

Overin Seröz Kistadenokarsinomlarının Derecelendirilmesi ve BRCA1 ile P53 İmmünreaktivitesi Arasındaki İlişki

GRADING OF THE OVARIAN SEROUS CYSTADENOCARCINOMAS, AND ITS CORRELATION WITH BRCA1 AND P53 IMMUNOREACTIVITY

Dr. Nedim GÜNEŞ,^a Dr. Fahri YILMAZ,^b Dr. Ali Kemal UZUNLAR^c

^aPatoloji Bölümü, Siirt Devlet Hastanesi, SİİRT

^bPatoloji AD, Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi, BOLU

^cPatoloji AD, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, DİYARBAKIR

Özet

Amaç: Over kanserleri jinekolojik maligniteler içinde en çok ölüme neden olan kanser türüdür. Bunların da en sık görülen tipi over yüzey epitel kökenli karsinomlardır. Bu çalışmadaki amacımız; overin seröz kistadenokarsinomlarını derecelendirmek ve immünohistokimyasal olarak BRCA1 ve p53'ü çalışmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Seröz kistadenokarsinom tanısı almış 58 olgu çalışmamız kapsamına alınmıştır. Olgular ikili derecelendirme sistemi, FIGO ve Shimizu-Silverberg derecelendirme sistemlerine göre derecelendirilerek sonuçlar karşılaştırılmıştır. İmmünohistokimyasal olarak BRCA1 ve p53 çalışılmıştır.

Bulgular: Olguların ikili sisteme göre derecelendirilmelerinde; 12 (%21)'si düşük, 46 (%79)'sı yüksek dereceli, FIGO sistemine göre; 9 (%16)'u derece I, 29 (%50)'u derece II, 20 (%34)'si derece III, Shimizu-Silverberg'e göre ise; 11 (%19)'i derece I, 29 (%50)'u derece II, 18 (%31)'i derece III'tür. P53 olguların %57 (33/58)'inde, BRCA1 ise %67 (39/58)'sinde pozitifdir. P53'ün boyanma oranı yüksek derecelilerde (%65) düşük derecelilere (%25) oranla daha yüksektir. İkili derecelendirme sistemine göre BRCA1 düşük dereceli olan olguların %92 (11/12)'sinde yüksek dereceli olanların ise %61 (28/46)'inde pozitifdir.

Sonuç: İkili derecelendirme sistemi FIGO ve Shimizu-Silverberg sistemleri ile uyumludur. Ayrıca tanımlanması kolay iki kritere göre değerlendirilme ve iki kategoriye (düşük, yüksek) ayrılması nedeniyle ikili derecelendirme sistemi, over seröz kistadenokarsinomlarında uygulanması kolaydır. P53'ün aksine yüksek dereceli tümörlerin BRCA1 ekspresyon oranı düşük (%61), düşük dereceli tümörlerin ise yüksek (%92) olarak bulunmuştur. Yüksek dereceli karsinomlarda, p53 ile BRCA1 pozitifliği arasında istatistiksel bir ilişki bulunmamıştır (p=0.666).

Anahtar Kelimeler: Over; kistadenokarsinom; derecelendirme; p53 geni; BRCA1

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007, 27:335-343

Abstract

Objective: Ovarian cancer is a gynecological malignancy with the highest mortality. The surface epithelial tumors of the ovary are the most common cancer types. The purpose of this study was to grade the ovarian serous cystadenocarcinomas and to evaluate BRCA1 and p53 proteins immunohistochemically.

Material and Methods: Fifty-eight cases diagnosed as serous cystadenocarcinomas of the ovary were selected for this study. The cases were graded according to two-tier grading system, FIGO and Shimizu-Silverberg grading system and the results were compared. The BRCA1 and p53 proteins were studied immunohistochemically.

Results: The cases were distributed as follows: according to the two-tier grading system low grade 12 (21%) cases and high grade 46 (79%) cases; according to the FIGO grading system grade I 9 (16%) cases, grade II 29 (50%) cases, and grade III 20 (34%) cases and according to the Shimizu-Silverberg grading system grade I 11 (19%) cases, grade II 29 (50%) cases, and grade III 18 (31%) cases. Positive p53 staining was detected in 57% (33/58) and BRCA1 was detected in 67% (39/58) of the cases. The relationship between p53 and BRCA1 proteins and histopathologic grade was analyzed. High grade ovarian serous carcinomas had a higher rate of p53 expression (65%) compared to low grade (25%) tumors. BRCA1 immunostaining was detected in 92% (11/12) of low grade and 61% (28/46) of high grade tumors according to two-tier grading system.

Conclusion: There is a good correlation between the two-tier grading system and the FIGO and the Shimizu-Silverberg grading systems. In addition, the application of the two-tier grading system for ovarian serous carcinomas is easy because this system is based on easily understood two criteria and includes two categories (low grade, high grade). In contrast to p53, high grade tumors had a lower rate of BRCA1 expression (61%) compared to low grade (92%) tumors. In high-grade carcinomas, no statistical correlation was present between the p53 and BRCA1 positivity (p=0.666).

