

Endometrial Adenokarsinomlarda p53 Protein (Tümör Baskılayıcı Gen) Ekspresyonu ve Grade ile ilişkisi

Dr. Sema Zergeroğlu*, Dr. Tayfun Güngör**, Dr. Oya Gökmen**

ÖZET

p53 tümör süpresör geni 17. kromozomun kısa kolunda p13 gen bölgesinde bulunur, hücrede proliferasyonu düzenleyen 53 KD'luk bir nükleer proteini kodlar. Bu protein hücrenin S fazına girmesini engeller. p53 tümör baskılayıcı geninin mutasyon ya da delesyonu birçok tümör lezyonun görülme sıklığını artırmaktadır.

Kadınlarda postmenopozal dönemde en sık gözlenen kanser endometrial adenokarsinomdur. Bu çalışmada 36 endometrial adenokarsinomlu olguda; artan hücresel proliferasyonla birlikte p53 protein ekspresyonunu göstermek istedik. Grade I 11 olgunun 3'ü, grade III 14 olgunun 8'i pozitif boyandı. Bütün pozitif olguların negatiflere oranı %44 olarak bulundu; endometrial adenokarsinomlarda artan grade ile anlamlı artan p53(+) liği gözlemlendi ($p < 0.05$).

Anahtar kelimeler: Endometrium, adenokarsinoma, p53, immunohistokimya.

GİRİŞ

p53 tümör baskılayıcı geni 17. kromozomun kısa kolunda lokalizedir (1), p53 gen ürününü intrasellüler yoğunluğu düşük ve yarı ömrü çok kısa olduğu için normal hücrelerde göstermek güçtür; p53 geni inaktive olduğunda hücrede transformasyona ve tümör gelişimine neden olarak bir onkogen gibi davranır. Mutasyona uğrayan gen ürününün yarı ömrü çok daha uzun olduğundan immunohistokimyasal olarak göstermek mümkün olmaktadır (1,4-9).

Post menopozal kadınlarda en sık görülen genital kanser endometrial adenokarsinomdur ve endometrial karsinomlarda tümörün prognozunu belirleyen parametreler grade, stage, vasküler invazyon, myometrial invazyondur (10,11). p53 protein ekspresyonunun iyi bir prognostik parametre olup olamayacağını ve endometrial adenokarsinom olgularında p53 protein ekspresyonunu ve bunun grade ile ilişkisini araştırmak istedik.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ekim 1995 - 1996 tarihleri arasında hastanemiz patoloji bölümünde tanı alan olgular arasından seçilen 36 endometrial adenokarsinom olgusu çalışma grubumuzu oluşturmaktadır. Endometrial hiperplazi nedeniyle opere edilen 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 önce rutin Hematoksilen Eosin (HE) boyası uygulanmış; ayrıca 4 µm lik yeni

SUMMARY

Expression of p53 protein (tumor suppressor gene) in endometrial adenocarcinomas and relation of grade

p53 tumor suppressor gene is located on the short arm of chromosome 17, at p13 gene region. It codes a 53 KD nuclear protein which regulates the cell proliferation this protein blocks the cells entering to phase S. Mutation or deletion of p53 tumor suppressor gene leads to increased prevalence of tumoral lesions.

Endometrial adenocarcinoma is the leading cancer in post menopausal women. In this study, we tried to show the p53 gene expression with the increase of cellular proliferation in 36 endometrial adenocarcinoma cases 3 of the 11 grade I, 5 of the 11 grade II, and 8 of the 14 grade III cases specimens were stained positive. The overall positive to negative ratio was 44 %. Increased p53 positivity was found significant with increasing grade in endometrial adenocarcinoma ($p > 0.05$).

