

Prostat adenokarsinomlarında Ki-67 ve p53 ün derecelendirmedeki önemi

The importance of Ki-67 and p53 in grading prostate adenocarcinoma

İlyas Özardalı¹, Arzu Sizgen¹, Muhammet Emin Güldür¹, Ayhan Verit², Halil Çiftçi²

¹ Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı

² Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı

Yazışma adresi:

Doç. Dr. İlyas Özardalı, Harran Üniversitesi Yenişehir Kampüsü Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı 63300 Yenişehir- Şanlıurfa. Tel: 0 414 3182429, E-mail: ozardali@harran.edu.tr

Özet

Amaç: Bu çalışmada, prostat adenokarsinomlarında P53 ve Ki-67 immunreaktivitesinin bu tümörleri gradelendirmede yararlı bir etkisinin olup olmayacağını araştırmayı amaçladık.

Materyal ve metod: Bu çalışmada, 2004-2009 yılları arasında Patoloji Anabilim Dalında prostat adenokarsinomu tanısı almış 64 olgu incelenmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda tüm olgular p53 ve Ki-67 markırları ile değerlendirmeye alındı. P53 ile yapılan çalışmada 64 olgudan 8 tanesinde pozitiflik saptanmış olup, genel pozitiflik oranı % 12,5'dir. İyi ve orta diferansiye olgularda boyanma izlenmezken, az diferansiye olguların % 27,6'sında pozitiflik saptandı. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda p53 ile tümör diferansiyasyonu arasında anlamlı bir ilişki bulundu (p=0,001). Ki-67 ile yapılan çalışmada sadece 4 olguda pozitiflik saptanmış olup, genel pozitiflik oranı % 6,25'tir. Pozitiflik az diferansiye olgularda izlendi. Ki-67 boyanma ile diferansiyasyon arası ilişki istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,036).

Sonuç: Çalışmamızda, yüksek gradeli prostat karsinomu olgularında Ki-67 ve p53 ile boyanma saptandı. Diğer olgularda her iki markır da negatif bulundu. Bu markırların diğer parametrelerle birlikte çalışıldığında, tümör grade'ini belirlemede faydalı olabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Prostat, adenokarsinom, immunhistokimya, P53, Ki-67

Abstract

Background: In this study, we aimed to investigate whether there is a beneficial effect of P53 and Ki-67 immunoreactivity in grading prostate adenocarcinomas

Methods: In this study, we investigated 64 cases diagnosed with prostate carcinoma between 2004-2009 in the Pathology Department.

Results: In our study, All the cases were examined with p53 and Ki-67 markers. In the study done with p53, of 64 cases, 8 had positivity and the general positivity percentage was 12,5%. No staining was observed in well and moderate differentiated cases while positivity was seen in 27,6% of poor differentiated cases. As the result of statistical analysis, a significant correlation was observed between p53 and tumour differentiation (p=0,001). As for the Ki-67 study, only 4 cases had positivity and general positivity was 6,25%. Positivity was seen in poorly differentiated cases. The correlation between Ki-67 staining and differentiation was statistically significant (p=0,036).

Conclusions: In our study, staining was found with Ki-67 and p53 in high grade prostate carcinoma. Both markers were negative in the other cases. It is concluded that, when these markers are studied along with other parameters, they can be useful in determining tumour grade.

Key words: Prostate, adenocarcinoma, immunohistochemistry, P53, Ki-67.

Giriş

Prostat karsinomu erkeklerde en sık görülen iç organ kanseridir ve kanser ölümlerinde akciğer kanserinden sonra ikinci sırayı alır. Her yıl tanı alan prostat karsinomlu hasta sayısı artmaktadır. 2004 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde 230.110 yeni vaka bildirilmiştir (1). Vakaların çoğunluğu otopsi materyallerindeki yapılan çalışmalarda veya başka bir nedenle alınan cerrahi doku örneklerinde tesadüfi olarak saptanmaktadır (2).

