

69448

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü
Kadın Hastalıkları ve Doğum
Anabilim Dalı

EPİTELİYAL OVER TÜMÖRLERİNDE
p 53 VE c-erbB-2 EKSPRESYONUNUN KLİNİK VE
PATOLOJİK FAKTÖRLER İLE İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ
DR. ERBİL DOĞAN

TEZİ YÖNETEN
PROF. DR. BERRİN ACAR

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İZMİR, 1998

İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ.....	2
I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
II. GENEL BİLGİLER.....	4
III. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
IV. SONUÇLAR.....	25
V. TARTIŞMA.....	34
VI. ÖZET.....	42
VII. KAYNAKLAR.....	44

ÖNSÖZ

Kadın hastalıkları ve doğum uzmanlık eğitimim sırasında bilgi, beceri ve birikimleriyle yetişmeme katkıda bulunan değerli hocalarım **Prof Dr. Oktay ERTEN'e**, **Prof. Dr. Ata ÖNVURAL'a**, **Prof Dr. Namık Demir'e**, **Prof. Dr. Turhan USLU'ya**, **Doç. Dr. Bülent GÜLEKLİ'ye**, **Doç. Dr.Cemal POSACI'ya**, **Doç. Dr.Yakup Erkan ERATA'ya** , **Doç. Dr. Murat CELİLOĞLU'na**, **Yrd. Doç. Dr. Uğur SAYGILI'ya**, tezimin her aşaması ile ilgilenen tez danışmanım **Prof. Dr. Berrin ACAR'a** ve materyallerin değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen **Patoloji A.B.D.'dan Doç. Dr. Meral KOYUNCUOĞLU'na** sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca 5 yıllık eğitimim sırasında sevinçleri ve hüzünleri birlikte paylaştığım doktor, hemşire, personel bütün mesai arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Dr. Erbil Doğan

GİRİŞ ve AMAÇ

Over kanseri, kadın genital kanserleri arasında en çok ölüme neden olan kanserdir. Her yenidoğan 70 kız çocuğundan biri hayatlarının bir döneminde over kanserinden etkilenmekte ve bunların büyük çoğunluğu hastalık nedeniyle hayatlarını kaybetmektedir. Epiteliyal over kanserinin etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik, hormonal ve çevresel faktörlerin etkin olduğu düşünülmektedir.

Son yıllarda, kanserin genetik bir hastalık olarak kabul edilmesi ile bu yöndeki çalışmalar artmış olup, iki gen tipi tespit edilmiştir. Bunlar; tümör supresör genler ve proto-onkogenlerdir.

Bir tümör supresör gen olan p53 ve bir proto-onkogen olan c-erbB-2 çeşitli insan kanserlerinde artmış olarak bulunmuş ve bunların kanserin çok basamaklı gelişiminde rol oynadıkları ileri sürülmüştür.

Over kanseri, genital kanserler içinde en fazla genetik predispozisyon taşıdığına inanılan kanserdir. Nedeni tam olarak bilinmese de tekrarlayan ovulasyonların kanser oluşumunda rol oynadığı yönünde çok kuvvetli deliller vardır. Over kanserinin semptomlarının geç ortaya çıkması ve etkili bir tarama metodunun henüz geliştirilememesi nedeniyle, erken tanısı genellikle mümkün olmamakta ve olguların %75'i evre III olarak tanı almaktadır. Bu da hastaların prognozlarını kötü yönde etkilemektedir.

Benign, borderline ve malign epiteliyal over neoplazilerinde, p53 ve c-erbB-2 ekspresyonunu immünohistokimyasal boyama metodu ile araştırarak, bu genlerin over tümörlerinin histolojik tipi, grade'i, evresi ve hasta yaşı gibi klinik ve patolojik faktörler ile ilişkisini ve aralarında bir korelasyon olup olmadığını araştırmak amacıyla bu çalışma yapılmıştır.

GENEL BİLGİLER

Over kanseri son 25-30 yılda üzerinde en fazla çalışma yapılan, ancak bütün bu çalışmalara rağmen tanı ve tedavisinde sınırlı bir ilerleme sağlanabilen, jinekologların önemli bir sorunudur. Tüm dünyada kadınlarda sık görülen, yedinci sırada yer alan bir malignite olup, kadın kanserlerinin %4'ünü, jinekolojik kanserlerin ise %23'ünü oluşturur (1). Ayrıca kadın genital sistem kanserleri arasında %53 ile en çok ölüme neden olan malignansidir (2). Ailevi over kanseri olmayan kadınlarda hayat boyu risk %1.4 (70 kadında 1) olarak tahmin edilmektedir. Bu oran iki veya daha fazla birinci derece akrabasında over kanseri olanlarda %50'ye kadar çıkabilmektedir (3).

Gelişmiş ülkelerde daha sık görülen over kanserinin insidansı coğrafi bölgelere göre büyük farklılık gösterir. En yüksek insidanslar (11.5-15.3/100000 kadın) İskandinav ülkeleri, İsrail, A.B.D. ve Kanada'da görülürken, gelişmekte olan ülkelerde ve Japonya'da en düşük insidanslara rastlanır (3.3-7.8/100000 kadın).

Over kanseri her yaşta görülebilirse de 40 yaşından önce nadirdir. 40 yaşından sonra ise insidans hızla artar, 65-75 yaşları arasında pik yapar ve sonra biraz azalır.

Son yıllarda over kanserinin tedavisindeki gelişmelere rağmen 5 yıllık yaşam oranı yine de düşüktür (%39.5). Çünkü olguların %75'den fazlası ileri evrelerde tanı almaktadır. Eğer over kanseri erken evrelerde tanı alabilirse 5 yıllık yaşam oranı %89'a kadar çıkabilmekte, ama ileri evrelerde %18'e kadar düşmektedir. Sağ kalım oranları ırklara göre değişim göstermemekte, ancak yaşla birlikte önemli oranda değişmektedir. 50 yaş altındaki kadınlarda sağ kalım oranları, 50 yaş üstündekilerden iki kat fazladır (4).

Over kanserlerinin histolojik tipi yaşa göre değişmektedir. Yirmili yaşlarda görülen tümörlerin çoğu germ hücreli tümörler iken, postmenopozal dönemde %80 oranında epiteliyal tümörlerdir. Menopoz öncesi hastalarda epiteliyal over tümörlerinin sadece %7'si malign iken menopoz sonrası dönemde malignite oranı %30'a çıkmaktadır (5).