Key Words: Ovary; cystadenocarcinoma; genes, p53; BRCA1 protein

Geliş Tarihi/Received: 05.06.2006

Kabul Tarihi/Accepted: 16.01.2007

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Fahri YILMAZ
Abant İzzet Baysal Üniversitesi
İzzet Baysal Tıp Fakültesi,
Patoloji AD, 14280, BOLU
fahri_y@ibu.edu.tr

Copyright © 2007 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007, 27

Over kanserleri kadınlarda en sık görülen 6. kanser türüdür. Batı ülkelerinde kadın kanserlerinin %4'ünü oluşturur ve jinekolojik kanserler içinde en sık ölüm nedenidir. Over kanserlerinin %90'ı yüzey epitelinden köken

alan epitelyal tümörlerdir. Bunlardan da en sık görülen histolojik alt tip seröz papiller kistadenokarsinomdur.¹⁻³

Over kanserlerinde önemli risk faktörleri nulliparite, erken menarş, geç menopoz ve ailesel nedenlerdir. Daha az etkili olduğu düşünülen diğerleri ise çevresel ve hormonal etkenlerdir. Over kanserlerinin %90'ı sporadik, %10'u ise genetik mutasyonlara bağlıdır.^{1,4-6} Ailesel over kanserlerinin %85-90'ından herediter meme-over kanseri (HBOC) sendromu sorumludur. HBOC sendromunun büyük bir çoğunluğuna 17. kromozomun kısa koluna lokalize olan ve bir tümör baskılayıcı gen olarak kabul edilen BRCA1 geninin genetik mutasyonu neden olmaktadır. BRCA2 ise 13. kromozomun kısa koluna lokalize olup daha az bir kısımdan sorumludur. Bu mutasyonlara sahip kadınların genç yaşta meme ve over kanserlerine yakalanma riskleri yüksektir.^{1,7-10}

Overin epitelyal kanserleri için histolojik diferansiyasyon derecesi önemli bir prognostik faktör olmasına rağmen günümüzde üzerinde geniş uzlaşma sağlanmış ve uzun süre kullanılabilmiş bir derecelendirme sistemi yoktur. Kullanılan derecelendirme sistemlerinden FIGO yapısal atipiye, WHO yapısal ve hücrel atipiye, Shimizu-Silverberg ise yapısal patern, hücrel atipi ve mitotik aktiviteye göre yapılmaktadır.^{1,11-13}

Bu çalışmadaki amacımız; yüzeysel over kanserlerinde kullanılan derecelendirme sistemlerinin diğer prognostik faktörler ile olan uyumluluk ve ilişkisini araştırmaktır. Bu nedenle seröz papiller kistadenokarsinom tanısı alan olgularımızı son yıllarda önerilen derecelendirme sistemlerine göre yeniden derecelendirip sonuçları karşılaştırdık.^{1,13,14} Ayrıca immünohistokimyasal olarak p53 ile aile hikayeleri ve germ-line BRCA1 mutasyonları bilinmeyen olgularımıza BRCA1 zincirinin karboksi-terminal ucunu gösteren GLK-2 antikoru çalıştık.

Gereç ve Yöntemler

1995-2004 yılları arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi (DÜTF) Patoloji Anabilim Dalı'na, 719 olguya ait over tümörü ameliyat materyali

gönderildi. Bu 719 olgunun 539 (%75)'ü over yüzeysel epitel kökenli, bunların da 394 tanesi (epitelyal olanların %73'ü) seröz, seröz tümörlerinde 67'si (seröz olanların %17'si) seröz papiller kistadenokarsinom tanısı aldı. Seröz papiller kistadenokarsinom tanısı almış, parafin bloğunda yeterli tümör dokusu bulunan 58 olgu çalışmamız kapsamına alındı. Bu olguların her birinden, primer tümör dokusu içeren formalin ile fikse parafin bloklarından 2'şer blok derecelendirme için seçildi. Her blokta 4 mikron kalınlığında 4 kesit elde edildi. Bunların ikisi hematoksil-eozin (H&E) ile boyandı. Diğer 2'si immünohistokimyasal çalışma için kullanıldı.

Histolojik Derecelendirme

Olgulara ait H&E ile boyalı kesitler derecelendirme için ışık mikroskopunda incelendi. Bütün olgular, FIGO, Shimizu-Silverberg (universal) ve ikili derecelendirme sistemlerine göre sınıflandırıldı.¹¹⁻¹³ FIGO sisteminde tümördeki solid alan miktarı %5'ten az ise derece I, %5-50 arasında ise derece II, %50'den fazla ise derece III olarak değerlendirildi. Shimizu-Silverberg sistemi yapısal patern, nükleer pleomorfizm ve mitotik aktivitenin skorlamasına göre yapıldı. Bu sisteme göre: Yapısal patern glandüler ise 1, papiller ise 2, solid ise 3 puan; nükleer pleomorfizm hafif ise 1, orta ise 2, belirgin ise 3 puan; mitotik aktivite 10 büyük büyütme alanında 0-9 arasındaysa 1, 10-24 arasında ise 2, 25 ve üzerinde ise 3 puan verildi. Toplam skor 3-5 ise derece I, 6-7 ise derece II, 8-9 ise derece III olarak değerlendirildi. Primer olarak nükleer atipiye dayalı yapılan mitotik aktivite indeksini ikincil parametre olarak kullanan ikili derecelendirme sisteminde çoğu oval yuvarlak uniform görünümde kromatinleri düzgün dağılmış hafif ve orta derecede atipi gösteren nükleer yapı ile az sayıda nükleolus belirginliği düşük dereceli, belirgin nükleer atipi ($\geq 3:1$), düzensiz kromatin dağılımı ve büyük belirgin nükleolus var ise yüksek dereceli olarak sınıflandırıldı. Sekonder bir parametre olarak kabul edilen mitotik aktivite indeksine mitozun en yoğun olduğu alanlarda ardışık 10 tane 40 büyütme mikroskop sahasında sayılarak bakıldı. 1-12 arası düşük dereceli, 12'nin üstü yüksek dereceli olarak yorumlandı.^{12,14,15}

Tablo 1. Olgularımıza ait genel bulgular.