Prostat karsinomu görülme sıklığı yaşla birlikte artmaktadır. Tipik olarak 50 yaş üstü erkeklerin hastalığıdır. Klinikte yapılacak çeşitli incelemeler, hastaların prostat kanseri açısından değerlendirilmesinde faydalı olmasına rağmen, şüpheli olgularda prostat kanserinin kesin tanısı prostat iğne biopsisi örneklerinin patolojik incelenmesi ile yapılmaktadır. Patolojik incelemede tümör tanısının yanında, diğer prognostik bazı parametrelerin ve tümörün gradelemesi de yapılabilmektedir (2,3).

Prostat karsinomu ve benign prostat lezyonlarının ayırımında kimi olgularda rutinde uygulanan hematoksil-eozin boyaması ile yapılan histopatolojik inceleme yetersiz kalmaktadır. Bu olgularda son yıllarda çeşitli markırlarla yapılan immunhistokimyasal inceleme yaygın olarak rutinde kullanılmaya başlanmıştır. Bunların içinde en yaygın kullanılanlar yüksek moleküler ağırlıklı keratin, P63 ve Alfa Metilaçil Coa Rasemazaraz (AMACR) dir. Bu markırların yanında literatürde prostat karsinomunun benign prostatik lezyonlardan ayırımında değerli olabileceği düşünülen çeşitli markırlarla çok sayıda çalışma yapılmıştır (2-4).

Prostat karsinomlarında literatürde tümör volumu, klinik stage, lokal invazyon, hücre proliferasyonu, p53, histolojik grade gibi çok sayıda prognostik parametre bildirilmiştir. Bunların içinde en önemlilerinden birisi histolojik grade (tümör diferansiyasyonu) dir. Günümüzde prostat kanserlerinin gradelendirilmesinde yaygın olarak Gleason sistemi kullanılmaktadır (2,3,5-7).

Ki-67, ilk defa 1983'te Gerdes ve arkadaşları tarafından nükleer proliferasyon belirleyicisi olarak tanımlanmıştır ve kortikal timosit, ince bağırsağın kript hücreleri gibi proliferen hücrelerde izole edilmiştir (8). Hücre proliferasyonunun morfolojik özelliklerini iyi gösteren bir protein olan Ki-67 ile mitoz sayısı arasında genellikle korelasyon vardır (3). Ki-67'nin çeşitli malign tümörlerde ve prekanseröz lezyonlarda prognostik önemi bugün oldukça iyi bilinmektedir (9,10).

P53 geni gen stabilitesinin sürdürülmesi, apoptozis ve hücre siklus kontrolünde rolü olan nükleer bir proteindir. İnsan kanserlerinde en sık değişikliğe uğrayan tümör baskılayıcı gen olup, kromozom 17p13.1 bölgesinde lokalizedir. P53 mutasyonları kolon, meme ve akciğer kanseri gibi organ karsinomlarında % 50 ve daha yüksek oranda görülür. Ayrıca sarkomlar, lösemi ve santral sinir sistemi tümörlerinde de sık olarak rastlanır (2,11).

Bu çalışmada, prostat adenokarsinomlarında Ki-67 ve p53'ün immunhistokimyasal ekspresyonlarının gradelemedeki önemini göstermeyi amaçladık.

Materyal ve metod

2004-2009 yılları arasında prostat adenokarsinomu tanısı alan 64 olgu araştırma kapsamına alındı. Arşiv taraması yapılarak bu olgulara ait blok ve camlar çıkarıldı. Gerekli görülenler için bloklardan yeniden kesitler alınıp hematoksil-eozin ile boyama yapıldı. Olgulara ait hematoksil-eozin boyalı lamlar tekrar değerlendirilerek, olgular Gleason skoruna göre yeniden sınıflandırılarak üç gruba ayrıldı. Dünya

Sağlık Örgütü'nün önerdiği şekilde, Gleason skoru 2-4 olanlar iyi diferansiye, Gleason skoru 5-6 olanlar orta diferansiye ve Gleason skoru 7-10 olanlar az diferansiye olarak kabul edildi. Ayrıca, bu işlem sırasında immunhistokimyasal inceleme için her olgudan tümöre ait primer ve sekonder paternleri içeren bir adet uygun parafin blok belirlendi.

