

Benign ve Malign Ovarian Lezyonlarda Mutant p53 Geni İnsidansı ve Prognostik Değeri

INCIDENCE AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF MUTANT p53 GENE IN BENIGN AND MALIGNANT LESIONS OF THE OVARY

Ercüment MÖNGEN*, A. Aktuğ ER EKİN*, Yusuf Ziya YERGÖK**,
A. Rüştü ERGÜR***, Aykut GÜLER*, Şükrü YILDIRIM*

* Uz. Dr., GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği

** Doç. Dr., GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği

*** Yrd. Doç. Dr., GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Patoloji Kliniği, İSTANBUL

ÖZET

Amaç: Benign ve malign ovarian lezyonlarda mutant p53 geni insidansını ve prognostik önemini araştırmak.

Çalışmanın yapıldığı yer: Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ve Patoloji Kliniği, İstanbul.

Materyal ve Metod: Otuziki malign over tümörü, 8 benign over tümörü, 4 fonksiyonel over kisti ve 10 normal over dokusu olmak üzere toplam 54 olguda parafinize doku bloklarından hazırlanan kesitlerde İmmünohistokimyasal yöntemle mutant p53 geni proteininin varlığı araştırıldı. Over kanseri olgularında mutant p53 gen proteininin varlığı ile evre, peritoneal sitoloji ve yaşam süreleri arasındaki ilişki araştırıldı.

Bulgular: Otuziki over kanseri olgusunun 16'sında (% 50) mutant p53 proteini için immün boyanma saptanırken, benign over dokularının hiçbirinde mutant p53 gen proteini saptanmadı; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$). Erken evre (I ve II) ve ileri evre (III ve IV) over kanserlerinde p53 proteini dolayısı ile p53 mutasyonu görülme sıklığı yönünden anlamlı farklılık olmamakla ($p > 0.05$) birlikte, p53 gen mutasyonu saptanan olguların tümü evre ile ve daha ileri evre kanserlerdi. Over kanseri olgularında p53 gen mutasyonu ile peritoneal sitoloji veya yaşam süreleri arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p < 0.05$).

Sonuç: p53 gen mutasyonları sadece malign over tümörlerinde oluşmaktadır. Over kanserlerinde p53 gen mutasyonlarının araştırılması, prognostik bir değer taşımamaktadır.

Anahtar kelimeler: Over tümörü, p53.

T Klin Jinekoloj Obst 1996,6: 339-342

SUMMARY

Objective: To determine the incidence and prognostic significance of mutant p53 gene in benign and malignant lesions of the ovary.

Institution: Gülhane Military Medical Academy Haydarpaşa Training Hospital, Departments of Obstetrics and Gynecology and Pathology, İstanbul.

Materials and Methods: We examined mutation of the p53 gene in paraffin-embedded tissues from 32 ovarian cancers, 8 benign tumors of the ovary, 4 functional ovarian cysts and 10 normal ovaries with Immunohistochemical technique. The relation of p53 mutation to stage, peritoneal cytology and survival was investigated in ovarian cancers.

Results: Immunostaining for mutant p53 protein was detected in 16 (50 %) of 32 ovarian cancers, whereas there was no detectable staining in any of the 22 benign tissues; the difference was statistically significant ($p < 0.05$). Although the incidence of p53 immunostaining in patients with advanced stage ovarian cancer (stages III and IV) was not statistically different than that in patients with early-stage disease (stages I and II), all the patients with ovarian cancer showing p53 immunoreactivity had stage I or more advanced disease. There was no relationship between p53 immunoreactivity and survival or peritoneal cytology in ovarian cancers ($p > 0.05$).

Conclusion: Mutation of the p53 gene is seen in only malignant ovarian lesions. p53 gene mutation does not have any prognostic significance in patients with ovarian cancer.

Keywords: tumor of the ovary, p53.