	50 yaş üstü	Karşı over tutulumu	Omentum tutulumu	Asit mayide malign hücre pozitifliği	Tümör kapsül invazyonu	Lenf nodu metastazı	Lenfovasküler invazyon
Olgu sayısı	35 (%60)	41 (%71)	44 (%76)	39 (%67)	43 (%74)	34 (%59)	47 (%81)

İmmünohistokimyasal Yöntem

P53 ve BRCA1'in (NeoMarkers, USA) immünohistokimyasal çalışması için olguların seçilmiş primer tümöre ait parafine gömülü bloklarından albuminli lamlara 4 mikronluk boyasız kesitler hazırlandı. Kesitler deparafinize edildi. 96 derecelik etil alkolde dehidratasyon yapıldıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek amacıyla %0.3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 15 dk. tutuldu. Kesitlerin yıkanması için PBS (phosphate buffer saline, pH 7.4) solüsyonu, immünohistokimyasal çalışma yöntemi olarak da standart avidin-biotin kompleks (ABC) yöntemi kullanıldı.

P53 boyanma sonuçları modifiye histoscore (MH) modeline göre skorlandı.¹⁶ Sitoplazmik ve zemin boyamaları negatif, yalnız nükleer boyanmalar pozitif olarak değerlendirildi. Buna göre; 0: Tümör hücrelerinde boyanma yok, 1: Tümör hücrelerinde zayıf fokal boyanma, 2: Tümör hücrelerinin %25'inden azında güçlü veya %80 ve azında orta derecede boyanma, 3: Tümör hücrelerinin %25-50'sinde güçlü veya %80'den fazlasında orta derecede boyanma, 4: Tümör hücrelerinin %50'den fazlasında güçlü pozitif boyanma.

BRCA1 boyanma sonuçları ise Wang ve ark.nın çalışmalarında kullandığı şekilde değerlendirildi.¹⁷ Hem sitoplazmik hem de nükleer boyanma özelliğine göre; negatif (0): Tümör hücrelerinin %10'dan azında boyanma, zayıf pozitif (+): %10-30 arası boyanma, orta derecede pozitif (++) : %30-50 arası boyanma, güçlü pozitif (+++) : %50'den fazla hücrede pozitif boyanma.

İstatistiksel değerlendirme ki-kare testiyle yapıldı.

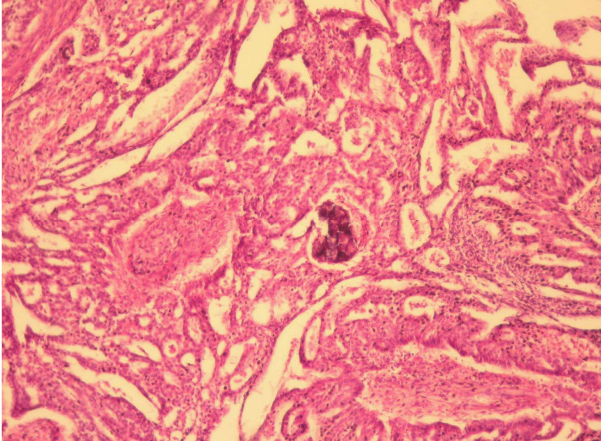
Bulgular

Olgularımızın en küçüğü 29, en büyüğü 78 (ortalama yaş 58) yaşındaydı. Olgularımızın 23 (%40)'ü 50 yaşın altında, 35 (%60)'i 50 yaşın üstündeydi. Olgularımıza ait genel bulgular Tablo 1'dedir.

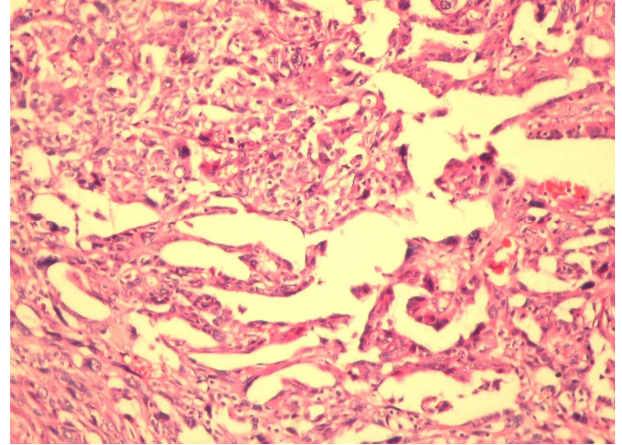
Olgular FIGO sistemine göre derecelendirildiğinde 9 (%16)'u derece I, 29 (%50)'u derece II, 20 (%34)'si ise derece III olarak değerlendirilmiştir. Shimizu-Silverberg (universal) sistemine göre ise olguların 11 (%19)'i derece I, 29 (%50)'u derece II, 18 (%31)'i ise derece III olarak yorumlanmıştır. İkili derecelendirme sistemine göre olgularımızın 12 (%21)'si düşük dereceli, 46 (%79)'sı ise yüksek derecelidir (Resim 1, 2). Yüksek dereceli nükleer özelliklere sahip olguların büyük bir çoğunluğunda mitotik aktivite indeksi 12'den fazla, düşük dereceli nükleer özelliklere sahip olguların ise hepsinde 12'den az bulunmuştur. FIGO, Shimizu-Silverberg ve ikili derecelendirme sistemine göre bulgularımız Tablo 2'dedir.

İkili derecelendirme sistemine göre düşük dereceli dediğimiz 12 (%21) olgu FIGO sistemine göre 9'u derece I, 3'ü ise derece II, ikili sistemde yüksek dereceli dediğimiz 46 (%79) olgunun ise FIGO sisteminde 26 tanesi derece II, 20 tanesi de derece III olarak derecelendirilmiştir. FIGO sisteminde derece II olarak kabul ettiğimiz 29 olgudan ikili sisteme göre yalnız 3 tanesi düşük, diğerleri yüksek derecelidir. Yine ikili sisteme göre düşük dereceli olarak değerlendirdiğimiz olgulardan hiçbiri FIGO sisteminde derece III, yüksek derece kabul ettiklerimizden hiçbiri de derece I'e karşılık gelmemiştir.