Key words: Endometrium, adenocarcinoma, p53, immunohistochemistry.

kesitler yapılarak deparafinizasyon ve mikrodalga uygulamasından sonra anti - human mouse primer antikor kullanılarak intranükleer p53 (DO 72, monoklonal, DAKO, Denmark) ekspresyonu immunohistokimyasal olarak streptavidin-biotin alkalen fosfataz yöntemiyle araştırılmış, "fast red" kromojen olarak kullanılmıştır. Her olgu ve kontrol grubu için p53 protein ekspresyonu boyanma görülen hücrelerin oranlarına göre % 1-25 (+), % 26 - 50 (++), % 51 - 75 (+++) ve % 75 üzerindeki boyanmalar (+++++) olarak, boyanma şiddeti düşünüldüğünde boyanmanın olduğu alan %10'un altında ise az (+), % 10 - 50 ise orta (++), % 50 ve daha fazla ise yaygın (+++) olarak kabul edildi. Olgularımızda histolojik grade ve stage için FIGO nun önerdiği grade'leme sistemi esas alınmış; istatistiksel analiz için "Mantel Haenszel Khi Kare" testi kullanılmış ve $p < 0,05$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir. Boyanmanın şiddeti söz konusu olduğunda değerlendirmeye için "Kappa" testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Endometrial adenokarsinom tanısı alan 36 olgunun 11'i (% 30,55) grade I 11'i (% 30,55) grade II, 14'ü (% 34,90) grade III olarak değerlendirilmiştir (resim 1). Kontrol grubu olgularımızın 3'ü kistik glandüler hiperplazi (% 30), 3'ü fokal kistik glandüler hiperplazi (% 30), 4'ü ise Atipik adenomatöz hiperplazi (% 40) şek-

* Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Hastanesi Patoloji Bölümü, Ankara

** Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Hastanesi Kadın Doğum Bölümü, Ankara

linde tanı almıştır. Çalışma grubundaki olgularımızın en genç 46, en yaşlı 74 yaşındadır, ortalama yaş 56.8'dir. Kontrol grubunda ise en genç hasta 60, en yaşlı hasta 68 yaşındadır, ortalama yaş 62.1 dir.

36 karsinom olgumuzun 16'sında (% 44.4) pozitif nükleer boyanma vardı. Bunlardan 3'ü grade I, 5'i grade II, 8'i grade III olgumuzdu. Kontrol grubu olgularımızdan sadece 2'sinde nükleer boyanma vardı, her ikisi de "atipik adenomatöz hiperplazi" tanısı almıştı (Tablo I).

Çalışma grubundaki pozitif boyanan grade I' 3 olgunun 1'i (+) 2'si (++) (resim 2), grade II 5 olgunun 1'i (+), 3'ü (++) 1'i (+++), grade III 8 olgunun 1'i (+), 3'ü (++) 4'ü (+++) boyanma gösterirken; kontrol grubundaki 2 olgunun da (+) boyandığı gözlemlendi (tablo 2). Tablo I de görüldüğü üzere p53 (+) boyanma

Grade	Olgu Sayısı	%	p53 (+) olgu	%
I	11	30.55	3	37.2
II	11	30.55	5	45.5
III	14	34.90	8	56.4
Kontrol grubu	10	100	2	20.0

Tablo 1: Olgularımızda p53 (+) liği ve yüzde dağılım oranları

yüzdesi artan grade ile anlamlı artarken, (Mantel-Haenszel Khi Kare" $p < 0.05$) yaygın boyanma paterni sadece grade III lezyonlarda izlenmiş, grade II ve grade I de boyanma şiddetiyle grade arasında ilişki gözlenmemiştir ($p > 0.0467$).