T Klin J Gynecol Obst 1996, 6: 339-342

Son yıllarda yapılan çalışmalar, kanser gelişiminde bazı genlerin ve genetik değişikliklerin rol oynadığını ortaya koymuştur. Bu genler, onkogenler, tümör süpresör genler ve mutator genler olmak üzere 3 grupta toplanmaktadır (1-6). Kanserle ilişkili en yaygın genetik değişikliğin, bir tümör süpresör gen olan p53 geni mutasyonu olduğu bildirilmektedir (3, 4, 6). Serviks, vulva ve vagen kanserlerinde seyrek olmakla birlikte (4), özellikle ileri evre ovarian ve endometrial adenokarsinomlarda p53 gen mutasyonuna sıklıkla rastlanmaktadır (5, 7-11). Ancak p53 gen mu-

Geliş Tarihi: 09.04.1996

Yazışma Adresi: Dr. Ercüment MÖNGEN

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa
Eğitim Hastanesi Kadın Hast. ve Doğum KIL,
81327, Kadıköy-İSTANBUL

Tablo 1. Olguların histolojik tanılarına göre dağılımı.
Table 1. Distribution of patients by histologic diagnosis.

Histolojik tanı	Olgu sayısı	
	n	%
Normal over	10	18.5
Benign ovarian lezyon		
Nonneoplastik		
Basit seröz kist	4	7.4
Neoplastik		
Müsinöz kistadenom	3	5.6
Seröz papiller kistadenom	1	1.8
Seröz kistadenofibrom	2	3.7
Matür kistlik teratom	2	3.7
Over kanserleri		
Seröz kistadenokarsinom	17	31.5
Müsinöz kistadenokarsinom	3	5.6
Endometrioid adenokarsinom	2	3.7
Malign Brenner tümörü	4	7.4
Malign mlkst müllerian tümör	3	5.6
Gonadoblastoma	1	1.8
Granüloza hücreli tümör	2	3.7

tasyonunun prognostik bir değer taşıyıp taşımadığı konusu tartışmalıdır.

Çalışmamızın amacı ucuz ve kolay bir yöntem olan immünohistokimyasal metod ile benign ve malign ovadan dokularda mutant p53 geni ürünü olan proteinlerin varlığını araştırmak ve over kanserlerinde p53 gen mutasyonu ile prognoz arasında ilişki olup olmadığını belirlemektir.

MATERYAL VE METOD

Otuziki (% 59.3) malign over tümörü, 8 (% 14.8) benign over tümörü, 4 (% 7.4) fonksiyonel over kisti ve 10 (% 18.5) normal over dokusu olmak üzere toplam 54 olgu çalışma kapsamında incelendi. Olguların histolojik tanılarına göre dağılımı Tablo.1 de görülmektedir.

Benign over tümörü ve fonk' ;Onel kistlerde frozen sonucu da dikkate alınarak her hastanın yaşına göre cerrahi yaklaşım yapıldı. Malign over tümörü olgularında total abdominal histerektomi (TAH), bilateral salpingo-ooforektomi (BSO), omentektomi, pelvik-paraaortik lenf nod diseksiyonu ve appendektomi operasyonu uy-

gulandı. Tüm olgularda sitolojik inceleme için peritoneal sıvı örneği alındı. Over kanseri olgularında postoperatif 6-8 kür PAC veya CHAP-5 kemoterapisi uygulandı. Kemoterapi protokolü tamamlandıktan sonra second-look laparotomi yapıldı. Normal over dokuları, over dışı patolojiler nedeni ile TAH+BSO uygulanan hastalardan elde edildi.

Mutant p53 geni proteininin varlığı, patoloji kliniğindeki parafin bloklarda immünohistokimyasal olarak çalışıldı. 4 mikron kalınlığında hematoksilin-eozin ile boyanmış kesitlerde immün boyama yapıldı. İlgili bloklardan 3'er kesit hazırlandı; bir tanesi negatif kontrol olarak kullanıldı, diğerlerine biotin-streptavidin prosedürü ile monoklonal anti-p53 boyası uygulandı (DAKO-A/S Copenhagen -DENMARK). Kromojen olarak hidrojenperoksit konjuge diaminobenzidin kullanıldı. Preparatlar ışık mikroskopunda incelendi ve immün boyama var veya yok olarak değerlendirildi.

Benign ve malign ovadan kitlelerde ve normal over dokusunda mutant p53 geni insidansı, over kanseri olgularında mutant p53 geni varlığı ile evre, peritoneal sitoloji sonucu ve yaşam süreleri arasındaki ilişki araştırıldı.