Ayrıca ikili derecelendirme sisteminde düşük dereceli olarak kabul ettiğimiz 12 olgunun,



Resim 1. Papiller ve glandüler yapıların belirgin olduğu, bir alanda psammom cisimcikleri içeren düşük dereceli seröz kistadenokarsinom (H&E, x100).



Resim 2. Belirgin nükleer pleomorfizm, düzensiz kromatin dağılımı ve belirgin nükleolus bulunduran yüksek dereceli seröz kistadenokarsinom (H&E, x200).

Shimizu-Silverberg sisteminde, 11 tanesi derece I, 1 olgu ise derece II olarak değerlendirilmiştir. İkili sistemde düşük dereceli olan olgulardan hiçbiri Shimizu-Silverberg sisteminde derece III, yüksek dereceli dediklerimizin hiç biri de derece I kategorisinde yer almamıştır.

Tablo 3'te ikili derecelendirme sistemi ile diğer prognostik faktörler arasındaki ilişki gösterilmiştir. Buna göre bu sistemde yaş ve karşı over tutulumunun olup olmaması dışında anlamlı bir ilişkinin olduğu görülmektedir ($p=0.864$, $p=0.158$). 50 yaş üstü 35 olgudan 27 (%77)'si yük-

Tablo 2. Olgularımızın her üç derecelendirme sistemine göre sonuçları.

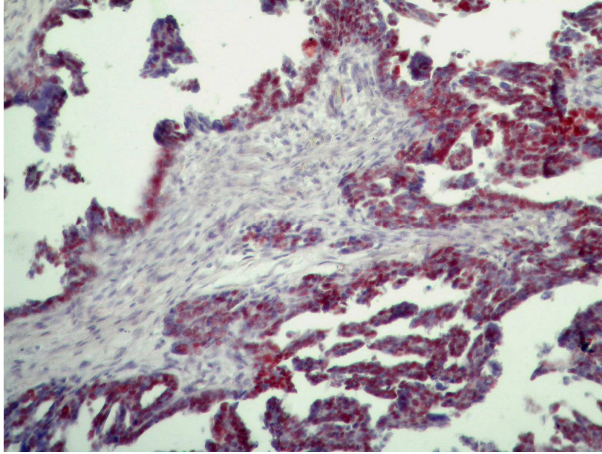
	FIGO	Shimizu-Silverberg	İkili derecelendirme sistemi	
Derece I	9	11	Düşük dereceli	12
Derece II	29	29	Yüksek dereceli	46
Derece III	20	18	Toplam	58

Tablo 3. Olgularımıza ait ikili derecelendirme sonuçlarının diğer prognostik bulgular ile karşılaştırılması.

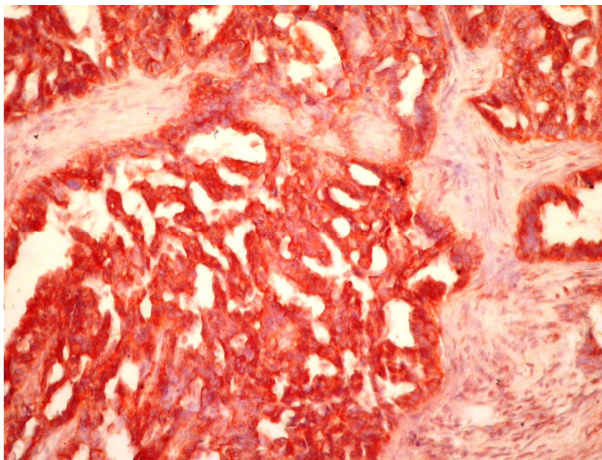
Olguların özellikleri	Düşük dereceli (%)	Yüksek dereceli (%)	Toplam	p değeri
50 yaş üstü	8 (%23)	27 (%77)	35	$p=0.864$
50 yaş altı	4 (%17)	19 (%83)	23	
Karşı over tutulumu var	6 (%15)	35 (%85)	41	$p=0.158$
Karşı over tutulumu yok	6 (%35)	11 (%65)	17	
Omentum tutulumu var	3 (%7)	41 (%93)	44	$p<0.0001$
Omentum tutulumu yok	9 (%64)	5 (%36)	14	
Asit mayide malign hücre var	3 (%8)	36 (%92)	39	$p=0.002$
Asit mayide malign hücre yok	9 (%47)	10 (%53)	19	
Tümör kapsül invazyonu var	2 (%5)	41 (%95)	43	$p<0.0001$
Tümör kapsül invazyonu yok	10 (%67)	5 (%33)	15	
Lenf nodu metastazı var	2 (%6)	32 (%94)	34	$p=0.003$
Lenf nodu metastazı yok	10 (%42)	14 (%58)	24	
Lenfovasküler invazyon var	5 (%11)	42 (%89)	47	$p<0.0001$
Lenfovasküler invazyon yok	7 (%64)	4 (%36)	11	

sek, 8 (%23)'i düşük dereceli, 50 yaş altı 23 olgudan ise 19 (%83)'ü yüksek 4 (%17)'ü düşük derecelidir. Bu oranlar over seröz karsinomların düşük/yüksek dereceli (1/4-5) oranlarına çok yakındır.

İkili sisteme göre yüksek dereceli dediğimiz olguların sırasıyla kapsül invazyonu gösteren tümörlerin %95'ini, lenf nodu metastazı olanların %94'ünü, omentum tutulumu olanların %93'ünü, asit sıvısında malign hücre bulunanların %92'sini, lenfovasküler invazyonu olanların %89'unu ve karşı over tutulumu olanların %85'ini oluşturması bu derecelendir-



Resim 3. Güçlü nükleer p53 immünreaktivitesi gösteren tümör hücreleri (İmmünperoksidaz, x200).



Resim 4. BRCA1 ile çoğunluğu sitoplazmik, az kısmı nükleer olan pozitiflik (İmmünperoksidaz, x200).

