

Servikal Kanserlerde Katepsin D1, Siklin D1 ve nm23 Ekspresyonunun İmmunohistokimyasal Yöntemle İncelenmesi*

INVESTIGATION THE EXPRESSION OF CATHEPSIN D1,CYCLIN D1 AND NM23 BY IMMUNOHISTOCHEMISTRYIN CERVICAL CARCINOMA

Meral KOYUNCUOĞLU*, İlknur Bilkay GÖRKEM**, Uğur SAYGILI***, Fadime AKMAN**, Banu SİS*, Selma ŞENGİZ*,Turhan USLU***, Hilmi ALANYALI**, Emek ÖZEN*, Oktay ERTEN***

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı*

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı**

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı***

ÖZET

Amaç: Siklinler, hücre siklus progresyonunun regülasyonunda yer alırlar. Siklin D1'in aşırı ekspresyonunda, G1-S faz geçişini kısalttığı, bunun da hücrede progresyon ve diferansiyasyona, dolayısı ile onkojenik transformasyona neden olduğu bilinmektedir. Siklin D1'in çeşitli insan kanserlerinde aşırı ekspresyonu saptanmıştır ve kötü prognozla birliktelik görülmüştür. Katepsin D1, aspartik proteazlar grubuna ait, glukoprotein yapısında lizozomal proteolitik bir enzimdir. Özellikle tümörün metastatik potansiyelini artırarak etkili olabileceği düşünülmüş ve birçok tümörde prognostik önemi araştırılmıştır. nm23, metastazı baskılayıcı gen olarak tanımlanmış olup, inaktivasyonunda tümörlerin progresyon gösterdiği belirtilmiştir. Ancak farklı tümörlerde farklı sonuçlar bulunmuştur. Bu çalışmada servikal kanserli 40 olguda siklin D1, katepsin D1 ve nm23 ekspresyonu incelenmiş, ekspresyon ile evre ve yaşam süresi arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: 1981-1997 yılları arasında tanı almış 40 servikal skuamöz hücre karsinomlu olgu bu çalışmaya dahil edildi. Tüm olguların hematoksilen-cozın boyalı kesitleri tekrar gözden geçirildi ve immünboyama için tümörlü dokuların parafin bloklarından poli-l-lizinli lamlara kesitler alındı. İmmünboyama streptavidin biotin immünperoksidaz yöntemi kullanılarak yapıldı.

Bulgular: Siklin D1, katepsin D1 ve nm23 ekspresyonu ile evre ve yaşam süresi arasında ilişki saptanmamıştır.

Sonuç: Servikal kanserlerin prognozunda başka etkenlerin rolü olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Cyclin D1, Cathepsin D1, nm23, servikal karsinoma

SUMMARY

Objective: Cyclins are synthesized during specific phases of the cell cycle, and their function is to activate the cyclin-dependent kinases (CDKs). The entry and progression of cell through the cell cycle are controlled by changes in the levels and activities of cyclins. Over-expression cyclin D1 reduces the transition to G₁-S phase that results in cells progression, differentiation and oncogenic transformation. Cyclin D1 is overexpressed in many tumors with poor prognosis.

Cathepsin D is an acidic aspartil lysosomal endopeptidase. A number of different proteases are involved in invasion and metastasis. Clinical studies in several tumor

Meral KOYUNCUOĞLU
Dokuz Eylül Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı
İnciraltı-İZMİR
Tel:0232 2777777/3433
Fax: 0232 2777274

* Bu çalışma İstanbul'da 23-27 Eylül 2000'de yapılan VII. Ulusal Jinekolojik Onkoloji Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

types have shown a strong correlation between cathepsin D expression and tumor progression.

nm23 gene is a metastasis- suppressor gene that overexpression of the nm23 gene is associated with disease progression. Overexpression is variable in different human tumors even in tumors of the same organs. We studied the correlation between cyclin D1, cathepsin D1 and nm23 expression immunohistochemically and clinical stage

and survival of the patients in 40 cases with cervical carcinoma.

Material and methods: Fourty cases diagnosed as cervical carcinoma between 1981-1997 years

are studied. All of the slides stained with hematoxylin and eosin were reviewed. The tumor tissues obtained from paraffin embedded blocks and mounted on poly-L-lysine coated slides. The avidin-biotin-peroxidase method was performed.

