiperplazi, atipik hiperplazi ve karsinoma yol açtığı bilinmektedir; hiperplazi zemininde gelişen adenokarsinomlarda erken evrede geri dönüş beklenir; artan östrojenin baskılanması olayı yavaşlatır ya da durdurur.

Endometrial adenokarsinornda histolojik grade, stage, nekroz, myometrial invazyon ve metastaz önemli prognostik parametrelerdir. Grade artımı prognozu olumsuz yönde etkileyen bir faktördür.

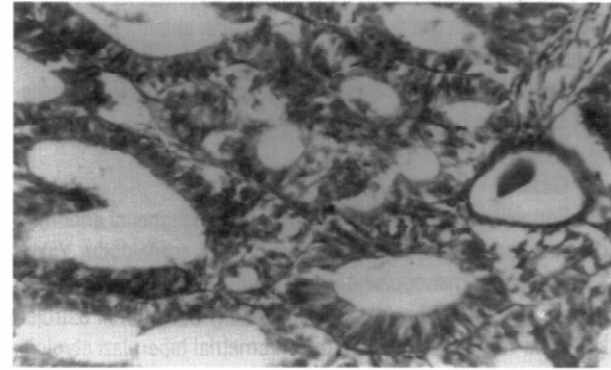
Tümörün davranışı belirleyen, artan hücrel proliferasyonu yansıtan çeşitli teknikler (Ki-67, PCNA vb.) arasında sayılan AgNOR yöntemi yardımıyla nükleol içindeki NOR dağılımını histolojik ve sitolojik materyallerde benign ve malign tümör ayrımında önemli olduğunu biliyoruz ^(8, 10).

Öne sürülen ortak sonuç kanser hücrelerinin hiperplastik hücrelerden farklı olarak küçük, düzensiz dağılım gösteren çok sayıda NOR'la karakterize olmasıdır. Yine NOR sayısının kanser hücrelerinde artmasının poliploidi ribozomal transkripsiyon aktivitesinde artış ve hücre proliferasyonunda artışla ilgili olduğudur ^(10, 11).

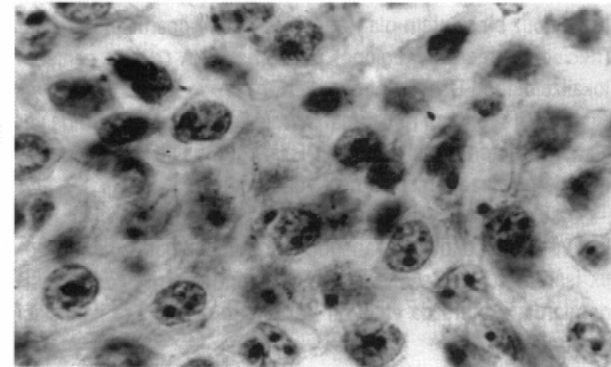
Çeşitli endometrial patolojileri olan hastalara AgNOR yöntemi uygulayan Brustman ve arkadaşları 78 vakalık serilerinde (38'i karsinom), olgularında hiperplazi ve atipik hiperplaziye gö-



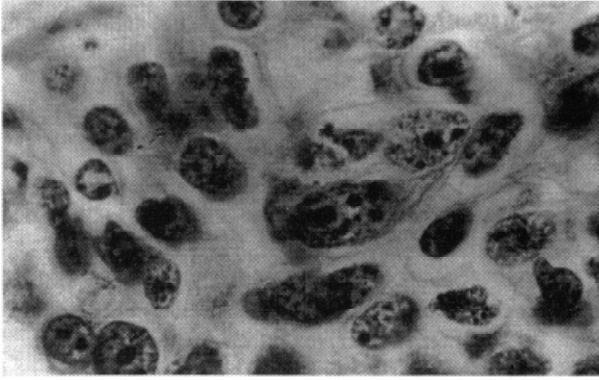
Resim 1 : Grade I Endometrial adenokarsinom 200 X HE



Resim 2 : Grade II Endometrial adenokarsinom 200 X HE



Resim 3 : Grade I Endometrial adenokarsinom olgusunda her bir hücrede 2-3 adet AgNOR benegi Imm oil X 1000



Resim 4: Grade II Endometrial adenokarsinom olgusunda her bir hücrede 3 - 4 adet AgNOR benegi İmm oil X 1000

re AgNOR sayısını fazla bulmuşlardır ⁽¹²⁾.