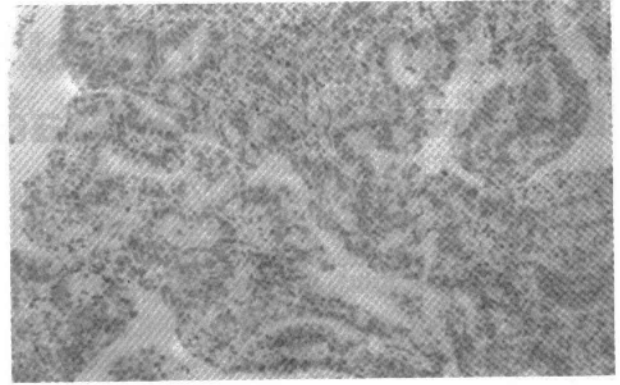
TARTIŞMA

Postmenopozal dönemde genital sistemde en sık görülen malign tümör endometrial adenokarsinomdur (1). A.B.D.'de yeni tanı koyulan 35000 endometrial tümörden yılda 3000 tanesi ölümlle sonuçlanmaktadır. Histolojik grade, stage, vasküler invazyon,

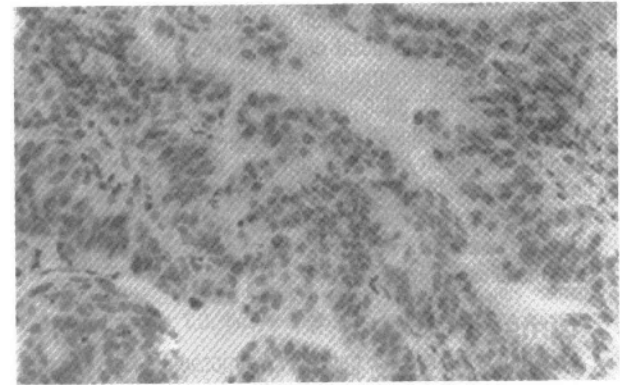
p53 boyanma şiddeti	Gr I	Gr II	Gr III
+	1	1	1
++	2	3	3
+++	-	1	4

Tablo 2 : Pozitif boyanan olguların boyanma şiddetlerine göre dağılımı metastaz, myometrial invazyon ve nekroz önemli prognostik parametreler arasındadır; grade artımı prognozu olumsuz yönde etkilemektedir (12).

p53 proteinini, normalde hücrede çok az oranda bulunmaktadır ve hücrenin normal gelişiminde fonksiyonu olmayan bir proteindir. Olağanüstü koşullarda p53 konsantrasyonu yükselmekte, hücrede proliferasyonu durmakta ve hücre S fazına girememektedir, G1 fazında durmakta yada apoptosis sonucu yok olmaktadır. p53 geni aynı zamanda genetik stabiliteyi de sağlamaktadır. p53 protein fonksiyonunun mutasyona bağlı olarak bozulduğu durumlarda hücrede



Resim 1 : Grade I endometrial adenokarsinom (HE, x100)



Resim 2 : Grade II endometrial adenokarsinomlu olgumuzda orta şiddette pozitif boyanma paterni (streptavidin - biotin peroksidad, x200)

büyüme ve çoğalmaya ait baskı ortadan kalkmakta, malignite görülmesi artmaktadır (13,14).

Bir çok tümöral lezyonda (akciğer, meme, kolon) yüksek oranda p53 (+) liğinin gösterilmesi ile kötü prognoz birlikteliği gösterilmiştir; yanısıra prostat karsinomlarında olduğu gibi düşük p53 immünreaktivitesi gösteren tümöral lezyonlarda prognozla ilgili kesin verilerin bulunmadığını gösteren araştırmalar da mevcuttur (7).

Reinartz ve arkadaşları, 128 endometrial karsinomlu olguda yaptıkları çalışmalarında stage I tümörlerde % 21, stage IV tümörlerde % 60 pozitiflik oranı; grade I tümörlerde % 4, grade III tümörlerde % 49 pozitiflik oranı bulmuşlardır. Ayrıca bu çalışmada adenokantom ve karsinosarkomlarda hiç boyanma yokken en fazla (+) boyanma yüzdesi adenokarsinomlarda gözlenmiştir (%21). Tüm tümöral lezyonlarda genel (+) boyanma oranı (128/37) % 29 şeklindedir. (12).