Epiteliyal over kanser riskini arttıran faktörler; yaş, ırk, nulliparite, infertilite, endometrium veya meme kanseri öyküsü ve ailevi over kanseri öyküsü olarak bulunmuştur. Riski azaltan faktörler ise; bir veya daha fazla term gebelik, oral kontraseptif kullanımı ve emzirmedir. Etiyolojide öne sürülen fakat tam olarak bir sonuç elde edilemeyen diğer faktörler arasında ise; talk, fertilité ilaçları, postmenopozal estrogen tedavisi, menarş ve menopoz yaşı, tuba ligasyonu, histerektomi, diet (yağ ve protein alımı, total kalori içeriği, laktoz intoleransı, kahve, alkol tüketimi), kabakulak ve diğer enfeksiyöz hastalık öyküsü sayılabilir (4).

Over kanseri olan hastalar genellikle ileri evrede tanı almaktadırlar. Bunun nedeni ise overlerin ulaşılması zor lokalizasyonda olmaları ve hastalığın belirtilerinin nonspesifik olmasıdır. Hastanın hekime başvurmasına neden olan yakınmalar genellikle tümör boyutlarının büyümesine ve / veya asit gelişmesine bağlı oluşan karın ağrısı ve karında şişliktir. Diğer sık görülen semptomlar arasında bulantı, kusma, dispepsi, iştahsızlık, konstipasyon ve diare sayılabilir. Ayrıca anormal vaginal kanama ya da postmenopozal kanama da görülebilir. Over kanserine bağlı vaginal kanama çeşitli faktörlere bağlıdır. Bunlar, neoplazinin stromal komponentinin estrogen salgılamasına bağlı oluşan endometrial hiperplazi, eş zamanlı olarak primer endometrium kanseri bulunması ve uterus, serviks veya vaginaya metastazların olmasıdır.

Over kanserinin primer yayılma yolu, peritoneal implantasyon ile karın içindeki organlara yayılımdır. Bununla birlikte, lenfatik damarlarla özellikle pelvik ve paraaortik lenf bezlerine metastazlar ve ileri evrelerde de karaciğer ve akciğer gibi parenkimal organlara hematojen yayılım görülür.

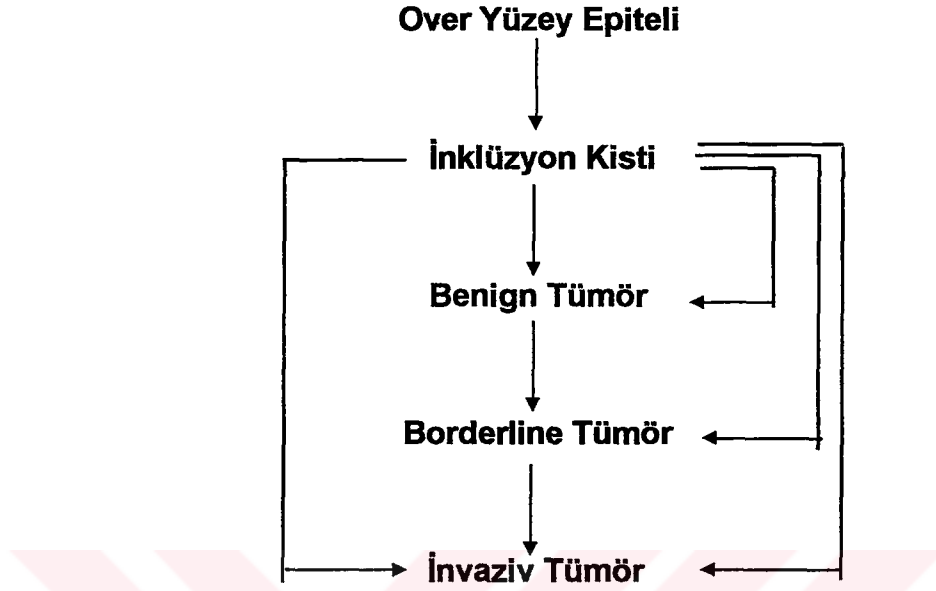
Over kanserinin prognozunu kötü yönde etkileyen en önemli faktör, ileri cerrahi evredir. Bununla birlikte; yüksek histolojik grade, berrak hücreli tip, ileri hasta yaşı, kötü performans durumu, asit volümü, ve cerrahi sonrası rezidüel tümör dokusunun bulunması prognozu kötü yönde etkileyen diğer bağımsız faktörlerdir. Ayrıca aneuploid DNA içeriği de kötü prognozu göstermektedir (6).

Over Kanserinin Moleküler Temeli

Over kanseri jinekolojik maligniteler içinde en çok ölüme neden olmasına rağmen, agresif biyolojik davranışları olan bu malignitenin gelişiminden sorumlu olan moleküler genetik mekanizmalar hakkında bilinenler yetersizdir. Over kanseri üzerinde çalışılması zor bir kanser türüdür. Bunun nedenleri overlerin erişilmesi zor lokalizasyonda olması ve analiz için elde edilen tümörlerin ileri evrede olmasıdır. Ayrıca normal ovaryan epitelden invaziv karsinoma geçiş tam olarak anlaşılamamıştır.

Overin epiteliyal karsinomlarının, yüzey epitelinin neoplastik transformasyonu ile geliştiği ileri sürülmektedir. Histogenezin tam mekanizması bilinmemekle birlikte, devamlı ovulasyon sonucu germinal epitelin stroma içine gömülmesi ile epiteliyal inkülizyon kistlerinin oluştuğu hipotezi ileri sürülmektedir. Tekrarlayan ovulasyonlar ile hücresel tamir mekanizmalarının aktive olması, somatik genlerde delesyon ve mutasyonlar için ortam hazırlar. Sonuçta, ortaya çıkan onkojenik uyarıların etkisi

ile bu epitelin malign transformasyon geçirdiği düşünülmektedir. Ancak normal epitelin doğrudan invaziv kansere mi dönüştüğü, yoksa benign ve / veya borderline neoplaziler gibi ara basamaklardan mı geçtiği bilinmemektedir (Şekil 1) (7).