İstatistiksel değerlendirmede student t, ki-kare ve Fisher'in kesin ki-kare testleri kullanıldı. P değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Over kanseri olgularının yaş ortalaması 56.2 ± 13.4 (28-74) idi. FIGO klasifikasyonuna göre 32 over kanseri olgusunun 6'sı (% 18.8) evre I, 5'i (% 15.6) evre II, 17'si (% 53.1) evre III, 4'ü (% 12.5) evre IV idi. Over kanserli 4 olguda (% 12.5) peritoneal sitoloji elass I, 5 olguda (% 15.6) elass II, 23 olguda ise (% 71.9) elass V idi.

Malign over tümörü olgularında ortalama takip süresi 28.7 ± 24.2 ay (8-91 ay) idi. Takip süresi içinde 14 hasta eksitus oldu; bu hastaların ortalama yaşam süresi 16.4 ± 16.5 ay (3-58 ay) olarak bulundu.

Normal over dokularının ve benign over tümörlerinin hiçbirinde mutant p53 gen proteini ile ilgili immün boyanma saptanmadı. Buna karşılık 32 over kanseri olgusunun 16'sında (% 50) p53 proteini saptandı; arada istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p > 0.05$).

Tablo 2. Evre ve peritoneal sitoloji sonucu ile p53 gen mutasyonu arasındaki ilişki.

Table 2. Relationship between p53 gene mutation and stage or peritoneal cytology.

	Ia	Ib	Ic	IIa	IIb	Evre					Peritoneal sitoloji	
						IIIa	IIIb	IIIc	IV	(+)	(-)	
p53(+)	0	0	0	0	0	4	3	3	4	2	12	4
p53(-)	3	1	2	0	0	1	1	2	4	2	11	5
Toplam	3	1	2	0	0	5	4	5	8	4	23	9

Tablo 3. Över kanserinde yaşam süreleri ile p53 gen mutasyonu arasındaki ilişki.

Table 3. Relation of p53 gen mutation to survival in patients with ovarian cancer.

Yaşam süresi	p53(.)	,53(-)
12 ay ve üzeri (n)	12	13
24 ay ve üzeri (n)	6	8
36 ay ve üzeri (n)	4	7
48 ay ve üzeri (n)	3	5
60 ay ve üzeri (n)	1	2

n: yaşayan hasta sayısı.

Erken evre (I ve II) 11 över kanseri olgusunun 4'ünde (% 36.4) p53 gen mutasyonu ile uyumlu immün boyanma saptanırken, ileri evre (III ve IV) 21 över kanseri olgusunun 12'sinde (% 57.1) immün boyanma oldu (Tablo 2); erken ve ileri evre olgular arasında p53 gen mutasyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$); ancak mutant p53 geni daha çok ileri evre kanserlerde saptandı. Tablo 2'de görüldüğü gibi evre II c'ye kadar olan olguların hiçbirinde p53 gen mutasyonu saptanmadı; mutant p53 gen proteini yönünden immünohistokimyasal boyanma elde edilen olguların tümü evre ile ve daha ileri evre kanserlerdi.

Pozitif peritoneal sitolojisi olan 23 över kanseri olgusunun 12'sinde (% 52.2) p53 için immün boyanma saptanırken, peritoneal sitolojisi negatif olan 9 över kanseri olgusunun 4'ünde (% 44.4) p53 mutasyonu saptandı; ancak pozitif peritoneal sitoloji ile p53 gen mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ($p>0.05$) (Tablo 2).

Över kanseri olgularında 12, 24, 36, 48 ve 60 aylık dönemlerde yaşam süreleri ile p53 gen mutasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ($p>0.05$) (Tablo 3). Erken evre (I ve II) över kanserlerinde yaşam süresi ileri evre (III ve IV) kanserlerden önemli ölçüde ($p>0.05$) daha uzun iken, erken ve ileri evrelerdeki olgular kendi içlerinde değerlendirildiğinde, p53 gen mutasyonu saptanan olgularla, saptanmayan olgular arasında yaşam süresi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$).

Över kanserinin histolojik tipi ile mutant p53 geni varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0.05$). İstatistiksel karşılaştırmaya olanak vermediğinden lenf nodları ile ilgili bulgular değerlendirilmedi.