Parada ve arkadaşları, bazı embriyonik dokularda p53 düzeylerini araştırmışlar ve sonuçlarını rat embriyo fibroblastlarında ras protein 21 onkogen sonuçlarıyla karşılaştırmışlardır. 2 onkogen arasında kuvvetli bir korelasyonun yanısıra embriyonal dokularda p53 ekspresyonu oldukça yüksek düzeyde gözlenmiştir (15).

Berchuck ve arkadaşları, genital kanserlerde p53 düzeylerini primer endometrial adenokanserler de % 20 oranında, uterin sarkomlarda ise % 74 oranında gözlemişler; ve bu oranlar pozitif

peritoneal sitoloji, artmış stage, endoserviksın tutulumu şeklindeki diğer prognostik faktörlerle karşılaştırıldığında, p53 düzeylerinin diğerlerinden bağımsız bir prognostik faktör olabileceği belirtilmiştir (16).

Biz de çalışmamızda p53 (+) liğini % 44 oranında gözledik; stage, pozitif sitoloji ve metastaz dışında iyi bir indikatör olan grade ile ilişkisini araştırdık. Geisler ve arkadaşları, 46 endometrial kanser olgusunda p53(+) liğinin satge, grade, histolojik tip, lenfatik ve vasküler invazyon, peritoneal sitoloji ile karşılaştırmalı olarak çalışmışlar; toplam p53 (+) liğini % 45.7 oranında bulmuşlar, grade arttıkça artan pozitif boyanma oranı (grade I - % +1.31, grade III - 19.52) göstermişler; ayrıca myometrial invazyon, lenfatik tutulum ve satge ile p53 (+) liğini karşılaştırdıklarında direkt bir ilişki bulunmadığını gözlemişlerdir (17).

Bizim olgularımızda sadece 3 olguda myometrial invazyon mevcuttu ve bu olgulara lenfadenektomi uygulanmıştı. Bu olgulardan sadece 1'i (+) boyandı, 36 olgudan sadece 3 olgunun prognostik parametre incelenmesi için kullanılmasının doğru olmadığı düşüncesi ile bu üç olgunun bulguları istatistiksel olarak değerdendirilmeye alınmadı.

Bizim olgularımızda da artan grade ile artan (+) lik yüzdeleri bulunmuştur. Grade I olgularımız da % 27.2, grade II olgularımızda % 45.5 grade III olgularımızda % 56.4 oranında pozitif boyanma görülmüş, grade ile artan p53 ekspresyonu bulunmuştur.

Hurlimann, meme karsinomlu (duktal infiltratif karsinom) 196 vakalık çalışma grubunda p53 protein ekspresyonunu göstermeğe çalışmıştır. Grade arttıkça p53 (+) liği artmış (grade I % 29, grade III % 50) ayrıca 5 yıllık rekürrens ve ölüm yüzdeleri bu oranlarla

karşılaştırmış; düşük grade'li vakalarda oranı düşük bulurken yüksek grade'li vakalarda her iki parametrede de yüksek değerler bulunmuştur (18).

Genel anlamda bakınca bütün tümörlerde artan p53 ekspresyonu bulunmuştur. Bütün diğer literatür bulgularında olduğu gibi bizim olgularımızda da grade ile anlamlı artan kuvvetli pozitif boyanma dereceleri bulduk (grade I, III) (Tablo 2).

Vercellini ve arkadaşları, endometriosisli olgularda yaptıkları çalışmalarında şiddetli endometriosis olgularında p53 (+) liğini daha yüksek oranda bulmuşlardır (19). Bu da hormon bağımlı dokularda ve olağan dışı durumlarda p53 düzeylerinin artmasını destekleyen diğer çalışmalara bir örnektir (19).

Swisher ve çalışma arkadaşları, uterin malign mikst mezodermal tümör ve adenosarkomlarda p53 protein varlığını araştırmışlar ve p53 ekspresyonunu artan stage ile artan oranlarda göstermişlerdir (20).