ŞEKİL 1. Overin Epiteliyal Kanserlerinin Gelişmesinde Üç Olası Yol

Son zamanlara kadar, benign ve borderline tümörlerin invaziv karsinomların öncüsü olduğu yönündeki en büyük delil, bu tümörlerin invaziv tümörlerden daha erken yaşlarda tanı almalarıydı. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, seröz ve müsinöz over kistadenokarsinomlarının bir çoğunda borderline ve malign epitel alanlarına komşu bölgelerde benign epitelin bulunması, bazı benign ve borderline over tümörlerinin gerçekte invaziv kanserlerin öncüsü olduğu kavramının ileri sürülmesine yol açmıştır. Yapılan bir çalışmada, karşı overinde epitelial tümör bulunan hastaların, diğer overlerinin yüzey epitellerinde ve inklüzyon kistlerinde %92 oranında hiperplastik ve metaplastik değişiklikler saptanmış ve bu değişikliklerin genellikle bilateral olan over kanserinin gelişiminde potansiyel rolleri olabileceği ileri sürülmüştür. Histolojik olarak yüzey epiteli ve inklüzyon kistlerindeki bu değişimlerin benign kistadenomlara benzerlik gösterdiği

düşünülmektedir. Over tümörlerinde premalign evrenin muhtemelen çok hızlı ilerlediği ve gözlemlenmesinin çok zor olduğu öne sürülmektedir (8).

Her normal hücre, lokal çevrelerinden gelen büyümeyi sağlayan uyarıcı mesajları almak ve onları hücre çekirdeğine iletmekle sorumlu kompleks mekanizmalar içerir. Bu mekanizmalar sonucunda hücre bölünmesine yol açan genler aktive olur. Proto-onkogenler bu sinyal iletim yolunun bir çok komponentini kodlar. Bunlar içinde büyüme faktörleri, hücre yüzey reseptörleri, sitoplazmik sinyal mediatörleri ve çekirdek içindeki transkripsiyon faktörleri sayılabilir. Over kanserlerinin gelişiminde etkili olduğu saptanan iki proto-onkogen c-erbB-2 (Her2/Neu) ve ras ailesi proto-onkogenleridir. Kolon, akciğer, ve pankreas gibi insan adenokarsinomlarında ras ailesi proto-onkogenlerinde mutasyonlar tespit edilmiştir. Bu onkogende oluşan bir nokta mutasyon sonucunda üretilen mutant ras proteini yapısal olarak aktive olur ve hiç bir mesaj olmamasına rağmen, hücreye sürekli olarak büyüme sinyalleri gönderir(9).

Kolonun premalign adenomlarında K-ras mutasyonları belirlenmiş ve bunun kolon kanseri gelişiminde erken genetik bir olay olduğu ileri sürülmüştür. Over kanserlerinde de özellikle borderline ve invaziv müsinöz kanserlerde K-ras mutasyonları saptanmıştır. K-ras mutasyonları borderline müsinöz kanserlerin yaklaşık yarısında saptanmıştır. Bu bulgu, K-ras mutasyonlarının, müsinöz over kanseri gelişiminde erken bir olay olduğunu ve borderline tiplerin de invaziv tümörlerin öncüsü olduğunu düşündürmektedir (10).

Hereditör Over Kanserleri: Tüm over kanserlerinin %5-10'unun hereditör kaynaklı olduğu tahmin edilmektedir. Birinci derece akrabalarında over kanseri olan kadınlarda hayat boyu over kanserine yakalanma riski %40'dır. Jinekolojik

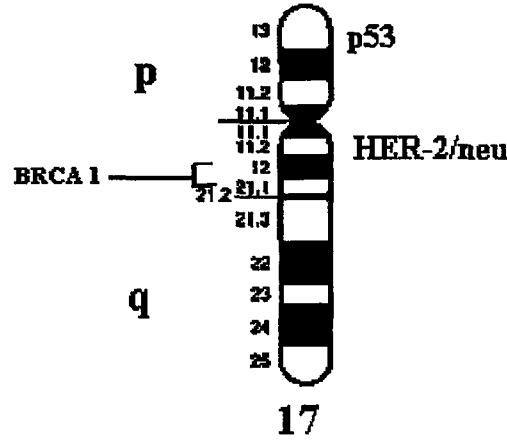
komponentler içeren çeşitli familial kanser sendromları tanımlanmıştır (11). Bunlar içinde over kanseri ile ilgili olan 3 sendrom dikkati çekmektedir:

1-) Meme-over kanser sendromu

2-) Herediter non-poliposis kolorektal kanser (Lynch Sendromu Tip II)

3-) Herediter site-spesific over kanseri

Herediter meme-over kanser sendromu, üzerinde en çok çalışılan gruptur. Bu sendromda, primer meme ve over kanseri bir arada görülür. Hastalarda erken yaşlarda (30-40) meme kanseri gelişir ve takip eden 5-10 yıl içinde de over kanseri ortaya çıkar. Bu sendromun gelişmesinde rol oynadığı düşünülen 17. kromozomun uzun kolunda (17q) yer alan BRCA 1 geni tespit edilmiştir (Şekil 2). Bir tümör supresör gen olan BRCA 1 geni 17q 21-22 bölgesinde yer almakta ve 1863 amino asitlik bir proteini kodlamaktadır. Sadece meme kanseri olan ailelerde %45, meme ve over kanseri olan ailelerde ise tamamına yakınından BRCA 1 geni sorumludur. Meme-over kanseri öyküsü olan ailelerde, mutant BRCA 1 aleli olan bir kadında; kümülatif meme ve over kanser riski 70 yaşında %76'dır. Bu da BRCA 1'in her iki malignite için de yüksek penetranslı - predispozan bir gen olduğuna işaret etmektedir (12).



Şekil 2. BRCA 1, p53 ve c-erbB-2 genlerinin 17. kromozom üzerindeki lokalizasyonları

Lynch II Sendromu ise otozomal dominant geçiş gösterir ve karakteristik olarak proksimal kolon, endometrium ve over de erken yaşlarda kanser gelişimiyle kendini gösterir. Bu sendroma 2. kromozom üzerindeki defektif DNA "mismatch repair" genlerinin neden olduğu gösterilmiştir (13).

Hereditör site-spesifik over kanser sendromu ise en az görülen tiptir. Otozomal dominant geçiş gösterir ve erken yaşlarda ortaya çıkmasıyla karakterizedir (7).