Tablo 4. MH modeline göre olgularımızın p53 immünreaktivitesi sonuçları.

p53 boyanma skoru	Düşük dereceli	Yüksek dereceli	Toplam
0	10	15	25 (%43)
1	1	2	3 (%5)
2	0	7	7 (%12)
3	1	4	5 (%9)
4	0	18	18 (%31)

me sisteminin prognostik faktörlerle anlamlı bir ilişki içinde olduğunu göstermektedir.

P53 immünreaktivitesi, ikili sisteme göre düşük dereceli dediğimiz 12 olgudan 10 (%83)'ünde negatif (skor 0), 2 (%17)'sinde (1'i skor 1, diğeri skor 3) pozitif izlenirken, yüksek dereceli dediğimiz 46 olgudan 15 (%33)'i negatif (2'si stoplazmik boyanma, 4'ü zemin boyanması, 9'u skor 0), 31 (%67)'i pozitif (2'si skor 1, 7'si skor 2, 4'ü skor 3, 18'i skor 4) izlenmiştir (Resim 3). Toplamda p53 pozitif olgu sayısı 33 (%57), negatif olgu sayısı 25 (%43)'tir (Tablo 4). P53 pozitifliği yüksek dereceli olanlarda, düşük dereceliye göre anlamlı derecede yüksekti ($p=0.002$).

BRCA1 ile olgularımızın 19 (%33)'ü negatif, 39 (%67)'ü pozitifdir. Pozitif olanların 24 (%41)'ü sadece nükleer, 10 (%17)'ü nükleer ve stoplazmik, 5 (%9)'i ise sadece stoplazmik boyanma göstermiştir (Resim 4). Boyanmanın derecesi ve hücre içi lokalizasyonuna bakılmaksızın ikili derecelendirme sistemine göre düşük dereceli dediğimiz olguların 11'i, yüksek dereceli dediğimiz olguların ise 28'i pozitif boyanma göstermiştir. FIGO derecelendirme sistemine göre derece I dediğimiz olguların hepsi, derece II dediğimiz olguların 23'ü, derece III dediğimiz olguların ise 7'si pozitif boyanma göstermiştir. BRCA1 pozitifliği açısından yüksek ve düşük dereceli arasında anlamlı farklılık yoktu ($p=0.093$).

Tartışma

Over kanserleri ölüme neden olan jinekolojik kanserler içinde ilk sırada yer almaktadır. Bunların da büyük bir çoğunluğu yüzey epitel kökenli olan-

lardır. Özgül klinik belirtilerin ve etkili tarama testlerinin olmaması nedeniyle kliniğe başvuran hastaların %70'i ileri evrededir.^{1,18} Bu nedenle 5 yıllık sağ kalım oranları düşüktür. Tüm kanserler içinde, kanser tanılarının %4'ünü ve kanserden ölümlerin %5'ini oluşturur.¹

Overin epitelyal kanserlerinde histolojik diferansiyasyon derecesi prognoz üzerinde etkili ve önemli klinikopatolojik parametrelerden biridir. Ancak henüz üzerinde geniş uzlaşma sağlanmış ve yaygın kullanılan ortak bir derecelendirme sistemi yoktur. Yapısal paterne dayalı yapılan FIGO, yapısal patern ve hücresel atipiyeye göre yapılan WHO, yapısal patern, hücresel atipi ve mitotik aktivite indeksine göre yapılan Shimizu-Silverberg sistemleri yaygın kullanılan derecelendirme sistemlerine verebileceğimiz örneklerdir.¹¹⁻¹³

Mohanty ve ark. tümör hücrelerinin ortalama çekirdek hacmi ile tümörün histolojik diferansiyasyon derecesi arasında önemli bir ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır.¹⁹ Tümör biyolojisinde kaydedilen gelişmeler ışığında yapılan değişik çalışmalarda overin yüksek ve düşük dereceli seröz karsinomlarının etiyopatogenezlerinin farklı olabileceği gösterilmiştir.^{6,8,20} Yüksek dereceli olanların %64'ünde, düşük dereceli olanların ise yalnızca %18'inde p53 difüz güçlü pozitif boyanmıştır.⁸ Borderline ve düşük dereceli tümörlerin çoğunda BRAF ve KRAS gibi sinyal yolları kaskadındaki proteinleri kodlayan genler pozitif izlenmiştir.⁸ Ayrıca Shih ve Kurman over yüzey epitel kanserlerini etiyopatogenezlerine göre tip 1 (düşük dereceli) ve tip 2 (yüksek dereceli) diye yeni bir sınıflama önermişlerdir.³ Tip 1'ler daha çok benign veya borderline lezyonlardan gelişirken tip 2'ler de novo gelişim gösterirler.

Overin Evre Ia seröz karsinomlarında tümör düşük dereceli ise cerrahi sonrası kemoterapiye gerek olmadığı yönündeki görüşlerin ağırlıkta olması, araştırmacıları yeni ve ikili bir derecelendirme sistemi oluşturmaya itmiştir. Malpica ve ark. overin seröz papiller karsinomlarını nükleer özelliklerine göre, sekonder bir parametre olarak mitotik aktivite indeksini de kullanarak, düşük ve yüksek dereceli diye 2'ye ayıran bir derecelendirme sistemi önermişlerdir.¹³ İkili sisteme göre dere-

celendirdikleri 50'si düşük, 50'si yüksek dereceli toplam 100 adet over seröz papiller kistadenokarsinomlu olguyu, yaygın olarak kullanılan FIGO ve Shimizu-Silverberg derecelendirme sistemleri ile de derecelendirdikten sonra bunları karşılaştırdılar. Sonuçlar hem FIGO hem de Shimizu-Silverberg derecelendirme sistemindeki derece I olguların tamamına yakınının ikili sistemde düşük dereceli, derece II ve derece III tümörlerin ise yüksek dereceli kategoriye dahil olduğu görülmüştür.