Olgularımızda p53 boyanma şiddetini değerlendirdiğimizde pozitif boyanan grade I olan 3 olgumuzun 1'i (+) boyanırken, 2'si (+ +) boyanmıştır. Grade I olgularımız içinde (+ + +) boyanma izlenmemiştir. Grade II olgularımızda ise en çok boyanma yüzdesi (+ +) lik gösteren 3 olguda bulunmuştur. Grade III olgularımızdan (+ +) boyanan 3 olgu ve (+ + +) boyanan 4 olgu, (+) 1 olgu mevcuttur. Grade I ve III arasında (+) lik açısından ilişki vardır ancak artan grade ile artan şiddetli boyanma arasında 3 grade söz konusu olduğunda ilişki saptanmamıştır.

İleride yapılacak çalışmalar ile bu konuda daha çok bilgi edinilebileceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 1991; 351: 453-6.
2. Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ. The p53 protooncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell* 1989; 57: 1083-93.
3. Iggo R, Gatter K, Bartek J, Lane D, Harris AL. Increased expression of mutant forms of p53 onkogen in primary lung cancer. *Lancet* 1990; 335: 675-679.
4. Isobe M, Emanuel BS, Givol D, Oren M, Croce Cm. Localization of gene for human p53 tumour antigen to band 17p13. *Nature* 1986; 320: 84-85.
5. Nigro JM, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 1989; 342: 705-708.
6. Porter PL, Gown AM, Kramp SG, Coltrera MD. Widespread p53 overexpression in human malignant tumors. *Am J Pathol* 1992; 140: 145-153.
7. Thomas DJ, et al. p53 expression and clinical outcome in prostate cancer. *Br J Urol* 1993; 72: 778-781.
8. Bitterman P, Chun B, Kurman RJ. The significance of epithelial differentiation in mixed mesodermal tumors of the uterus. *Am J Surg Pathol* 1990; 14(14): 317-328.
9. Iverson EO. Flow cytometric deoxyribonucleic acid index: A prognostic factor in endometrial carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 155: 770-776.
10. Geisinger KR, Homesley HD, Morgan TM, Kute TE, Marshall RB. Endometrial adenocarcinoma (A multiparameter clinicopathologic analysis including the DNA profile and sex steroid hormone receptors). *Cancer* 1986; 58: 1518-1525.
11. Hanson MB, et al. The prognostic significance of lymph - vascular space invasion in stage I endometrial cancer, *Cancer* 1985; 55: 1753-1757.
12. Reinartz JJ, George E, Lingren BR, Niehans GA. Expression of p53, Transforming growth factor alpha, epidermal growth factor receptor, and c-erb B2 in endometrial carcinoma and correlation with survival and known predictors of survival. *Hum Pathol* 1994; 25: 1075-1083.
13. Birell GW, Ramsay JR. Induction of p53 protein by gamma radiation in lymphocyte lines from breast cancer and ataxia telangiectasia patients. *Cancer Res* 1995; 72: 096-1110.
14. Xia F, Wang X, Tsang NM. Altered p53 status correlates with differences in sensitivity to radiation - induced mutation and apoptosis in two closely related human lymphoblast line *Cancer Res* 1995; 55: 12-15.
15. Parada LF, Land H, Weinberg RA, Wolf D, Rotter V. Cooperation between gene encoding p53 tumour antigen and ras in cellular transformation. *Nature* 1984; 313 (13): 649-651.
16. Berchuck A, et al. The p53 tumor suppressor gene frequently is altered in gynecologic cancers. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 246-252.
17. Geisler JP, Wieman MC, Zhou Z, Miller GA, Geisler HE. p53 as a prognostic indicator in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 1996; 61: 245-248.
18. Hurlimann J. Prognostic value of p53 protein expression in breast carcinomas. *Path Res Pract* 1993; 189: 996-1003.
19. Vercellini P et al. Analysis of p53 and ras gene mutations in endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 1994; 38: 70-71.
20. Swisher EM, et al. The expression of epidermal growth factor receptor, HER-2/Neu, p53 and Ki-67 antigen in uterine malignant mixed mesodermal tumors and adenosarcoma. *Gynecol Oncol* 1996; 60: 81-88.