Results:In this study, we found no correlation between cyclin D1, cathepsin D1 and nm23 expression immunohistochemically and clinical stage and survey of the patients with cervical carcinoma.

Conclusion: Parameters other than cyclin D1, cathepsin D1 and nm23 have prognostic significance in cervical carcinoma.

Key words: Cathepsin D1, cyclin D1, nm23, cervical carcinoma

Servikal kanserler, 3. dünya ülkelerinde kadınlar arasında en yaygın görülen kanserlerdir. Yaklaşık olarak dünyada her yıl 470.000 yeni vakanın ortaya çıktığı tahmin edilmekte, 370.000'i (%80) gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkmaktadır. Yaklaşık 200.000 olgu servikal kanser tanısı ile ölmekte ve bunların 160.000'i (%80) gelişen ülkelerde meydana gelmektedir. Gelişmekte olan ülkelerdeki hastalık insidansının yüksek olması tarama programları ve tedavide ciddi sınırlamalara paraleldir. Dünyanın daha az gelişen ülkelerinde servikal kanser 25-30 yaşları arasında genç kadınlarda anlamlı olarak göze çarpmaya başlamıştır (1).

Servikal kanserlerin $\frac{3}{4}$ 'ü skuamöz hücreli karsinomdur. Adenokarsinom ve adenoskuamöz karsinom görülme sıklığı %10-15 arasındadır. Sitolojik tarama programları ile gelişen ülkelerde invaziv servikal kanser insidansı azalmıştır (2). Servikal kanserde en önemli prognostik faktör evredir. Düşük evreli tümörlerde regional lenf nodu metastazi varlığı lenfovasküler alan tutulumu, lezyon büyüklüğü, derin stromal invazyon önemli prognostik faktörlerdir (3).

İnsan kanserlerinin çoğunda tümör progresyonunun; somatik mutasyon ve mutant hücrelerin klonal ekspansiyonunun birlikte etki etmesi ile oluştuğu bilinmektedir. Hücre büyümesinde negatif düzenleyici olarak etki eden mutant tümör suppressör genler ya da antionkogenler insan kanserlerinde onkogenlerden daha sık görülür. Bu genlerin inaktivasyonu, tümör progresyonuna yol açar. Gen işlevlerinin yerine getirilmesinde bir gen kopyası yeterli olduğu için, suppressör genlerin inaktivasyonu tümör gelişiminin geç

evrelerinde görülür. Fakat ailesel kanserlerde; tek allelin inaktivasyonu yeterli olduğu için kanser gelişimi daha erken ve daha sık görülür (4).

Siklinler protein fosforilasyon kaskadı aracılığı ile hücre siklusunun regülasyonunda rol oynayan bir grup proteindir. Hücrelerin hücre siklusuna girişi ve ilerlemesi siklinlerin düzeyi ve aktivitesindeki değişiklikler ile kontrol edilir (5). Siklin A ve B, G2/M faz geçişi ile ilişkili iken, C, D ve E tipi siklinler G1 fazında etkilidir (6). Siklinler etkilerini siklin bağımlı protein kinaz olarak bilinen bir grup enzim üzerinden gösterir. Siklinlerin siklin bağımlı kinazlarla bağlanıp kompleks oluşturması bu enzimleri aktifleştirir ve aktif siklin bağımlı protein kinazlar mitoz, DNA replikasyonu, nükleer laminanın depolimerizasyonunda görevli anahtar regülatör bir grup proteini fosforilize eder (5,6). Pek çok kanserde hücre siklus regülatörü olan siklinleri kodlayan genlerde mutasyonlar saptanmıştır (7). Siklin D1'in artmış ekspresyonu meme karsinomu ve baş-boyun skuamöz hücreli karsinomları gibi pek çok farklı tümörde gösterilmiştir. Siklin D1 geni 11q13 bölgesinde lokalize olup, insanlarda meme karsinomu, over ve skuamöz hücreli karsinomların yaklaşık %20-40'ında bu bölgenin amplifikasyonu saptanmıştır (8). Pek çok olguda bu proteinin artmış ekspresyonu ya da 11q13 bölgesinin amplifikasyonu kötü prognoz ve rekürrens ile ilişkili bulunmuştur (7,8). Literatürdeki çalışmalar siklin D1 ekspresyonunun klinik seyir açısından önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Malign tümörlerde progresyon ve metastazın kontrolü prognozda önemli bir faktör olarak görülmektedir.