Over kanserlerinde çeşitli kromozomlar üzerinde (6q,6p,9q,13q,17p ve 17q) yapılan çalışmalarda yüksek oranda heterozigote kaybı tespit edilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda 17 numaralı kromozomun over tümörü gelişiminde önemli rol oynadığı ortaya çıkmıştır (14). Bir çok tümörde, 17. kromozomun kısa kolunda p53 lokusunda heterozigote kaybı gözlenirken, benzer şekilde uzun kolda da BRCA 1 bölgesinde de kayıplar saptanmıştır. Pieretti ve arkadaşları (15) farklı grade ve histolojik tipteki 87 sporadik epitelial over tümörünü incelediklerinde 17. kromozomda %35 oranında heterozigote kaybı tespit etmişlerdir. İlginç olarak, 17. kromozom kaybı %49 ile en sık seröz tümörlerde görülürken, endometroid

tümörlerde %15, müsinöz tümörlerde ise sadece %4 oranında saptanmıştır. Bu bulgular 17. kromozomun, seröz tümörlerin progresyonunda endometroid tümörlerdekinden daha fazla rol oynadığını, müsinöz tümörlerin ise daha farklı bir biyolojik gelişim gösterdiğini düşündürmektedir. 17. kromozom üzerindeki tümör supresör genlerin kaybı tümör progresyonunda selektif bir büyüme avantajı kazandırmakta ve yüksek maligniteli tümör gelişimine yol açabilmektedir.

Tümör Supresör Genler ve Proto-onkogenler

İnsan kanserlerinde saptanan genetik değişikliklerin çoğu, normal foksionu büyüme ile ilgili olan genlerdeki kazanılmış veya kalıtsal olan değişimlerdir. Buradaki genler; polipeptit büyüme faktörünü kodlayan genler, bu moleküllerin hücre yüzey reseptörlerini kodlayan genler, ve sitoplazmik sinyal iletimini sağlayan genlerin tümüdür. Bir grup da, diğer genlerin ekspresyonunu kontrol eden nükleer transkripsiyon faktörlerini kontrol eden genlerdir. Onkogeneizde iki tip gen rol almaktadır. Bunlar tümör supresör genler ve proto-onkogenlerdir. Tümör supresör genler isminden de anlaşılacağı gibi hücre büyümesini kontrol eden genlerin fonksiyonlarını düzenleyerek tümör gelişimini bloke ederler. Proto-onkogenler ise malign transformasyonu kolaylaştırırlar. Tümör supresör genler normalde hücre proliferasyonunu inhibe eden yollarda görev alan protein ürünlerini kodlarlar (Tablo 1). Bu genlerin malign transformasyonda rol almaları için her iki alelin de inaktif olması gerekmektedir. Bu nedenle tümör supresör genler çekinik gen olarak davranmaktadırlar. Proto-onkogenler ise hücre büyümesinde sinyal iletimini sağlayan peptit büyüme faktörlerini ve onların reseptörlerini kodlayan genlerdir (Tablo 2). Bu genlerin mutasyon, gen amplifikasyonu, overekspresyon veya translokasyon ile aktive olarak hücrelerde onkojenik transformasyona yol açmaları için tek bir alel de değişiklik yeterli olabilmektedir. Bu nedenle proto-onkogenler baskın gen olarak davranmaktadırlar (7).

Tablo 1. Tümör supresör genler

Tümör Supresör Genler	
p53	solid tümörlerin %50'sinde mutasyona uğramıştır
Rb	delesyon ve mutasyonları retinoblastomaya yol açar
WT1	mutasyonları Wilm's tümörü ile koreledir
NF1	nörofibromatosis genidir
APC	familial adenomatöz poliposis olan hastalarda kolon kanseri gelişimine neden olur

Tablo 2. Bazı proto-onkogenlerin gen ürünleri ve fonksiyonları

Protoonkogenler	Gen ürünü ve fonksiyonu
Büyüme Faktörleri	
fgf-5	Fibroblast büyüme faktörü
sis	PDGF- β
hst,int-2	
Transmembran reseptörleri	
erbB	EGF reseptörü
HER-2/neu (c-erbB-2)	EGF-bağlantılı reseptör
fms	CSF reseptörü
kit	Stem-cell reseptörü
trk	sinir büyüme faktörü reseptörü
İç membran reseptörü	
Bcl-2	
ras ailesi	
fgr, lck, src, yes	
Sitoplasmik Sinyal ileticileri	
crk, cot, plm-1, mos	
DNA'ya bağlanan proteinler	
jun, ets, fos, myc, myb	

Tümör supresör genlerde fonksiyon kayıpları çeşitli sayıda mekanizmalarla olur. Bunlar gende delesyon, inaktive eden mutasyonlar, gen transkripsiyonunun olmaması, veya yapısal olarak normal olan gen ürününün inaktive olması olarak sayılabilir. Genellikle tümör supresör genin her iki fonksiyonel kopyasının kaybı, bir alelde inaktivasyon mutasyonu, diğer alelin de delesyonu şeklinde olur.

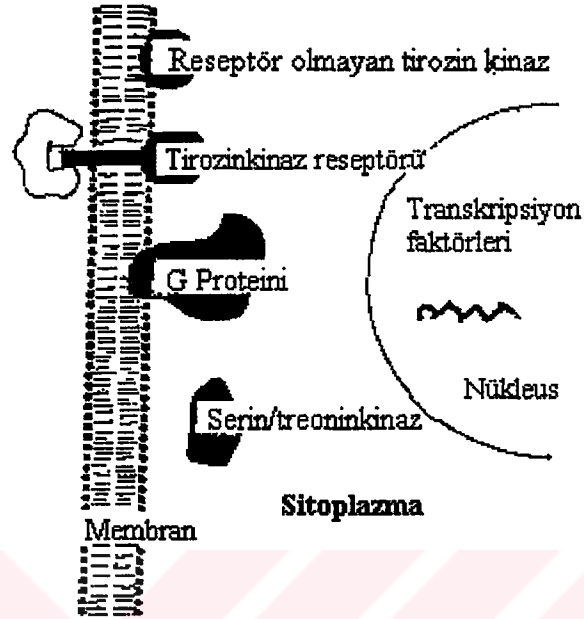
Onkogenlerin çoğu proto-onkogen denilen ve normal hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonunun kontrolünde rol oynayan genlerin aktive olmuş mutant

formlarıdır. Gendeki bir mutasyon veya genin eksternal kontrolünün değişmesi sonucunda gen farklılaşır veya gen ürünü fazla eksprese olursa, olayın olduğu hücrede büyümenin kontrolü kaybolur ve malign transformasyon başlar.