Olgulardan immunhistokimyasal çalışma için ayrılmış olan parafin bloklardan 4 mikron kalınlıkta iki adet kesit alınarak, bu kesitler Ki-67 (NeoMarkers. Katalog no: RM-9106-R7) ve p53 (NeoMarkers. Katalog no: MS-738-R7) ile boyandı. P53 ve Ki-67 için pozitif kontrol olarak infiltratif meme karsinomu olgusu kullanıldı.

Tüm olgular, Olympus marka BX51 mikroskopta primer ve sekonder paterne sahip tümör alanları incelenerek değerlendirildi. Tümör hücrelerinin nükleuslarında boyanma, p53 ve Ki-67 antijenin pozitifliği için kriter olarak kullanıldı. Tümör hücrelerinde % 5 'in üzerindeki nükleer boyanma pozitif kabul edildi. Tümör hücre çekirdeklerinde % 5 den az nükleer boyanma gösteren olgular ise negatif olarak değerlendirildi.

Kullanılan iki farklı primer antikor için ayrı ayrı olmak üzere, immunhistokimyasal incelemede alınan sonuçlar ile Gleason skoruna göre yapılmış olan gruplar arasındaki korelasyon incelendi. Mevcut verilerin analizi, SPSS 11 paket programında Chi-Square testi kullanılarak değerlendirildi. P<0,05 değerler anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Gleason skoruna göre yapılan değerlendirmede olgularımızın 2'si iyi diferansiye (%3,1), 33'ü orta diferansiye (% 51,6) ve 29'ü az diferansiye (%45,3) olarak belirlendi.

P53 ile yapılan immunhistokimyasal incelemede 64 olgudan 8 tanesinde pozitiflik saptanmış olup, genel pozitiflik oranı % 12,5'dir (Resim 1).

P53 ile immunhistokimyasal yöntemle pozitif boyanan vakaların tümü az diferansiye olup, bu gruptaki pozitiflik oranı % 27,6'dır. İyi ve orta diferansiye vakalarda ise p53 ile boyanma saptanmadı (Tablo 1). Yapılan istatistiksel analiz sonucunda p53 pozitifliği ile diferansiyasyon arasında anlamlı bir ilişki bulundu (p=0,001).

Ki-67 ile yapılan immunhistokimyasal çalışmada ise, 64 olgudan 4 tanesinde pozitiflik saptanmış olup, genel pozitiflik oranı % 6,25'dir (Resim 2).

Ki-67 pozitif olgular diferansiyasyon derecesine göre sınıflandırıldığında, iyi ve orta diferansiyasyon derecesine sahip olgularda boyanma izlenmezken, az diferansiye 29 olgunun 4 tanesinde boyanma izlendi (Tablo 2). Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, Ki-67

pozitifliği ile diferansiyasyon dereceleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p=0,036$).

Tartışma

Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen organ kanseridir. Kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer alır ve kansere bağlı ölümlerin % 10'unu oluşturur (2). 2005 yılı Amerikan Kanser Birliği istatistiklerine göre, 2004 yılında Amerika'da 230.110 yeni vaka bildirilmiştir. Aynı yılda prostat kanserinden ölen erkek sayısı 29.000 olup, kanser ölümlerinin ikinci sırasında yer almaktadır (1). Gelişmiş ülkelerde prostat kanseri görülme oranı % 15,3 iken, gelişmekte olan ülkelerde bu oran % 4,3'tür (12).

Görülme sıklığı yaşla birlikte artmaktadır. Prostat kanseri tanısı almış erkeklerin % 75'i 65 yaş ve üzerindedir. Fakat bu tümör genç yetişkinlerde hatta çocuklarda bile gözlenebilir. Yapılan otopsi çalışmaları sonucunda 50 yaşın üzerindeki erkeklerin % 15-30'unda ve 80 yaşın üzerindeki erkeklerin % 60-70'inde prostat kanseri saptanmıştır (2,3).