Bu nedenle malign hücrelerin diğer dokulara invazyon ve metastaz mekanizması ek açıklamaları gerektirmektedir. Birkaç araştırmacı bazı proteazların ekstrasellüler matriksi bozduklarını ve böylelikle gastrik kanser, meme kanseri, kolon kanseri gibi malign tümör hücrelerinin, invazyon yada metastatik aktivitede önemli role sahip olduklarını göstermiştir (9).

Katepsin D tüm dokularda eksprese edilen intrasellüler lizozomal aspartil proteinazdır. Bu proteinazın subsellüler düzeydeki artışının ya da değişikliklerinin agresiv tümör davranışında etkili olduğu kabul edilmektedir (10). Özellikle tümörün metastatik potansiyelini artırarak etkili olabileceği düşünülmüş ve birçok tümörde prognostik önemi araştırılmıştır.

nm 23 ilk olarak mürine melanom hücrelerinde metastazi baskılayıcı gen olarak tanımlanmış olup; 17. kromozomun q kolonun 21.3 bölgesinde bulunur. Yüksek metastatik potansiyele sahip mürine melanom hücrelerinde nm23 ekspresyonunun azaldığı düşük metastatik potansiyele sahip melanom hücrelerinde ise arttığı gösterilmiştir (11,12). Nm23 geni ilk olarak metastazi baskılayıcı gen olarak tanımlanmasına rağmen çeşitli çalışmalarda farklı tümörlerde farklı sonuçlar bulunmuştur.

Bu çalışmada servikal skuamöz hücre karsinomlu 40 olguda siklin D1, katepsin D1 ve nm23 ekspresyonunun klinik evre ve sağkalım ile ilişkisi araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji bölümünde 1981-1997 yılları arasında tanı almış 40 servikal skuamöz hücre karsinomlu olgu bu çalışmaya alındı. Tüm olguların hematoksilen-eozin boyalı kesitleri tekrar gözden geçirildi ve immünboyama için tümörle dokuları en iyi temsil eden parafin bloklardan poli-l-lizini lamlara kesitler alındı. İmmünboyama streptavidin biotin immünperoksidaz yöntemi kullanılarak yapıldı. Kısaca, kesitler deparafinize ve rehidrate edildikten sonra %0,3'lük hidrojen peroksit solüsyonu damlatılarak endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Daha sonra sitrat tamponu içeren kaplara yerleştirilen kesitler mikrodalga fırında 2 kez 5'er dakika kaynatıldı.

Böylece antijenin açığa çıkması sağlandı. Kesitler daha sonra 15-20 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakıldıktan sonra, siklin D1 ve katepsin D1 (1/50 dilüsyonda) ve nm23 (1/25 dilüsyonda), (Dako) primer antikor damlatılarak oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Ardından oda ısısında 10 dakika boyunca bağlayıcı biotinize sekonder antikor ve streptavidin peroksidaz solüsyonu (Dako LSAB Kit) damlatıldı. Peroksidaz aktivitesini göstermek için 5 dakika boyunca 3,3'-diaminobenzidine tetrahidroklorür (DAB) (Sigma Chemical Co, St.Louis, Missouri, U.S.A) uygulandı ve çeşme suyunda yıkamadan sonra zıt boyanma sağlamak için kesitler Mayer hematoksileni ile boyandı.

Primer antikor olarak kullandığımız nm 23 proteini; nm 23-H1 ve nm 23-H2 gen ürünlerinin her ikisini de içermektedir. katepsin D1 ve nm23 pozitifliği için kontrol olarak pozitif olduğu saptanan meme karsinomu kesitleri seçildi. nm 23 nükleer ve sitoplazmik boyanma yapmakla birlikte, kendi olgularımızda belirgin olarak sitoplazmik boyanma görüldü.

İmmünohistokimyasal olarak siklin D1, katepsin D1 ve nm23 primer antikor ile boyanan tümör dokularına ait kesitlerde tümör hücrelerinin sitoplazmik olarak %0-25'inde boyanma varsa +, %25-50'sinde boyanma varsa ++, >%50 boyanma varsa +++ olarak kabul edildi.

İstatistiksel analiz için Pearson x testi uygulandı. $p < 0.05$ değerleri anlamlı sayıldı.