Bu güne kadar 60 civarında proto-onkogen tanımlanmıştır. Bunlar yapısal ve fonksiyonel özelliklerine göre çeşitli sınıflara ayrılmışlardır (Tablo 2) (16). Proto-onkogen ailesinin en büyük grubunu tirozin kinazlar oluşturur. Bunlar spesifik hücresel proteinlerin tirozin rezidülerine ATP'den bir fosfat grubu transfer ederler. İki tip tirozin kinaz tarif edilmiştir. Birinci grup hücre yüzeyinde peptit büyüme faktör reseptörü olarak görev yapar. Bu proteinler, hücre membranında köprü görevi yaparlar ve ekstraselüler domainine uygun ligandın bağlanması ile sitoplazmik tirozin kinaz domainini aktive ederler. İkinci grup kinazlar ise hücre membranının iç yüzüne sıkıca bağlanmışlardır. Bu her iki tip tirozin kinaz da sinyal iletiminde görev yapan hücresel proteinleri fosforilasyonla aktive ederler. Onkojenik olarak aktive edilebilme potansiyeline sahip bu tirozin kinaz ailesinin yanında sitoplazmik serin-threonine kinazlar da proto-onkogen olarak rol alabilmektedirler (Şekil 3).

Kinazlar gibi membran assosiyel G proteinleri de mitojenik uyarıların hücre yüzeyinden intraselüler efektörlere iletilmesinde önemli mekanizmalarda rol oynar. Hücre membranı ve sitoplazmik proteinleri kodlayan proto-onkogenler ekstraselüler mitojenik uyarıları nükleusa iletirler. Fakat eğer proliferasyon oluşacaksa bu periferik sinyaller gen ekspresyonunu etkilemeli ve DNA sentezini ve sonuçta sitokinezi başlatmalıdır. Bu aşamada ürünleri DNA'ya bağlanıp transkripsiyonu regüle eden nükleer genler tanımlanmıştır. myc ve fos gibi bu genler, peptit büyüme faktörleri ile indüklenince, spesifik DNA düzenleyici elemanlara bağlanarak sonuçta DNA sentezine ve normal hücre bölünmesinde rol

alan genlerin transkripsiyonuna yol açarlar. Bunun tersine, uygunsuz olarak overeksprese olunca da bu transkripsiyon faktörleri onkogen olarak rol alırlar (17).



Şekil 3. Proto-onkogenlerin hücredeki reseptörleri

P53 Tümör Supresör Geni

Bir nükleer fosfoprotein olan p53 proteini, ilk olarak papova virüs SV40 ile transforme olmuş hücrelerde SV40'ın onkojenik ürünü olan T antijenine bağlı olarak bulunmuş ve bu interaksiyonun transformasyonda önemli olduğu düşünüülerek, p53 bir tümör antijeni olarak sınıflandırılmıştır. Daha sonra kültür ortamlarında çeşitli transforme olmuş veya tümörden elde edilmiş hücre serilerinde büyük miktarlarda (transforme olmamış hücrelere göre 5-100 kat) p53 proteini tespit edilmiştir. Transforme olmuş hücrelerdeki p53 proteininin yarı ömrü transforme olmamış hücrelerdekinden daha uzun bulunmuştur (18).

p53 geni, 17. kromozomun kısa kolunda 17p13.1 bölgesinde yer alan (Şekil 2), 11 ekson içeren ve 393 amino asitlik ve 53 kilo Dalton ağırlığındaki bir nükleer

fosfoproteini kodlar (19). p53 geni, herediter ve sporadik insan kanserlerinin bir çoğunda gösterilmiştir. Bunlar içinde en detaylı kolon kanseri araştırılmış ve %75'inde biri delesyonla, diğeri ise nokta mutasyonla olmak üzere her iki p53 alelinde de kayıp olduğu görülmüştür (20). Buradaki nokta mutasyonlar genellikle farklılaşmış bir protein ürününe yol açarlar. Bu da göstermektedir ki, normal p53 lokusundaki mutasyonlar wild tip (normal) p53 aleline göre resesiftir ve sadece wild tip p53 aleli inaktive olunca tümör oluşumuna katkıda bulunabilir (21).

p53 gen mutasyonlarının çeşitli özellikleri vardır. Öncelikle bunlar missense (yanlış anlama) mutasyonlar olup, bu nedenle farklı bir protein ürününe yol açarlar. İkincisi ise mutasyonlar rastgele dağılmamışlardır. Çoğu 139-290 arasındaki aminoasit rezidülerinde kümelenmişlerdir. Bu mutasyonların büyük kısmı da proteinin dört bölgesine lokalizedir (117-142; 171-181; 234-258 ve 270-286). Bu bölgeler, türler arasında ileri derecede korunmuş bölgelerdir. Bu mutasyonların frekans ve dağılımı, farklı doku tiplerindeki kanserlerde değişkenlik gösterir. Bu fark da muhtemelen değişik mutajenler veya ayrı çevresel faktörlerden ileri gelmektedir (21).

p53'ün Hücre Büyümesini Regüle Etmesi: Kültür ortamında transforme olmuş hücre içine, wild tip p53 geni veya c-DNA'sının yerleştirilmesi ile mitozu takip eden hücre siklusunun G₁ fazında hücre büyümesi durur (22). Wild tip p53, aynı zamanda hücre serilerinin tümörjenik potansiyellerini azaltır veya ortadan kaldırırken, mutant formlarında bu etki kaybolur (23).

Mutant p53 proteininin hücre büyümesini nasıl etkilediği konusunda iki hipotez ileri sürülmektedir. Birincisine göre mutant protein wild tip ile oligomerik bir kompleks oluşturur. Mutant form ortamda fazla olduğu zaman wild tipin normal fonksiyon

görmesini engeller. Yani baskın fonksiyon kaybı mutasyonu (dominant loss-of-function mutation) oluşur. Bu fikre göre, kültür hücrelerinde malign transformasyon elde etmek için yüksek konsantrasyonda mutant p53 proteini, wild tip p53 ile oligomerik kompleksler oluşturarak, nükleer kompartmana geçmesini engeller ve fonksiyonunu inhibe eder. Bir ikinci hipoteze göre de, mutant p53, wild tip p53'ün negatif regülasyonunu engelleyip malign transformasyonu sağlayan yeni bir fonksiyon kazanır (gain of function). Bu hipotezi destekleyen çalışmalarda p53 eksprese etmeyen hücrelere mutant p53 proteini eklenmiş ve mutant p53'ün hücrede eksprese olması ile tümöral gelişim gözlenmiştir (24).