Biz de bu çalışmada uygulanan nükleer ve mitotik özellikleri 58 olgumuza uyguladık. FIGO'ya göre derece II dediğimiz 29 olgunun ikili sisteme göre yalnızca 3'ü düşük, diğerleri yüksek dereceli, derece I dediğimiz 9 olgunun tümü ise ikili sisteme göre düşük derecelidir. FIGO'ya göre derece I dediğimiz olgulardan hiçbiri ikili sistemde yüksek, derece III dediğimiz olgulardan hiç biri de ikili sisteme göre düşük dereceliler sınıfına girmemiştir. Shimizu-Silverberg'e göre derece II dediğimiz olgulardan sadece 1'i ikili sisteme göre düşük, diğerleri yüksek derecelidir. Shimizu-Silverberg'e göre derece I dediğimiz olgulardan hiçbiri ikili sistemde yüksek, derece III dediklerimiz de düşük dereceliler kategorisine girmemiştir.

Görüldüğü gibi üçlü derecelendirme sistemlerinde derece III dediklerimizin tümü ile derece II dediklerimizin büyük çoğunluğu ikili sistemde yüksek dereceli, derece I dediklerimizin tümü ile derece II dediklerimizin az bir kısmı düşük dereceliler kategorisine girmiştir. Bu sonuçlar çalıştığımız ikili derecelendirme sisteminin kullanılmakta olan üçlü derecelendirme sistemleri ile uyumluluğunu göstermektedir. Malpica ve ark.nın hem FIGO hem de Shimizu-Silverberg sisteminde derece I tümör oranlarının %36 ve %47 gibi bizim sonuçlarımızdan oldukça yüksek olması, onların çalışma gruplarının %50 oranında düşük, %50 oranında da yüksek dereceli olgulardan seçilmiş olmasına bağlıdır.¹³ Değişik derecelendirme sistemlerini kullanan araştırmalarla sonuçlarımızın karşılaştırılması Tablo 5'te verilmiştir.^{6,14,21-23} Verilerimizin diğer araştırmaların verileri ile uyumluluk gösterdiği dikkati çekmektedir.

Ishioka ve ark. 60 seröz karsinomlu olguyu önce FIGO, ardından Shimizu-Silverberg'e göre

Tablo 5. Derecelendirme sonuçlarımızın diğer bazı araştırmacıların derecelendirme sonuçları ile karşılaştırılması.

Derecelendirme sistemleri		Çalışmamız	Mayr ve ark. ¹⁴	Buller ve ark. ⁶	Lee ve ark. ²¹	O'Neill ve ark. ²²	Singer ve ark. ²³
FIGO	I	9 (%16)	34 (%18)	11 (%13)	-	-	-
	II	29 (%50)	100 (%52)	19 (%22)	-	-	-
	III	20 (%34)	58 (%30)	56 (%65)	-	-	-
	Toplam	58	192	86	-	-	-
Shimizu-Silverberg	I	11 (%20)	50 (%26)	-	32 (%32)	-	-
	II	29 (%50)	93 (%48)	-	44 (%44)	-	-
	III	18 (%30)	49 (%26)	-	23(%23)	-	-
	Toplam	58	192	-	99	-	-
İkili derecelendirme	Düşük	12 (%21)	-	-	-	22 (%32)	12 (%17)
	Yüksek	46 (%79)	-	-	-	47 (%68)	59 (%83)
	Toplam	58	-	-	-	69	71

derecelendirmişlerdir.¹⁵ Buna göre, 47 olgunun aynı derecede kaldığı 4'ünün derece II'den I'e, 7'sinin III'den II'ye düştüğü, 2'sinin ise I'den II'ye yükseldiği görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise 54 olgunun derecesinin değişmediği, 2'sinin II'den I'e, 2'sinin ise III'ten II'ye düştüğü görülmüştür.

Kapsül invazyonu, lenf nodu metastazı, omentum tutulumu, asit mayisinde malign hücre varlığı, lenfovasküler invazyon ve karşı over tutulumu gibi kötü prognostik faktörleri olan olgularımızın büyük kısmı yüksek derecelidir. Bu da ikili derecelendirme sisteminin prognostik faktörlerle uyumlu olduğunu göstermektedir. Overin yüksek ve düşük dereceli seröz karsinomların etiyopatogenezlerinin farklı olması, Evre Ia olanlara kemo-terapi verilmemesi yönündeki görüşlerin ağırlıkta olması ve ikili sisteme göre değerlendirme sonuçlarının kullanılan diğer derecelendirme sistemleri ve prognostik faktörlerle uyumluluk göstermesi gibi nedenlerden dolayı, daha keskin sınırlarla birbirinden ayrılmış, bir ara (orta) derece içermeyen, ikili bir derecelendirme sisteminin kullanılması gerektiğini düşünmekteyiz. Bu ikili sistem hastanın tedavi protokolü ve hastalığın prognozunun belirlenmesinde daha çok yardımcı olacaktır.

P53 mutasyonu insan kanserlerinin %50'sinden fazlasında tespit edilmiştir. Değişik çalışmalar, yüksek dereceli olanlarda daha yoğun olmak üzere, over seröz karsinomlarında da yüksek oranlarda

p53 mutasyonu ve immünohistokimyasal olarak p53 pozitifliği olduğunu göstermiştir.^{8,9,24} O'Neill ve ark. tümör hücrelerinin >%75'i p53 ile pozitif boyanan olguları yüksek dereceli tümörlerde %63, düşük dereceli olanlarda ise %18 olarak bulmuştur.²² Çalışmamızda bu oranlar sırasıyla %48 ve %8'dir. Böylece p53 mutasyonunun yüksek dereceli seröz karsinomlarda, düşük dereceli olanlara kıyasla, çok daha yaygın olduğu hipotezi desteklenmiştir.^{8,9,24}

İkili sisteme göre düşük dereceli dediğimiz 12 olgudan 3 (%25)'ü p53 ile boyanma gösterirken, yüksek dereceli olarak kabul ettiğimiz 46 olgudan 30 (%65)'u değişik derecelerde boyanma göstermiştir. P53 sonuçlarımızın diğer çalışma sonuçları ile karşılaştırılması Tablo 6'dadır. Tabloya göre p53 pozitifliği negatif olgulardan daha fazladır. Bu da over karsinogenezinde p53 mutasyonlarının önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Yine yüksek dereceli tümörlerde yaygın güçlü p53 immünreaktivitesinin belirgin şekilde düşük derecelilerden yüksek olması, hem bu 2 tümörün etiyopatogenezlerinin farklı olduğu yönündeki iddiaları hem de ikili derecelendirme sisteminin yeni sınıflama ile uyumlu olduğunu desteklemektedir.