Overin seröz tümörlerinde AgNOR dağılımını araştıran Ma- uri borderline lezyonlarda sayıca az ve küçük boyutta gözlemlen- dikleri NOR sayılarını karsinomlu olgularda daha büyük ve art- mış olarak bulmuşlardır ⁽¹³⁾.

Criscuolo ve arkadaşları ovarian epitelial tümörlerde AgNOR sayısının artan grade ile arttığını borderline tümörlerde ise ade- nomlara göre daha fazla AgNOR beneginin görüldüğünü göster- mişlerdir ⁽¹⁴⁾.

Lenfoproliferatif hastalıklarda proliferatif indeksin yükseldi- ğini savunan çalışmalar yanısıra Delahunt ve arkadaşları Ki-67 değerlerini ve AgNOR sayılarını, PCNA indeksini karşılaştı- rmışlardır. Bütün yöntemlerde artan grade ile artan anlamlı değerler bulmuşlardır ^(15, 16).

CNS tümörlerinde benzer sonuçlar Korkolopoulou ile arka- daşları tarafından rapor edilmiştir ⁽¹⁷⁾.

Niwa ve arkadaşları AgNOR boyanma yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmalarında proliferatif fazdaki normal endometri- umda (3.6 - 4.0), neoplastik endometriumda (iyi diferansiye adenokarsinomlarda) yüksek AgNOR değerleri bulmuşlardır ^(5,5). Atipik hiperplazilerde ise iyi diferansiye adenokarsinomdakine yakın değerler gözlemişler (4.5), en düşük AgNOR değerleri nor- mal sekretuar endometriumda bulunmuştur (2.6 -2.9) ⁽¹⁸⁾.

Bizim olgularımızın hepsi adenokarsinomdur; hastanemizde son bir yıl içinde atipik adenomatöz hiperplazili 3 hasta opere edilmiştir; bu sayı düşük olduğundan çalışma grubumuza alın- mamıştır. Çalışma grubu olgularımızda artan grade ile artan Ag- NOR değerleri bulunmuştur.

Coumbe, Mills ve Brown'un hiperplazi, polip ve adenokarsi- nom bulunan endometriumlarda yaptıkları çalışmalarda en dü- şük AgNOR değerleri polipoid lezyonlarda (3.59), en yüksek Ag- NOR değerleri adenokarsinomlarda bulunmuştur (4.65). Ayrıca adenokarsinomda glandüler NOR skorunu stromal skora oran-

layarak buldukları oran yüksek olarak bulunmuştur ⁽¹⁹⁾.

Nielsen ve Nyholm endometrial adenoarsinomlularda im- mun boyama yöntemiyle Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) yüzdesini göstermeye çalışmışlar ve tümoral hücrelerde artan PCNA yüzdelelerini grade ve mitotik indeksle karşılaştırmışlardır. Artan grade ve yüksek mitotik indeks yük- sek PCNA yüzdeleleriyle birlikte görülmüştür. Hormon alan has- talarda PCNA yüzdeleleri ise almayanlara göre düşük bulunmuş- tur ⁽²⁰⁾.

Bizim olgularımızda karsinom gelişimi için mevcut risk fak- törleri gözlenmiştir (hiperplazi, obezite, infertilite, hormon alımı); ancak risk faktörlerinin sebep sonuç ilişkisinden öteye hücresel proliferasyona yada AgNOR sayısına etkisi ile ilgili literatürde somut bilgiye rastlanmamıştır. Literatürdeki (12,18,19) gibi endometrial adenokarsinomlularda AgNOR skorunu belirleyerek bunun grade ile ilişkisini gözlemledik. Grade I olgularda 3.352 0.214 değerlerini, Grade II olgularda 4.18 ±0.256 değerlerini, Grade III olgularda 6.104 ± 0.16 değerlerini bulduk. Artan grade ile anlamlı olarak artan AgNOR / nükleus sayılarını gözlemledik (p<0.05).

Ayrıca kontrol grubu değerleri ile artan grade arasında an- lamlı artan ilişki bulunmuştur (tek yönlü varyans analizi). Çalı- şma ve kontrol grubu olgularımızın yaşları grade ile karşılaştırıl- dığında ve artan AgNOR / nükleus sayısı göz önüne alındığında aralarında anlamlı bir ilişki yada korelasyon bulunamamıştır.