TARTIŞMA

p53 tümör süpresör geni 17.kromozomun kısa kolda lokalize olup, p53 gen mutasyonu insan kanserlerinde bugüne kadar en sık tanımlanan genetik değişikliktir (6,12). Özellikle son 5 yıl içinde yapılan çalışmalarda p53 gen mutasyonlarının över kanserlerinde de sıklıkla mevcut olduğu ve etyopatogeneizde rol oynayabileceği bildirilmektedir (4, 7-12).

p53 proteini düşük düzeyde olmak üzere normal hücrelerde de bulunmaktadır, ancak bu düzeydeki p53 proteini immünohistokimyasal yöntemle belirlenemez. p53 gen mutasyonu sonucu sentezlenen mutant p53 proteinlerinin yarı ömrü daha uzun ve yıkıma karşı dirençleri daha fazla olduğundan, bu proteinler nükleusta birikmekte ve immünohistokimyasal olarak belirlenebilecek düzeylere ulaşmaktadır (14). Hem frozen hem de parafinize dokularda immünohistokimyasal olarak p53 proteininin gösterilmesinin, p53 gen mutasyonları ile yakın korelasyon gösterdiği ve p53 mutasyonlarının araştırılmasında immünohistokimyasal yöntemin hızlı ve güvenilir bir tarama yöntemi olarak kullanılabilirliği bildirilmektedir (5,10,12,15).

Çalışmamızda, normal over dokusu ve benign ovarian tümörlerde mutant p53 gen proteini saptanamadı: Literatürdeki çalışmalarda genetik inceleme veya immünohistokimyasal olarak normal over dokusu veya benign ovarian lezyonların hiçbirinde p53 gen mutasyonu gösterilememiştir (4, 7-10). Literatürdeki çalışmalarda erken evre (I ve II) over kanserlerinde % 0-53, ileri evre (III ve IV) over kanserlerinde ise % 50-61 arasında değişen oranlarda p53 gen mutasyonu sıklığı bildirilmiştir (7, 8, 11, 12). p53 gen mutasyonlarının ileri evre over kanserlerinde daha sık görüldüğü genellikle kabul edilmekle birlikte (4, 8, 10, 11), p53 gen mutasyonu ile hastalığın evresi arasında ilişki olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (7, 12). Çalışmamızda erken evre over kanserlerinde % 36.4, ileri evre over kanserlerinde ise % 57.1 oranında mutant p53 geni saptandı ($p>0.05$). Aradaki fark istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte, mutant p53 geni saptanan olguların tümü evre ile ve daha ileri evre kanserlerdi. Mazars ve ark. (9) 34 over kanseri olgusunda yaptıkları çalışmada primer over tümörü ve metastazlarındaki mutasyonların aynı tip olması nedeni ile, over kanserlerinde p53 gen mutasyonlarının geç bir olay olsa bile, metastazlardan önce meydana geldiğini öne sürdüler.

Ovarian karsinogeneziste eğer benign veya "borderline" bir tümörden, önce erken invaziv daha sonra da ileri evre invaziv kansere doğru bir progresyon söz konusu ise, mevcut bulgularla, p53 gen mutasyonunun over kanseri gelişiminde geç bir olay olduğu sonucuna varılabilir. Ancak öne sürülen diğer bir olasılık, p53 gen mutasyonunun meydana gelmesi, normal ovarian epitel hücrelerinin ileri derecede malign potansiyele sahip hücrelere dönüşmesine neden olmakta ve bu kanserler benign veya "borderline" neoplazi aşamasından geçmemektedir (4); bu görüşe göre överin benign ve "borderline" epitelial neoplazileri invaziv kanserlerdekinden farklı moleküler genetik değişiklikler sonucu ortaya çıkmaktadır ve invaziv kanserin prekürsörü olmaktan çok, ayrı bir antite oluşturuyor ^ «Nirler (4).

Çalışmamızda olduğu gibi literatürdeki diğer çalışmalarda da p53 gen mutasyonu ile over kanserinin

histolojik tipi arasında bir ilişki bulunmamıştır (4, 7, 9, 11). Over kanserlerinde p53 gen mutasyonlarını araştıran çalışmaların çoğunda grade ile mutant p53 geni insidansı arasında bir korelasyon bulunmamıştır (4, 11, 12); bununla beraber Bosari ve ark. kötü diferansiye, agresif davranışlı over kanserlerinde p53 mutasyonlarının daha sık olduğunu bildirdiler (7). Marks ve ark. aneuploid over tümörlerinde p53 gen mutasyonlarının daha sık olduğunu bildurdular (12).