Prostat kanserinin histolojik gradelemesinde günümüzde Gleason gradeleme sistemi kullanılmaktadır. Gleason sistemi mikroskopik olarak küçük büyütmelerde izlenen glandüler patern ve büyüme paterninin stroma ile ilişkisi temelinde dayanır. Diğer sistemlerden farklı olarak sitolojik özellikler değerlendirilmeye alınmaz. Gleason skorlamasında tümörde farklı diferansiyasyon derecesine sahip en sık görülen iki alan (primer ve sekonder paternler) belirlenir ve bu alanlar 1'den 5'e kadar derecelendirilir. Tesbit edilen bu değerler toplanarak Gleason skoru elde edilir (3, 7, 13). Skor arttıkça tümörün kapsül dışına yayılımı, vezikula seminalis ve pelvik lenf nodu tutulum olasılığı artmaktadır; dolayısıyla hastanın sağ kalım oranı kısılmaktadır (6,7).

P53 proteininin birçok kanserde varlığı gösterilmiştir. Akciğer, kolon, meme kanserleri de dahil olmak üzere birçok kanserde p53 gen aktivitesinde homozigot kayıp bulunur (2).

Genel olarak diğer malignitelere olduğu gibi, prostat kanserinde de tümör derecesi önemli bir parametredir. Geniş hasta gruplarında yapılan çalışmalarda Gleason skorunun iyi bir prognostik parametre olduğuna dikkat çekilmektedir (3).

Prostat karsinomlarında p53 immunreaktivitesi ile Gleason skorunu araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda Van Veldhuizen ve arkadaşları % 79, Çelikel ve arkadaşları % 30, Thompson ve arkadaşları % 17, Brooks ve arkadaşları % 17, Bookstein ve arkadaşları % 12,7, Kılınç ve arkadaşları ise % 15 oranında p53

pozitifliği bildirmişlerdir. Bu serilerde ayrıca, pozitiflik gösteren olguların büyük çoğunluğunun az diferansiyasyon olduğu dikkat çekmektedir (4,14-17). Çalışmamızda iyi ve orta derecede diferansiyasyon olgularda p53 ekspresyonu izlenmezken, az diferansiyasyon olgularda ise % 27,6 oranında pozitiflik saptanmıştır. Olgularımızda ayrıca genel olarak literatürle uyumlu bir şekilde %12,5 oranında p53 ekspresyonu tesbit edilmiştir. Ancak bu bulgular, Van Veldhuizen ve arkadaşları ile Çelikel ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmaların sonuçları ile çelişmektedir. Çalışma serileri arasındaki bu farklılığının literatürde de belirtildiği üzere olgu seçimi, materyallerin çeşitliliği (TUR, RP, iğne biopsisi), uygulanan primer antikör ve immunhistokimyasal yöntemlerin farklılığı ve özellikle olguların farklı çalışmalarda, Gleason skoruna göre farklı şekilde gruplandırılmasına bağlamaktayız (4,14).

Ki-67 ilk defa 1983'te Gerdes ve arkadaşları tarafından tanımlanan, yaygın kullanılan hücre proliferasyon belirleyicisidir. Hücre siklusunun bütün aktif fazlarında ekspresyon edilir; istirahat halinde olan hücrelerde gözlenmez (8, 18, 19). Ki-67 pozitif hücrelerin fraksiyonu ile tümörlerin klinik gidişi arasında genellikle pozitif bir korelasyon vardır. Birçok kanserde prognoz belirleyici olarak kullanılmaktadır (20, 9, 10).

Prostat adenokarsinomlarında Şahan ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, Ki-67 immunreaktivitesi ile tümör diferansiyasyonu arasında anlamlı bir ilişki izlenmemiş, ancak Ki-67 immunreaktivitesi ile tümörlerin evresi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (21). Khatami ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise, Ki-67 yüzdesi ile Gleason derecesi arasında güçlü bir korelasyon tesbit edilmiştir (22). Bantis ve arkadaşlarının sitolojik örnekleri içeren çalışmalarında da grade ile Ki-67 proliferasyon indeksi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (23). Çalışmamızda iyi ve orta diferansiyasyon olgularda Ki-67 ekspresyonu izlenmezken, az diferansiyasyon olgularda pozitiflik saptanmıştır. Yaptığımız istatistiksel analizde literatürle uyumlu olarak, Ki-67 ekspresyonu ile Gleason skoru arasında anlamlı bir ilişki tesbit edilmiştir ($p=0.036$).