BULGULAR

Olgular 33 ile 72 yaş arasında değişmekte idi (ortalama 43). Olguların 1'i (%2,5) evre IA, 27'si (%67,5) evre IB, 3'ü (%7,5) evre IIA, 3'ü (%7,5) evre IIB, 2'si (%5,0) evre IIIA, 2'si (%5,0), 2'si evre IV olarak saptandı. 40 olgunun 30'u takip altında olup, 10'u eks olmuştur. Tüm olguların klinik özellikleri ile immunoreaktiviteleri Tablo I'de sunulmuştur. Olguların evrelere göre dağılımı Tablo II'de sunulmuştur. Siklin D1 ekspresyonu tüm olguların 8'inde (%20) negatif, 9'unda (%22,5) (+), 18'inde (%45) (++), 5'inde (%12,5) (+++) olarak saptandı. Eks olan olguların ise 4'ünde negatif, 6'sında değişik derecelerde

pozitif saptandı. Hastalık bulgusu olmayan olguların ise 4'ünde negatif, 26'sında değişik derecelerde pozitif saptanmıştır.

Katepsin D1 ekspresyonu tüm olguların 8'inde (%20) negatif, 14 ünde (%35) (+), 9'unda (%22.5)

(++), 9'unda (%22.5) (+++)olarak saptandı. Eks olan olguların ise 4'ünde negatif, 6'sında değişik derecelerde pozitif saptandı. Hastalık bulgusu olmayan olguların ise 4'ünde negatif, 26'sında değişik derecelerde pozitif saptanmıştır.

Tablo I. Olguların klinik ve immunreaktivite özellikleri

Olgu No	Yaş	Evre	katepsin D	Siklin D1	nm23	Takip (Haziran 2000'e kadar) Ay olarak
1	49	Ib	++	+	++	96, HBY
2	43	Ib	+++	++	-	57, HBY
3	60	Ib	-	-	+	EX (15.ay)
4	60	IIa	-	+	+++	80, HBY
5	33	Ib	+++	++	+++	EX(33.ay)
6	55	Ib	++	+	+	6,8, HBY
7	42	IIb	+	++	++	74, HBY
8	44	Ib	-	++	-	51, HBY
9	35	Ib	+	++	++	EX(9.ay)
10	42	Ib	+++	-	-	66, HBY
11	43	Ib	+++	++	+++	45, HBY
12	55	Ib	+++	++	+++	38, HBY
13	48	IIa	++	++	++	30, HBY
14	63	Ib	+++	++	-	36, HBY
15	62	Ib	+	++	+	48, HBY
16	42	Ib	++	+++	++	EX(8.ayda)
17	47	IIb	+	++	+	13, HBY
18	57	IIa	+	+	+	21, HBY
19	62	Ib	++	+	+	8, HBY
20	50	Ia	++	+	++	60, HBY
21	58	Ib	+	-	-	EX(97)
22	52	Ib	++	-	+	54, HBY
23	48	Ib	+++	++	++	progresyon +
24	64	Ib	-	-	-	96, HBY
25	48	Ib	++	+++	-	108, HBY
26	48	IIIb	+	++	-	110, HBY
27	55	Ib	++	++	-	112, HBY
28	66	Ib	-	+++	-	12, HBY
29	42	Ib	+	+++	++	48, HBY
30	42	IIIb	-	-	++	EX(94)
31	45	IIa	-	++	+	EX(98)
32	65	IV	+++	++	-	EX 6 ay önce
33	45	Ib	+	-	-	61, HBY
34	53	IV	+	-	-	EX(96)
35	50	IIb	+	+	+	EX (96)
36	54	Ib	+	++	-	12, HBY
37	51	Ib	-	+++	-	21, HBY
38	72	IIIa	+++	++	++	20, HBY
39	56	Ib	+	+	-	51, HBY
40	62	Ib	+	+	-	3, HBY

HBY: Hastalık bulgusu yok

Tablo II. Olguların evrelere göre dağılımı

EVRE	OLGU SAYISI	%
Ia	1	2,5
Ib	27	67,5
IIa	4	10,0
IIb	3	7,5
IIIa	1	2,5
IIIb	2	5,0
IV	2	5,0
TOTAL	40	100,0

nm23 ekspresyonu ise tüm olguların 19'unda (%47,7) negatif, 7'sinde (%17,5) (+), 10'unda (%25) (++) , 4'ünde (%10) (+++) olarak saptandı (Tablo III). Eks olan olguların ise 5'inde negatif, 5'inde değişik derecelerde pozitif saptandı. Hastalık bulgusu olmayan olguların ise 14'ünde negatif, 16'sında değişik derecelerde pozitif saptanmıştır (Tablo III,IV).