Sonuç olarak, mutant p53 proteininin tümör oluşumunda hem baskın fonksiyon kaybı, hem de fonksiyon kazanım (gain of function) mutasyonu olduğu yönünde deliller vardır. Aynı zamanda mutant p53 proteini içeren hücrelerde wild tip p53 proteini overeksprese olduğunda hücrenin transformasyon, büyüme ve tümörijenik potansiyelinde baskılanma olduğu görülmüştür. Buna göre hücre bölünmesinde mutant p53'ün wild tip p53'e oranının kritik bir rolü olduğu düşünülebilir.

p53'ün Viral Onkogenler İle İlişkisi: Wild tip p53, kültür ortamındaki hücrelerin viral veya hücrel onkogenler tarafından transforme olmasını baskılar veya inhibe eder. SV40, bazı adenovirüsler ve HPV 16 ve 18 gibi DNA virüslerinin hayvanlarda tümör oluşumuna yol açtığı bilinir. Bu virüsler, konakçı hücrede bir veya daha fazla onkogeni kodlar ve bu onkogenlerin ürünleri konakçı hücrede bölünme ve büyümeyi hızlandırır. Onkoproteinler (SV40'nin büyük T antijeni, adenovirüsün E1A ve E1B 55k proteini ve HPV E6 ve E7 proteini) Rb ve p53 gibi hücre büyümesinin negatif regülatörlerine bağlanırlar ve bunları inaktive ederler. Örneğin; HPV E6 proteini, p53'e bağlanarak ubiquitin proteaz sistemi yolu ile p53 proteininin proteolitik yıkımını artırır. Yani p53 proteini, DNA tümör virüslerinin onkoproteinleri

için, p53 geni de doğal gelişen insan ve hayvan kanserlerinde mutasyon için bir hedef gendir(25).

p53 Proteininin Normal Fonksiyonu: p53 proteininin hücre siklusunun kontrolünde DNA tamiri ve sentezi, hücre diferansiyasyonu, genomik plastisite ve programlı hücre ölümünde görev aldığı öne sürülmektedir. Hücresel yapı, hücresel ve viral proteinler ile interaksyonu, ve proteinin fiziksel konformasyonundaki değişiklikler bu aktivitelerini modüle eder. p53 proteininin bütün fonksiyonlarının eş zamanlı olarak aktif olmadığı düşünülmektedir. Ancak, bu proteinin çok farklı etkileri olduğu açıktır. Bunun sebebi, p53 proteininin, spesifik DNA dizilimi içeren çeşitli genlerin transkripsiyonunu indüklemesidir. Bu sekansı içeren genler içinde; mdm-2 (murine double munite) onkogeni, kreatin kinaz geni ve GADD45 (growth arrest DNA damage inducible) geni vardır. p53 proteininin bu transkripsiyonu baskılama yeteneği, transkripsiyon-inisiasyon kompleksinin elzem olan üyelerinden birine bağlanmasına bağlıdır. Sonuç olarak, normal p53 proteininin ortamda fazla olması, hücre büyümesinin kontrolünde temel teşkil eden genlerin ekspresyonlarını inhibe eder. Bu genler içinde muhtemelen diğer süpresör genler ve nükleer transkripsiyon faktörlerini kodlayan proto-onkogenler vardır (19).

p53 proteininin gen transkripsiyonu üzerine etkileri; genin kendisindeki modifikasyonlara, fosforilasyon gibi posttranskripsiyonel modifikasyonlara veya hücresel ve viral proteinlerle etkileşimlerine göre değişebilmektedir. Mdm-2 gibi bir hücresel transkripsiyon faktörü, p53 proteinine bağlanıp, p53'ün transkripsiyon aktivitesini inhibe eder. Mdm-2 onkogeninin amplifikasyonu ile oluşan gen ürünü, p53'ün tümör süpresör aktivitesini inaktive eder. Onkojenik HPV virüsleri tarafından üretilen onkoproteinler de p53'ün spesifik DNA bölgesine bağlanmasını ve transkripsiyon aktivitesini de azaltırlar.

p53 , GADD45 ve ataksia telangiektazia genleri; normal hücre genomunu modifiye eden moleküler işlemlerin doğruluğunu monitörize eden veya DNA tamirini kontrol eden genlerdendir. Somatik hücrelerdeki DNA hasarı (radyasyon veya topoizomeraz inhibisyonuna bağlı), wild tip p53 proteininin stabilize olmasına yol açarak sonuçta hücrelerin hücre siklusunun G₁ fazında arrest olmasına neden olur. G₁ fazı, DNA sentezi ve mitozdan önce DNA ipliklerindeki kırılmaların tamir edildiği periyottur. Böylece mutasyon olasılığı azaltılır. Ancak, oluşan hasar tamir edilemezse p53 apoptozu tetikler ve hücre ölümüne yol açar. Bunun yanında, p53'e bağımlı olan ve p53'e bağımlı olmayan programlı hücre ölüm yolları gözlemlenmiştir (26). DNA'yı zedeleyen kemoterapötik ilaçların ve ionize radyasyonun indüklediği apoptozisin, hücre içinde normal p53 fonksiyonu gerektirdiği gösterildiğinden, p53'ün inaktive edilmesi hem proliferen olan hücreler havuzunu, hem de onların neoplastik transformasyon olasılığını artırabilir (27). Ayrıca, p53 mutasyonu olan neoplastik hücrelerde ionize radyasyona ve kemoterapötik ajanlara dirençte artış olabilir ve bu hücrelerde mutasyon frekansı artabilir.