Çalışmamızda olgularımızda artan grade ile AgNOR / nü- kleus sayısının anlamlı olarak arttığını göstermek yanısıra prog- nozda önemli bir parametre olan grade'in hücre kinetiğini yan- sıtan değişik yöntemlerle de karşılaştırılabileceği yönündeki çalışmalara yardımcı olabileceğini düşündük.

Grade	Olgu sayısı	Ortalama yaş	AgNOR/Nükleus sayısı±SD
Grade I	11	53.7	3.52±0.214
Grade II	11	61.7	4.18±0.256
Grade III	14	52.9	6.10±0.160
Kontrol grubu	10	62.1	1.10±0.038

Tablo 1 : Olgulara ait ortalama yaş , grade ve AgNOR/nükleus oranları

KAYNAKLAR

1. Rosai J. : Ackerman's Surgical pathology 7th ed. The C.V. Mosby co, St Louis 1989; 1065-1082.
2. Alvegarg TA., et al. Prognosis in high - grade soft tissue sarcomas: The Scandinavian Sarcoma Group experience a randomize adjuvant chemotherapy trial. *Acta orthop Scand* 1989; 60 (6): 517-521.
3. Crocker J: Nucleolar Organiser Regions. In Underwood J C E, ed. *Current Topics in Pathology*, 1990; 91-149.
4. Editorial NORs, A new method for the pathologist. *Lancet* 1987/1: 1413-1414.
5. Jordan EG, Nucleolar nomenclature. *J. Cell Sci* 1984; 67:217-220.
6. Crocker J, Boldly DAR, Egan M J How should we count AgNORs, Proposals for standardized apporach. *J. Pathol* 1988; 158:185-188.
7. Derenzini M, Pession A, Farabegoli F, Trere D. Relationship between interphasic nucleolar organizer regions and growth rate in two neuroblastoma cell lines. *Am J Pathol* 1989; 134 (4):925-932.
8. Derenzini M, Pession A, Trere D, Quantity of Nucleolar Silver - stained proteins is related to proliferating activity in cancer cells. *Lab I* 1990; 63:1;137.
9. Blaustien A. *Pathology of the Female Genital Tract*. Second Edition. Springer- Verlag New York, 1982; 444-449.
10. Howatt AJ, et al. Nucleolar Organizer regions in spitz nevi and malignant melanomas . *Cancer* 1989; 63(3):447-478.
11. Pich A, Chiusa L, Comino A, Navone R. Cell proliferation indices morphometry and DNA flow cytometry provide objective criteria for distinguishing low and high grade bladder carcinomas. *Virchows Arch* 1994; 424:143-148.
12. Bustman H, Riss P, Naude S. Histochemical characterization of endometrial proliferation using AgNOR (nucleolar organiser¹ region), *Gynakol Gebur Eshifliche Bundsch* 1994; 34(4):220-222.
13. Mauri FA, et al. AgNOR distribution in serous tumors of the ovary, *Pathologica* 1990; 82(1081):487-492.
14. Criscuola M. et al. Prognostic significance of nucleolar organizer regions in ovarian epithelial tumors. *I J Gynecol Pathol* 1993; 12(3):259-263.
15. Delahunt B, et al. Proliferation of renal cell carcinoma Assessed by fixation - resistant polyclonal Ki-67 antibody labeling, *Cancer* 1995;75(11):2714-2717.
16. Takahashi H, et al. Estimation of silver binding proliferative disorders of gastrointestinal tract, *Path Res Pract* 1994; 190:350-361.
17. Korkolopoulou P, et al. Proliferating cell nuclear antigen and nucleolar organizer regions in CNS tumors: Correlation with histological type tumor grade. *Am J Surg Pathol* 1993;17(9):912-919.
18. Niwa K, et al. Silver stained nucleolar organizer regions in the normal, hyperplastic and neoplastic endometrium. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1991; 419:493-497.
19. Coumbe A, Mills BP, Brown CL, Nucleolar organizer regions in endometrial hyperplasia and neoplasia, *Pat Res Pract* 1990; 186:254-259.
20. Nielsen AL, Nyholm HCL. Proliferating cell nuclear antigen in endometrial adenocarcinomas of endometrioid type correlated with histologic grade, stage, previous hormonal treatment and survival. *Hum Pathol* 1993;24:1003-7.