Pozitif immünoreaktivite ile evre ve sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0,05$) (Tablo IV).

Tablo III. Olguların Siklin D1, katepsin D, nm23 ekspresyonuna göre dağılımı

İmmun-reaktivite	-		+		++		+++		p değeri
	(n)	%	(n)	%	(n)	%	(n)	%	
Katepsin D1	8	20	14	15	9	22,5	9	22,5	$p>0,005$
Siklin D1	8	20	9	22,5	18	45	5	12,5	$p>0,005$
Nm23	19	47,5	7	17,5	10	25	4	10	$p>0,005$

Tablo IV. Siklin D1, katepsin D, nm23 ekspresyonu ile hastalık bulgusu olmayan ve ex olan olguların ilişkisi

		Hastalık bulgusu olmayanlar		Ex olanlar		p değeri
		(n)	(%)	(n)	(%)	
Katepsin D1	(-)	4	50	4	50	$> 0,05$
	(+)	11	78,6	3	21,4	
	(++)	8	88,9	1	11,1	
	(+++)	7	77,8	2	22,2	
Siklin D1	(-)	4	50	4	50	$> 0,05$
	(+)	8	88,9	1	11,1	
	(++)	14	77,8	4	22,2	
	(+++)	4	80	1	20	
nm23	(-)	14	73,7	5	26,3	$> 0,05$
	(+)	6	85,7	1	14,3	
	(++)	7	70	3	30	
	(+++)	3	75	1	25	

TARTIŞMA

İnvaziv servikal kanser ve prekürsörlerinin gelişmesinde human papilloma virüsün (HPV) primer rol oynadığı kabul edilmiştir. İnvaziv kanser örneklerinde HPV-16 ve HPV-18 en fazla saptanan onkojenik genotiplerdir. Erken evre servikal kanserlerde prognoz iyidir, 5 yıl yaşama oranı %80-90 oranındadır. En önemli prognostik parametrelerden biri lenf nodu metastazıdır. Pelvik lenf nodu metastazı olduğunda 5 yıl yaşama oranı %40-50 oranına düşmektedir. Diğer risk faktörleri primer tümörün boyutu tümör derecesi, invazyon derinliği, lenfovasküler aralık invazyonu, tümörün serviks dışına yayılımıdır ve bunlar lenf nodu metastazı, rekürrens ve 5 yıl yaşama oranı ile ilişkilidir. Adjuvan tedavi uygulanacak olguların seçiminde bu parametreler önemlidir. Ancak son 10 yılda 5 yıl yaşama oranını belirleyecek önemli etken saptanamamıştır. Bu nedenle lenf nodu metastazını ya da rekürrens oranı yüksek olan olguları saptamak güç olmuştur. İnvaziv servikal karsinomlarda HPV tipi ve klinik bulgular arasındaki ilişkiyi araştırılan pek çok çalışma yapılmış, HPV-18 'in lenf nodu metastazı ve yüksek rekürrens oranı ile ilişkili olduğu bu nedenle kötü prognozla birlikte bulunduğu saptanmıştır. Yine de HPV'nin servikal kanserlerdeki prognostik önemi tam olarak anlaşılammıştır (3).

Pek çok insan tümör hücresinde siklin D1 regülasyonunun bozuk olduğu ve siklin D1'in artmış ekspresyonunun hücrelerde in vitro ve in vivo olarak onkojenik transformasyona yol açtığı bulunmuştur. Ek olarak, insan kolon kanser hücrelerinde siklin D1'e duyarsızlığın büyüme ve tümörigenezisi inhibe ettiği gösterilmiştir (13). G1 hücre siklus proteini olan siklin D1'in artmış ekspresyonu meme karsinomu, baş boyun skuamöz hücreli karsinomları, pankreas, kolon adenokarsinomları, servikal ve vulvar skuamöz hücreli karsinomlar gibi pek çok tümörde gösterilmiştir (6-17).