Çalışmamızda, prostat adenokarsinomlarında Ki-67 ve p53 pozitifliği ile diferansiyasyon arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Ki-67 ve p53 pozitifliği saptadığımız olguların tamamı az diferansiyasyondur. Prostat karsinomu olgularında Ki-67 ve p53'ün immunhistokimyasal ekspresyonlarının diğer parametrelerle beraber değerlendirildiğinde, özellikle az diferansiyasyon olgularının belirlenmesinde faydalı olabileceği kanaatine varılmıştır.

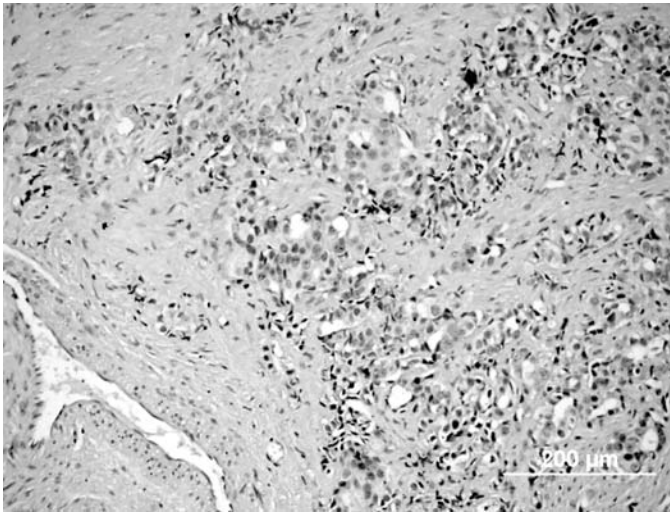
Tablolar

Tablo 1. p53 pozitif olguların diferansiyasyona göre dağılımı

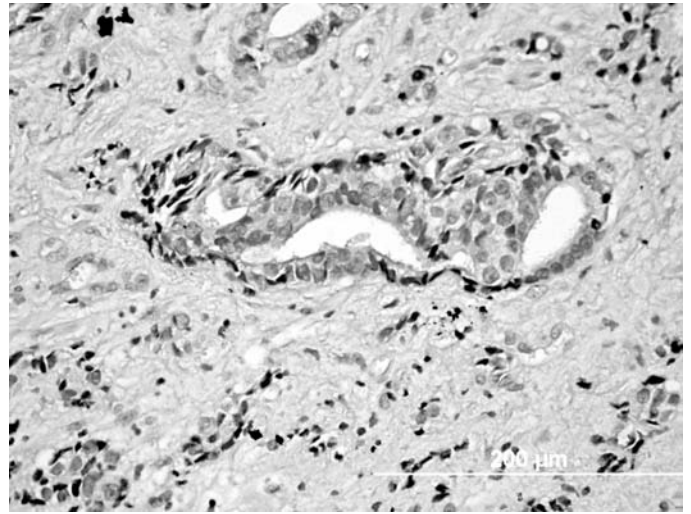
Boyama sonucu	İyi diferansiye	Orta diferansiye	Az diferansiye	Toplam
Negatif	2	33	21	56
Pozitif	0	0	8	8
Toplam	2	33	29	64

Tablo 2. Ki-67 pozitif olguların diferansiyasyona göre dağılımı

Boyama sonucu	İyi diferansiye	Orta diferansiye	Az diferansiye	Toplam
Negatif	2	33	25	60
Pozitif	0	0	4	4
Toplam	2	33	29	64



Resim 1. Az diferansiye prostat adenokarsinomunda p53 ile (+) boyanma (x200)



Resim 2. Az diferansiye prostat adenokarsinomunda Ki-67 ile (+) boyanma (x400)

Yazarlarla ilgili bildirilmesi gereken konular (Conflict of interest statement) : Yok (None)