Over kanserlerinde p53 gen mutasyonlarının prognostik önemi tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda p53 gen mutasyonlarının over kanserlerinde sürvi üzerine kötü etkisi olduğu bildirilmesine karşın (7, 10), diğer bazı çalışmalarda ise ne erken evre ne de ileri evre over kanserlerinde mutant p53 geni varlığı ile sürvi arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (4, 11, 12). Bizim çalışmamızda da erken ve ileri evre over kanserlerinde p53 gen mutasyonu ile sürvi arasında anlamlı ilişki bulunmadı. Bununla beraber bu konudaki çalışmaların sayısı fazla olmadığı gibi, literatürdeki çalışmalarda olgu sayılarının da az olduğu görülmektedir. Bu nedenle, daha uzun süre takip edilen daha geniş hasta gruplarında sürvi ile p53 gen mutasyonu arasındaki ilişkiyi araştıran yeni çalışmaların yapılması yararlı olacaktır.

Sonuç olarak, benign over tümörlerinde ve normal over dokusunda p53 gen mutasyonlarına rastlanmamaktadır. Mutant p53 geni özellikle ileri evrelerde daha sık olmak üzere malign over tümörlerinde saptanmaktadır. p53 gen mutasyonu ile hastaların yaşam süreleri arasında anlamlı bir ilişki olmadığından, over kanseri olgularında p53 gen mutasyonunun araştırılması prognostik bir değer taşımamaktadır.

KAYNAKLAR

1. Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Jessup JM. et al: Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 1989, 244:217-20.
2. Seidman JD, Frisman DM, Norris HJ: Expression of the HER-2/neu proto-oncogene in serous ovarian neoplasms. *Cancer* 1992, 70:5857-60.
3. Marshall CJ: Tumor suppressor genes. *Cell* 1991, 64:313-26.
4. Berchuck A, Kohler MF, Marks JR, Wiseman R, Boyd J, Bast RC: The p53 tumor suppressor gene frequently is altered in gynecologic cancers. *Am J Obstet Gynecol* 1994, 170:246-52.
5. Schneider J, Rubio MP, Rodriguez-Escudero FJ, Seizinger BR, Castresana JS: Identification of p53 mutations by means of single strand conformation polymorphism analysis in gynaecological tumours: comparison with the results of immunohistochemistry. *Eur J Cancer* 1994, 30A:504-8.
6. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC: p53 mutations in human cancers. *Science* 1991, 253:49-53.
7. Bosari S, Viale G, Radaelli U, Bossi P, Bonoldi E, Coggi G: p53 accumulation in ovarian carcinomas and its prognostic Implications. *Hum Pathol* 1993, 24:1175-9.
8. Teneriello MG, Ebina M, Linnoila RI, Henry M, Nash JD, Park RC, et al: p53 and Ki-ras gene mutations in epithelial ovarian neoplasms. *Cancer Research* 1993, 53:3103-8.
9. Mazare R, Pujol P, Maudelonde T, Jeanteur P, Theillet C: p53 mutations in ovarian cancer: a late event? *Oncogene* 1991, 6:1685-90.
10. Eccles DM, Brett L, Lessells A, Gruber L, Lane D, Steel CM, et al: Overexpression of the p53 protein and allele loss at 17p13 in ovarian carcinoma. *Br J Cancer* 1992, 65:40-4.
11. Kohler MF, Kerns BJ, Humphrey PA, Marks JR, Bast RC, Berchuck A: Mutation and overexpression of p53 in early-stage epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1993, 81:643-50.
12. Marks JR, Davidoff AM, Kerns BJ, Humphrey PA, Pence JC, Dodge RK, et al: Overexpression and mutation of p53 in epithelial ovarian cancer. *Cancer Research* 1991, 51:2979-84.
13. Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Hostetter R, Cleary K, et al: Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 1989, 342:705-7.
14. Levine AJ, Momand J, Finlay CA: The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 1991, 351:453-6.
15. Kems BJ, Jordan PA, Moore MH, Humphrey PA, Berchuck A, Kohler MF, et al: p53 overexpression in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue detected by immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 1992, 40:1047-51.