Karsinogenezis aşamasında etkin olduğu gösterilen siklin D1 proteinin çeşitli tümörlerde bilinen farklı prognostik faktörlerle ilişkisini irdeleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Pankreas karsinomlarında yapılan bir çalışmada artmış siklin D1 ekspresyonunun kötü prognoz ile ilişkili olduğu saptanmış ve artmış

siklin D1 ekspresyonunun pankreas kanserinde agresiviteyi yansıtabileceği öne sürülmüştür (13). Özefajial skuamöz hücreli karsinomlarda yapılan bir çalışmada ise sadece cerrahi ile tedavi edilen olgularda siklin D1 ekspresyonunun kötü klinik seyrin önceden belirlenmesinde önemli bir parametre olduğu ileri sürülmüştür (12). Diğer bir çalışmada memenin invaziv lobüler karsinomlarının çoğunda artmış siklin D1 protein ekspresyonu saptanırken, invaziv olmayan lobüler karsinomlarda nadiren eksprese edilmesi nedeniyle yüksek siklin D1 protein seviyelerinin kanser hücrelerinin invaziv özellikleri ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (14).

Bu çalışmada servikal karsinomlarda en önemli prognostik faktör olarak kabul edilen evre ile siklin D1 ekspresyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır. Servikal skuamöz hücreli karsinomlarda bilinen diğer prognostik faktörler arasında histolojik tür ve derece, tümör boyutu, invazyon derinliği, kan damarı invazyonu, lenf nodu metastazlarının varlığı, pozitif lenf nodlarının sayısı ve en büyük çaptakinin boyutu, endometriyal yayılım ve parametriyal tutulum sayılabilir (16,17). Bazı çalışmalarda histolojik tür ile prognoz arasında korelasyon saptanamazken, bir kısmında ise büyük hücreli non-keratinize türün daha iyi, küçük hücreli türünün ise kötü prognoz gösterdiği ileri sürülmüştür. Prognozu etkileyen bir diğer faktör ise yaşur. Evre I ya da IIA tümörlerde genç ve yaşlı kadınlar arasında prognoz bakımından minimal farklılıklar olmasına rağmen, ileri evre hastalıklı genç kadınlarda kötü prognoz saptanmıştır. Eks olan olgularımızın çoğunluğu evre 1b'dir ve üçünün yaşları ortalama yaşın (43) altındadır (sırası ile 33,35,42). Hücre proliferasyon indeksi de prognozun belirlenmesinde önemlidir. Flow sitometri ile belirlenen yüksek S fazı oranlarının az diferansiye histolojik görünüm ve düşük sağkalım oranları ile korele olduğu gösterilmiştir. Angiogeneze yönelik çalışmalarda ise mikrodamar dansitesi ile prognoz arasında ilişki saptanmamıştır. Prognozu etkileyen diğer faktörler içerisinde HPV DNA bulunmaması, stromal S100 protein pozitif Langerhans hücre infiltrasyonu, c-erb-B2, ras onkogen ekspresyonu, Tn antijen (MN kan grubu antijen

prekürsörü) ve c-myc artmış ekspresyonunun kötü klinik seyir ile ilişkili olduğu bulunmuştur (16,17).

Katepsin D ekstrasellüler matriksi bozma yeteneğine sahiptir ve tümör progresyonu ile korele olduğu düşünülen katepsin B, L ve kollagenazlar gibi diğer proteinazları aktive etmektedir. Ek olarak, katepsin D varsayılan mutajenik faktör olduğu ve c-myc onkogenin amplifikasyonu ile korele olduğu düşünülmektedir. Ayrıca iyi ve az diferansiye karsinom olguları arasında intrasellüler katepsin D farklılığının sellüler polariteye bağlı olduğu görülmüştür. Bir çalışmada gastrik karsinomlarda katepsin D pozitif karsinom hücrelerinin invazyon ve metastatik potansiyel ile yakın ilişkide oldukları sonucuna varılmıştır (9).