Kaynaklar

- 1) Jemal A, Tiwari RC, Murray T. Cancer Statistics. CA Cancer J Clin. 2004; 54(1): 8-29.
- 2) Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Seventh ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005; 1024-1058.
- 3) Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. Ninth ed. New York: Mosby, 2004; 65, 1361-1411, 2817.
- 4) Çelikel A, Kaya H. Prostat adenokarsinomunda p53 ekspresyonu: Histopatolojik parametreler ve apoptoz ile ilişkisi. The Turkish Journal of Pathology. 2000; 16(1-2): 53-56.
- 5) Bostwick GD, Grignon D, Hammond E. Prognostic factors in prostate cancer. Arch Pathol Lab Med. 2000; 124: 995-1000.
- 6) Van Brussel JP, Mickisch GJ. Prognostic factors in prostate and testis cancer. BJU International. 1999; 83: 910-917.
- 7) Humphrey P. Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. Mod Pathol. 2004; 17: 292-306
- 8) Ross W, Hall PA. Ki-67: From antibody to molecule to understanding? J Clin Pathol: Mod Pathol. 1995; 48: 113-117.
- 9) Koda M, Sulkowski S, Kanczuga-Kuda L. Expression of ER alpha, ER beta and Ki-67 in primary tumors and lymph node metastases in breast cancer. Oncol Rep. 2004; 11: 753-759.
- 10) Claudio P, Zamparelli A, Claudio L. Expression of cell-cycle-regulated proteins pRb2/p130, p107, p27, p53, mdm-2 and Ki-67 (MIB-1) in prostatic gland adenocarcinoma. Clinical Cancer Research. 2002; 8: 1808-1815.
- 11) Özdemir E. Ürotelyal karsinogenezin anlaşılmasında p53 anahtar. T Klin Tıp Bilimleri. 1998; 18: 277-284
- 12) Ramon J, Denis J. Prostate Cancer. Berlin: Springer, 2007; 1-8.
- 13) Mills ES, Carter D, Reuter V. Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology. Fourth ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004; 2083-2132.
- 14) Kılınc N, Yıldız M, Yılmaz F. Prostat adenokarsinomlarında p53 immunoreaktivitesi ile Prostat Spesifik Antijen, Gleason skoru ve evre ilişkisi. T Klin Tıp Bilimleri. 1999; 1: 315-319.
- 15) Bookstein R. P53 mutated in a subset of advanced-stage prostate cancers. J Cancer Research. 1993; 53: 3369-3373.
- 16) Van Veldhuizen PJ, Sadasivan R, Garcia F, Austenfeld MS, Stephens RL. Mutant p53 expression in prostate carcinoma. Prostate. 1993; 22(1):23-30.
- 17) Brooks JD, Bova GS, Ewing CM, Piantadosi S, Carter BS, Robinson JC, Epstein JI, Isaacs WB. An uncertain role for p53 gene alterations in human prostate cancers. Cancer Res. 1996 Aug 15; 56(16):3814-22.
- 18) Li R, Heydon K. Ki-67 staining index predicts distant metastasis and survival in locally advanced prostate cancer treated with radiotherapy. Clinical Cancer Research. 2004; 10: 4118-4124.
- 19) Gerdes J, Scholzen T. The Ki-67 protein: From the known and the unknown. J Cell Physiol. 2000; 182(3): 311-322.
- 20) Zbell P, Stapleton A, Kattan M. Assessment of the biologic markers p53, Ki-67 and apoptotic index as predictive indicators of prostate carcinoma recurrence after surgery. Am Cancer Society. 1998; 82: 168-175.
- 21) Şahan E, Tetikkurt ÜS, Balcı C. Prostatik asiner adenokarsinomda p53 ve bcl-2 ekspresyonları ile Ki-67 proliferasyon indeksinin değerlendirilmesi, histopatolojik ve klinik prognostik faktörlerle ilişkisi. Türk Üroloji Dergisi. 2003; 29(3): 250-257.
- 22) Khatami A, Hugosson J, Wang W. Ki-67 in screen-detected, low-grade, low-stage prostate cancer, relation to prostate specific antigen doubling time, Gleason score and prostate-specific antigen relapse after radical prostatectomy. Scandinavian Journal of Urology and Nephrology. 2009; 43: 12-18
- 23) Bantis A, Giannopoulos A, Gonidi M, Liossi A, Aggelonidou E, Petrakakou E, Athanassiades P, Athanassiadou P. Expression of p120, Ki-67 and PCNA as proliferation biomarkers in imprint smears of prostate carcinoma and their prognostic value. Cytopathology. 2004 Feb; 15(1):25-31.