Olgularımızdaki BRCA1 protein ekspresyonu 24 (%41) olguda sadece nükleer, 10 (%17)'unda hem nükleer hem de sitoplazmik, 5 (%9)'inde ise yalnız sitoplazmiktir. Kashima ve ark. BRCA1 ile

Tablo 6. p53 boyama sonuçlarımızın diğer bazı çalışma sonuçları ile karşılaştırılması.

	Çalışmamız	Lee ve ark. ²¹	Buller ve ark. ⁶	Singer ve ark. ²³	Aghmesheh ve ark. ¹⁶	O'Neill ve ark. ²²
p53 (+) olgu sayısı (%)	33 (%57)	47 (%47)	47 (%53)	23 (%68)	35 (%73)	55 (%80)
p53 (-) olgu sayısı (%)	25 (%43)	52 (%53)	41 (%47)	11 (%32)	13 (%27)	14 (%20)
Toplam	58	99	88	34	48	69

Tablo 7. Olgularımızda histolojik derecelendirmeye göre BRCA1 ve p53 immünreaktivite sonuçlarının diğer bazı araştırma sonuçları ile karşılaştırılması.

Derecelendirme sistemleri	Çalışmamız		Zheng ve ark. ²⁶	Singer ve ark. ²³
	BRCA1(GLK-2)+	p53+	BRCA1(Ab-1)+	p53+
FIGO I	%100 (9/9)	%33 (3/9)	%82 (9/11)	-
II	%79 (23/29)	%52 (15/29)	%29 (4/14)	-
III	%35 (7/20)	%75 (15/20)	%0 (0/13)	-
İkili Düşük	%92 (11/12)	%25 (3/12)	-	%8 (1/12)
Yüksek	%61 (28/46)	%65 (30/46)	-	%51 (30/59)

sadece nükleer boyananların oranını %55, hem nükleer hem de sitoplazmik boyananları %30, sadece sitoplazmik boyananları %10, boyanmayanların oranını ise %5 olarak bulmuşlardır.²⁵ Başka bir çalışmada Zheng ve ark. derece I olgularının %82 (9/11)'sinde, derece II olanların %29 (4/14)'unda BRCA1-Ab1 antikoru pozitifliği saptamışlar, derece III olanların hiç birinde (0/13) reaktivite izlenmediğini belirtmişlerdir.²⁶ Buna bağlı olarak tümörde histolojik derece arttıkça BRCA1-Ab1 proteinin boyanma oranının azaldığını ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda hücre içi boyanma lokalizasyonuna bakılmaksızın düşük dereceli olarak değerlendirdiğimiz olguların %92 (11/12)'si, yüksek dereceli değerlendirdiğimiz olguların %61 (28/46)'i pozitif boyanmıştır. FIGO derecelendirme sistemine göre derece I olguların %100 (9/9)'ü, derece II %79 (23/29)'u, derece III ise %35 (7/20)'i değişik paternlerde boyanma göstermiştir.

Kashima ve ark. BRCA1-GLK2'nin immünohistokimyasal olarak yalnızca sitoplazmik boyanmasının BRCA1 geninin Δ -exon 11 bölgesindeki mutasyon oranını yaklaşık olarak verebileceğini belirtmişlerdir.²⁵ Çalışmamızda sadece

sitoplazmik boyanan 5 (%9) olgu hem bu çalışma sonuçları ile hem de yaklaşık %10 olarak görülen BRCA1 mutasyon oranları ile uyumluluk göstermektedir. Öte yandan sonuçlarımız p53'ün aksine tümörün histolojik derecesi arttıkça BRCA1 ekspresyon oranının azaldığı şeklindeki iddiaları ve çalışmaları desteklemektedir.^{17,23,26} Bununla birlikte sonuçlarımız p53 ile BRCA1 arasında herhangi bir ilişkiyi destekler nitelikte değildir (Tablo 7).

Sonuç olarak overin seröz papiller kistadenokarsinomlarında ikili derecelendirme sistemi FIGO ve Shimizu-Silverberg sistemleri ve diğer prognostik faktörlerle iyi bir uyumluluk göstermektedir. Ayrıca ikili sistemin, tanımlanması kolay 2 kritere göre değerlendirilmesi ve 2 belirgin kategoriye (düşük, yüksek) ayrılması nedeniyle over seröz karsinomlarının derecelendirilmesinde diğer derecelendirme sistemlerinden daha faydalı olacağını desteklemektedir. Tümörün histolojik derecesi arttıkça p53 mutasyon oranı artar, BRCA1 (GLK2) immünreaktivitesi ise azalır. BRCA1 (GLK2)'nin sitoplazmik boyama oranı yaklaşık olarak BRCA1'in germ-line mutasyon oranını vermektedir. Düşük derecelilerdeki BRCA1 pozitifliği ile

p53 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p= 0.0001$). Buna göre düşük derecelilerde BRCA1 pozitifliği daha yüksek bulunmuştur. Ancak yüksek derecelilerdeki BRCA1 pozitifliği ile p53 pozitifliği arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır ($p= 0.666$).