Katepsin D'nin prognostik faktör olarak yararlı olup olmadığı tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda meme kanseri hücrelerinde cathepsin D ekspresyonu ve yaşam süresi arasında anlamlı bir ilişki olmadığı belirtilmiştir (18,19). Benzer olarak Castiglioni ve ark. hastalık evresi, tümör büyüklüğü, nükleer derece, östrojen reseptör durumu, rekürrens ve 5 yıllık yaşam süresi gibi agresiv tümör davranış indikatörleri ile katepsin D, B ya da L ekspresyonları arasında korelasyon olmadığını rapor etmişlerdir (10). Matsuo ve ark. ise evre I ve II meme kanserli hastalarda katepsin D ekspresyonun ilerleyen evre, pozitif lenf nod metastazı ve yüksek mitotik aktivite ile yakın ilişkili olduğunu göstermişlerdir (9). Bir çalışmada katepsin D konsantrasyonunun meme kanserli hastalarda kötü prognoz için bağımsız bir faktör olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada yüksek cathepsin konsantrasyonunun kısa metastazsız yaşam süresi ve hastalaksız süre ile ilişkili olduğu ve aksiller lenf nodu negatif olanlarda pozitif olanlara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlarla tanı anında lenf nodu tutulumu olmayan ancak yüksek metastatik riske sahip hastaları saptamak için faydalı olduğu belirtilmektedir (18).

Metastaz supressör gen olarak bilinen nm 23 geni ekspresyonu ile ilgili pek çok çalışmada çelişkili sonuçlar bulunmuştur (20-26). Meme karsinomlarında yapılan birçok çalışmada nm23 düzeyleri ile sağkalım süresi ve/veya prognoz arasında ilişki olduğu göste-

rilmiştir. Özellikle nm23-H1 ekspresyonunun azalmasının daha agresiv davranışla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Russel ve ark.'nın lenf düğümü metastazi olmayan meme kansinomlarında yaptığı bir çalışmada ise nm23 düzeyleri ile rekürrens ve sağkalım süreleri arasında anlamlı bir ilişki olmadığı vurgulanmıştır (22). Lee ve ark. nonneoplastik larengeal poliplerdeki skuamöz epitel hücrelerinde nm 23-H1 ile diffüz olarak sitoplazmik ve nükleer boyanma olduğunu, larengeal kansinomlarda ise boyanmanın azaldığını göstermişlerdir (24). Kodera ve ark. mide kanserlerinde serozal lenf düğümü metastazi varlığında nm 23 ekspresyonunun azaldığını, karaciğer veya periton metastazi varlığında ise azalma olmadığını göstermişlerdir (25). Watanabe ve ark.'nın bir çalışmasında; endometriyum kansinomlarında nm23-H1 ve nm 23-H2 ekspresyonunun tümör diferansiyasyonundaki artışla ilişkili olduğu bildirilmiştir. İyi diferansiye adenokarsinomlarda nm23 ekspresyonu orta derece diferansiye kansinomlardan daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte nm23 ekspresyonu ile evre, metastaz ve tümör boyutu arasında bir ilişki gösterilememiştir (26).