p53 proteininin fonksiyonu, molekülün aminoasit sıralamasındaki çok küçük değişimlere bile çok hassastır. Bu tek amino asit değişimleri DNA'daki tek baz değişimlerinin sonucudur. Daha önce bahsedildiği gibi, p53 mutasyonlarının %80'i missense (yanlış anlama) mutasyonlardır. Yani bir amino asit yerini başka bir amino asit ile değiştirerek proteinin konformasyonu değişir ve nükleer akümülyasyona yol açar. İnsan tümörlerinde bulunan çeşitli p53 proteinleri ve DNA'daki missense baz yer değiştirmeleri sonucu oluşan mutantların ortak özelliği, normal proteindeki konformasyondan farklı olmaları ve yarı ömürlerinin bir kaç dakikadan, bir kaç saate kadar uzamasıdır. Normal hücrelerdeki p53 protein

seviyeleri düşük olduğu için immunohistokimyasal tekniklerle incelendiğinde genellikle tespit edilemez. Ama missense mutasyon taşıyan neoplastik hücrelerde yarı ömrü uzamış olduğu için, mutant p53 proteininin varlığı kolayca tespit edilebilir. p53 missense mutasyonu içerdiği belirlenmiş 100 tümör, anormal p53 proteini için araştırıldığında, %90'dan fazlasında pozitif bulunmuştur. Bunun tersine bazen de pozitif boyanan tümörlerde de missense mutasyonlarına rastlanmamaktadır. Bu da p53'ü stabilize eden alternatif başka mekanizmaların varlığına işaret etmektedir. Bunlardan birisi, hücrel proteinlere bağlanmadır. Frame shift veya chain terminating (nonsense-anlamsız) mutasyonları olan tümörlerde, immunohistokimyasal teknikle, p53 düzeylerini tespit etmek mümkün değildir. Çünkü bu mutasyonlar sonucunda oluşan proteinler yoktur, kesilmiştir veya stabil değildir. Ancak, DNA sekansındaki bu değişiklikler, insan tümörlerinde tanımlanan p53 mutasyonlarının %20'den azını oluşturmaktadır. Bu nedenle, p53 gen mutasyonu ile p53 protein akümüülasyonu arasındaki uyum mükemmel olmasa da, p53 fonksiyonunun değiştiği tümörlerde immunoreaktivite uygun bir indikatördür (19).

p53 incelemesi için uygun materyaller, sitolojik örnekler, iğne biyopsi örnekleri, ve fikse edilmiş dokular olabilir. Tümör hücrelerinin çoğunda nükleer boyanma ile birlikte stromada ve çevredeki normal dokuda reaktivitenin olmaması en sık gözlenen durum olup missense p53 mutasyonunun varlığına işaret eder.

Teorik olarak, p53 fonksiyon kaybının daha hızlı ilerleyen bir hastalığa işaret edeceği düşünülebilir. Çünkü, böyle bir kayıp, hücrenin G₁ fazında durmasını iptal eder ki, bu fazda DNA replikasyonu öncesi DNA tamiri yapılmaktadır. Bu, sonuç olarak, özellikle mutajen ajanlara maruz kalındığında mutasyon sıklığını arttıracaktır.

c-erbB-2 Proto-onkogeni

c-erbB-2 yada HER-2/*neu* olarak adlandırılan gen insanlarda 17. kromozomun uzun kolunda yer alır ve 185 kd ağırlığında bir hücre yüzey glikoproteinini kodlar (Şekil 2) (28). c-erbB-2 ilk olarak fare nöroblastomlarında nokta mutasyonu ile gelişen bir onkogen olarak farkedilmiş, daha sonra insan meme tümörü hücrelerinde, bu genin overekspresyonu ile ortaya çıkan yüksek miktarda c-erbB-2 gen ürününün NIH/3T3 hücrelerinde malign transformasyonla ilişkili olduğu saptanmış ve potent bir onkogen olduğu gösterilmiştir (29).

c-erbB-2 glikoproteini, yapısal olarak epidermal büyüme faktör reseptörüne (c-erbB1) benzerlik gösterir. Bu polipeptidin, 632 amino asitten oluşan hücre dış yüzünde sistinden zengin ligand bağlayıcı bir bölgesi, 22 amino asitlik hidrofobik membran geçiş kısmı ve hücre iç yüzeyinde 580 amino asit içeren tirozin kinaz bölgesi bulunur(30).

Normal insan dokularında özellikle epitel hücrelerinde (böbrek proksimal tübüllerinde, GİS mukozasında, cilt yassı epitelinde ve kadın genital trakt epitelinde [over epiteli de dahil]) immunohistokimyasal çalışmalarla c-erbB-2 ekspresyonu gösterilmiştir. Ancak, bir çok peptit büyüme faktör reseptöründe olduğu gibi c-erbB-2'nin de fizyolojik fonksiyonu tam olarak belirlenememiştir. Epidermal büyüme faktörü reseptörüne yapısal olarak benzemesi ve tirozin kinaz aktivitesinin bulunması nedeniyle, c-erbB-2 gen ürününün, hücre büyüme ve regülasyonundan sorumlu bir reseptör olduğu düşünülmektedir. c-erbB-2 geninin çeşitli tümörlerde (meme, over, endometrium, akciğer, mesane ve kolon) amplifikasyon ve overekspresyona uğradığı görülmüştür (31). Bazı çalışmalarda, lenf nodu metastazı olan meme kanserlerinde ve epiteliyal over kanserlerinde, c-

erbB-2 overekspresyonunun kötü prognozu işaret ettiği gösterilmişse de (32), bunun tersine yayınlar da mevcuttur (33).

c-erbB-2 proto-onkogeninde oluşan amplifikasyon ve overekspresyon ile immunohistokimyasal boyama arasında mükemmel yakın bir uyum saptanmıştır (32). Bu nedenle, immunohistokimyasal boyama metodu, c-erbB-2 geninde oluşan değişikliklerin iyi bir göstergesidir. Ancak homojenize tümör dokusunun kullanımına dayalı moleküler tekniklerin dezavantajı; bilinmeyen ve kontrol edilemeyen derecelerde stromal dokular ve kan hücreleri ile kontamine olabilmeleridir. İmmunohistokimyasal metod bu problemi ortadan kaldırır. Çünkü, c-erbB-2 ekspresyonunun hücre düzeyinde direk olarak gözlemlenmesini sağlar, ama bu teknik de semikantitatifdir ve antijen düzeyini tam olarak belirlemez.

Over kanserinin gelişiminde genetik değişimlerin rolü olduğu açıktır. Malign hücre tiplerinin ortaya çıkması için çeşitli genlerde birbirini takip eden hasarların oluşması gerekmektedir. Bu hasarlar, genellikle p53 gibi tümör supresör genlerin mutasyon veya delesyonlar ile inaktive olmalarına ve/veya c-erbB-2 gibi proto-onkogenlerin amplifikasyonlar ile aktive olmasına bağlıdır. Meme, mesane ve safra kesesi adenokarsinomlarında c-erbB-2 onkogeninde aktivasyonun, p53 tümör supresör geninde de inaktivasyonun birlikte görüldüğü bildirilmiştir. Bu bulgular, c-erbB-2 ve p53 mutasyonlarının çeşitli epitelyal hücre kanserlerinin gelişiminde birlikte rol oynadıklarını düşündürmektedir.