Teşekkür

Bu çalışmaya maddi destek sağlayan Dicle Üniversitesi Araştırma Proje Komisyonu (DÜAPK)'na teşekkürler.

KAYNAKLAR

- Seidman JD, Russel P, Kurman RJ. Surface epithelial tumors of the ovary. In: Kurman RJ, ed. 5th ed. Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. New York: Springer-Verlag; 2002. p.791-811.
- Suo Z, Karbovo E, Trope CG, Metodiev K, Nesland JM. Papillary serous carcinoma of the ovary: An ultrastructural and immunohistochemical study. *Ultrastruct Pathol* 2004;28:141-7.
- Shih IeM, Kurman RJ. Ovarian tumorigenesis: A proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. *Am J Pathol* 2004;164:1511-8.
- Risch HA, Marrett LD, Jain M, Howe GR. Differences in risk factors for epithelial ovarian cancer by histologic type. Results of a case-control study. *Am J Epidemiol* 1996;144:363-72.
- Narod SA, Boyd J. Current understanding of the epidemiology and clinical implications of BRCA1 and BRCA2 mutations for ovarian cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002;14:19-26.
- Buller RE, Lallas TA, Shahin MS, Sood AK, Hatterman-Zogg M, Anderson B, et al. The p53 mutational spectrum associated with BRCA1 mutant ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:831-8.
- Boyd J, Sonoda Y, Federici MG, Bogomolny F, Rhei E, Maresco DL, et al. Clinicopathologic features of BRCA-linked and sporadic ovarian cancer. *JAMA* 2000;283:2260-5.
- Schofield AC, Payne S, Ross VG, Miller ID, Heys SD, Haites NE. Immunohistochemical detection of a germline BRCA1 mutation in a breast and ovarian cancer family. *Breast* 2000;9:286-91.
- Swisher E. Ovarian cancer associated with inherited mutations in BRCA1 or BRCA2. *Curr Womens Health Rep* 2003;3:27-32.
- Chapman MS, Verma IM. Transcriptional activation by BRCA1. *Nature* 1996;382:678-9.
- Classification and staging of malignant tumours in the female pelvis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1971; 50:1-7.
- Silverberg SG. Histopathologic grading of ovarian carcinoma: A review and proposal. *Int J Gynecol Pathol* 2000;19:7-15.
- Malpica A, Deavers MT, Lu K, Bodurka DC, Atkinson EN, Gershenson DM, et al. Grading ovarian serous carcinoma using a two-tier system. *Am J Surg Pathol* 2004;28:496-504.
- Mayr D, Diebold J. Grading of ovarian carcinomas. *Int J Gynecol Pathol* 2000;19:348-53.
- Ishioka S, Sagae S, Terasawa K, Sugimura M, Nishioka Y, Tsukada K, et al. Comparison of the usefulness between a new universal grading system for epithelial ovarian cancer and the FIGO grading system. *Gynecol Oncol* 2003;89:447-52.
- Aghmesheh M, Nesland JM, Kaern J, Dorum A, Edwards L, Byth K, et al. No differences in p53 mutation frequencies between BRCA1-associated and sporadic ovarian cancers. *Gynecol Oncol* 2004;95:430-6.
- Wang C, Horiuchi A, Imai T, Ohira S, Itoh K, Nikaido T, et al. Expression of BRCA1 protein in benign, borderline, and malignant epithelial ovarian neoplasms and its relationship to methylation and allelic loss of the BRCA1 gene. *J Pathol* 2004;202:215-23.
- Chan KK. Does the surgeon matter in the management of ovarian cancer? *Br J Cancer* 1999;80:1492-3.
- Mohanty SK, Dey P, Saha SC. Mean nuclear volume in ovarian papillary serous cystadenocarcinoma. *Anal Quant Cytol Histol* 2004;26:28-30.
- Hoskins WJ, Bundy BN, Thigpen JT, Omura GA. The influence of cytoreductive surgery on recurrence-free interval and survival in small-volume stage III epithelial ovarian cancer: A Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 1992;47:159-66.
- Lee H, Park G, Jung JH, Ahn WS, Lee JM, Kim BK, et al. Diagnostic approach using the expression profiling of the P53 tumor suppressor gene and its related proteins in ovarian epithelial tumors. *Int J Gynecol Cancer* 2005;15:453-61.
- O'Neill CJ, Deavers MT, Malpica A, Foster H, McCluggage WG. An immunohistochemical comparison between low-grade and high-grade ovarian serous carcinomas: significantly higher expression of p53, MIB1, BCL2, HER-2/neu, and C-KIT in high-grade neoplasms. *Am J Surg Pathol* 2005;29:1034-41.
- Singer G, Stohr R, Cope L, Dehari R, Hartmann A, Cao DF, et al. Patterns of p53 mutations separate ovarian serous borderline tumors and low- and high-grade carcinomas and provide support for a new model of ovarian carcinogenesis: A mutational analysis with immunohistochemical correlation. *Am J Surg Pathol* 2005;29: 218-24.
- Fayers PM, Rustin G, Wood R, Nelstrop A, Leonard RC, Wilkinson P, et al. The prognostic value of serum CA 125 in patients with advanced ovarian carcinoma: An analysis of 573 patients by the Medical Research Council Working Party on Gynaecological Cancer. *Int J Gynecol Cancer* 1993;3:285-92.
- Kashima K, Oite T, Aoki Y, Takakuwa K, Aida H, Nagata H, et al. Screening of BRCA1 mutation using immunohistochemical staining with C-terminal and N-terminal antibodies in familial ovarian cancers. *Jpn J Cancer Res* 2000;91:399-409.
- Zheng W, Luo F, Lu JJ, Baltayan A, Press MF, Zhang ZF, Pike MC. Reduction of BRCA1 expression in sporadic ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2000;76:294-300.