Bu çalışmada servikal kansinomlarda önemli bir prognostik faktör olduğu bilinen klinik evre ve yaşam süresi ile siklin D1, katepsin D ve nm23 ekspresyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak, bu konuda daha geniş hasta serilerini ve farklı popülasyonları içerecek çok sayıda ileri araştırmaya gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Chaovki N, Bosch FX, Munoz N, ve ark. The viral origin of cervical cancer in Rabat, Morocco. *Int J Cancer* 1998;75:546-548.
2. Vizecine AP, Morena V, Bosch FX, Munoz N, ve ark. International trends in the incidence of cervical cancer. Adenocarcinoma and adenosquamous cell carcinomas. *Int J Cancer* 1998;75:536-545.
3. Garzetti GG, Ciavattini A, Lucatini G, et al. The role of human papillomavirus DNAs in cervical carcinoma and risk of lymph node metastasis. *Cancer* 1998;82:886-892.
4. Locker J. Tumor suppressor genes and the practice of surgical pathology. *Hum Pathol* 1995;4:359-361.
5. Cotran RS, Kumar V, Collins T. In: Robbins Pathologic Basis of Disease. Cotran RS, Kumar V, Collins T, Eds. 6th Ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1999; 89-115, 260-329.
6. Kurzrock R, Stella K, Talpaz M. Abnormalities in the PRAD1(CYCLIN D1/BCI-1) oncogene are frequent in cervical and vulvar squamous cell carcinoma cell lines. *Cancer* 1995;75:584-590.
7. José M. Cyclin D1 overexpression enhances radiation-induced apoptosis and radiosensitivity in a breast tumor cell line. *Cancer Res.* 1999;59:1134-1140.
8. Sarbia M, Stahl M, Fink U, ve ark. Prognostic significance of cyclin D1 in esophageal squamous cell carcinoma patients treated with surgery alone or combined therapy modalities. *Int J Cancer (Pred.Oncol.)* 1999; 84:86-91.
9. Matsuo K, Kobayashi I, Tsukuba T, ve ark. Immunohistochemical localization of cathepsin D and E in human gastric cancer: A possible correlation with local invasive and metastatic activities of carcinoma cells. *Hum Pathol.* 1996;27:184-190.
10. Castiglioni T, Merino MJ, Elsner B, ve ark. Immunohistochemical analysis of cathepsins D, B and L in human breast cancer. *Hum Pathol* 1994;25:857-862.
11. Baba H, Urano T, Okada K, ve ark. Two isotypes of murine nm 23/ nucleoside diphosphate kinase, nm 23-M1 and nm 23-M2 are involved in metastatic suppression of murine melanoma line. *Cancer Res* 1995;55:1977-1981.
12. Fisman JR, Gumerlock PH, Meyers FJ, White RWD. Quantation of nm 23 ekspresyon in human prostate tissues. *J Urol* 1994;152:202-207.
13. Gansauge S, Gansauge I, Ramadani M, ve ark. Overexpression of cyclin D1 in human pancreatic carcinoma is associated with poor prognosis. *Cancer Res.* 1997;57:1634-1637.
14. Arber N, Doki Y, Han EKH, Sgambato A, ve ark. Antisense to cyclin D1 inhibits the growth and tumorigenicity of human colon cancer cells. *Cancer Res.* 1997;57:1569-1574.
15. Oyama T, Kashiwabara K, Yoshimoto K, Arnola A, Koerner F. Frequent expression of the cyclin D1 oncogene in invasive lobular carcinoma of the breast. *Cancer Res.* 1998;58:2876-2880.

16. Rosai J. Female reproductive system, Uterus-cervix. In: Ackerman's Surgical Pathology. Rosai J, Ed. 8th Ed. St.Louis, Mosby, 1996; 1353-1392.
17. Wright TC, Ferenczy A, Kurman RJ. In: Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. Kurman RJ, Ed. Springer-Verlag, New York, 1994; 279-327.
18. Spyrtos F, Brouillet JP, Defrenne A, ve ark. Cathepsin D: An independent prognostic factor for metastasis of breast cancer. *Lancet* 1989;11:1115-1118.
19. Foekens JA, Look MP, Vries JB, Gelder MM, Putten WLJ, Klijn JGM. Cathepsin D in primary breast cancer: prognostic evaluation involving 2810 patients. *Br J Cancer* 1999;79:300-307.
20. Mandai M, Konishi I, Koshiyama M, ve ark. Altered ekspresion of nm 23-H1 and c-erb-2 proteins have prognostic significance in adenocarcinoma but not in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1995;75:2523-2529.
21. Shina H, Igawa M, Urakami S, Shirakawa H, Ishibe T. Immunohistochemical analysis of nm 23 protein in transitional cell carcinoma of the bladder. *Br J Urol* 1995;76:708-713.
22. Russel RL, Geisinger KR, Mehta RR, White WL, Shelton B, Kute TE. Nm 23 relationship to the metastatic potential of breast carcinoma cell lines primary human xenografts and lymph node negative breast carcinoma patients. *Cancer* 1997;79:1158-1165.
23. Igawa M, Rukstalis DB, Tanabe T, Chodok GW. High levels of nm 23 ekspresion are related to cell proliferation in human prostate cancer. *Cancer Res* 1994;54:1313-1318.
24. Lee CS, Redshaw A, Boag G. Nm 23-H1 protein immunoreactivity in laryngeal carcinoma. *Cancer* 1996;77:2246-2250.
25. Kodera Y, Isobe K, Yamauchi M, ve ark. Ekspresion of nm 23-H1 RNA levels in human gastric cancer tissues. *Cancer* 1994;73:259-265.
26. Watanabe J, Sato Y, Kuramoto H, Kameya T. Ekspresion of nm 23-H1 and nm 23-H2 protein in endometrial carcinoma. *Br J Cancer* 1995;72:1469-1473.