Benign, borderline ve malign epitelyal over tümörlerinde; c-erbB-2 ve p53 ekspresyonunun inceleyerek, bu markırların, klinik ve patolojik faktörler ile ilişkilerini ve koekspresyonlarını araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, 1987 ile 1998 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında tedavi edilen ve Patoloji Anabilim Dalı tarafından sitolojik ve histolojik değerlendirmesi yapılan 42 primer epiteliyal over kanseri ile 10 borderline ve 31 benign epiteliyal over tümörü tanısı almış 83 olgu klinik ve patolojik veriler açısından retrospektif olarak araştırıldı.

Tanı yaşı, maksimum tümör çapı, histopatolojik tip, grade, FIGO evresi, cerrahi sonrası rezidüel tümör ve asit sıvısında malign hücre bulunması ile immunohistokimyasal metodla saptanan p53 ve c-erbB-2 ekspresyonu arasındaki ilişkiler araştırıldı.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri olarak; hastalar hakkında yeterli klinik bulguların olması ve histopatolojik inceleme, p53 ve c-erbB-2 analizi yapabilmek için yeterli parafine gömülü tümör dokusunun bulunması şartları arandı. Her hasta için morfolojik korunması iyi olan bir parafin bloğu seçildi. Tüm olguların histolojik materyalleri tek bir patolog tarafından yeniden gözden geçirildi. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterleri kullanılarak histolojik tip (seröz, müsinöz, endometroid, berrak hücreli) ve gradeleri (1,2 ve 3) belirlendi.

Patolojik inceleme için, parafine gömülü bloklardan 3µm kalınlıkta kesitler elde edildi. Kesitler, dökülmeyi engellemek için 3-aminopropyltriethoksi-silane (APES) kaplı lamlara alınarak oda ısısında kurutuldu. Histolojik inceleme için hematoksilin ve eosin ile boyandıktan sonra İmmunohistokimyasal boyama için ise şu işlemler uygulandı; Kesitler, ksilen ve %100 alkol serilerinden geçirilerek deparafinize edilip çeşme suyu ile tekrar hidrate edildi. Ardından, 98ml. methanol ve 2 ml. %30 H₂O₂ ile 10 dakika inkübe edilerek endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Daha

sonra, lamlar sitrat tampon (pH 6.0) içine yerleştirilerek bir dakika 100°C mikrodalga fırında bekletildi. Bu işlem, 5 dakika aralarla 4 kez daha tekrarlandı. Solüsyonun kendi halinde soğuması için 20 dakika beklendikten sonra, lamlar 5 dakika süreyle tris-tamponlu salin içinde yıkandı. Lamlar biraraya getirildi, ve 3 dakika süreyle 1:20 tavşan serumu içinde inkübe edildi. Fosfat tuzlu tamponda (PBS) 90 dakika primer monoklonal antikolar (p53 için monoclonal mouse anti-human p53 protein; DAKO-p53, DO-7; c-erbB-2 için rabbit anti-human c-erbB-2 onkoproteini code no:AO 485 Loto 35, DAKO, Copenhagen, Danemark) 1:50 dilüsyon %5 tavşan serumu içinde uygulandı. Kesitler, daha sonra, 30 dakika tavşan anti-mouse IgG'nin (1:200 dilüsyonda) biotinillenmiş monoklonal konjugatı içinde inkübe edildikten sonra bu işlem bir 30 dakika da peroksidaz konjugatlı Streptavidin-biotin kompleksi (Dako) ile yapıldı. Bu işlemden sonra lamlar 10 dakika 2.3-diaminobenzidin ile inkübe edildi ve kesitler su ile durulanarak Mayer hematoksileni ile zıt boyama yapıldı. Bunu takiben rutin dehidrasyon, temizleme ve lamlara yerleştirme yapıldı. Pozitif kontrol için kolon kanseri kesitleri kullanıldı.

İmmunohistokimyasal değerlendirmede neoplastik hücrelerde p53 için sadece nükleer boyanma, c-erbB-2 için ise sadece hücre membranının boyanması pozitif kabul edildi. İmmunohistokimyasal reaktivitenin değerlendirme ve derecelendirmesi şu şekilde yapıldı:

(+++): kuvvetli boyanma (>%50 immunoreaktif neoplastik hücreler)

(++): orta derecede boyanma (%10-50 immunoreaktif neoplastik hücreler)

(+): zayıf boyanma (%1-10 immunoreaktif neoplastik hücreler)

(-): negatif boyanma (%0-1 immunoreaktif neoplastik hücreler)

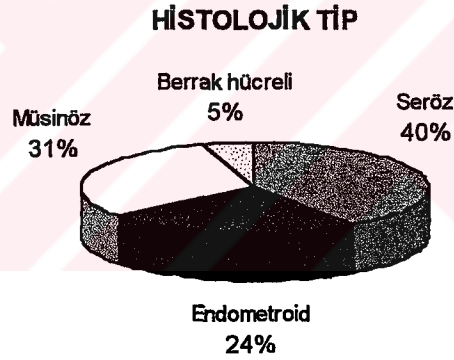
İstatistiksel değerlendirmede gruplar arasındaki farklar için χ^2 ve Fisher'in kesin ki-kare testleri uygulandı. p53 ve c-erbB-2 arasındaki korelasyon için Spearman korelasyon testi kullanıldı.



SONUÇLAR

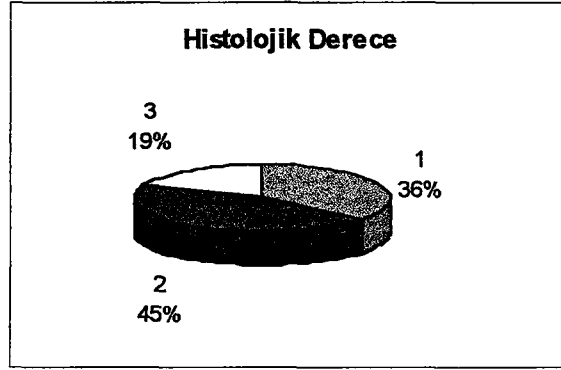
Çalışmaya alınan hastaların yaşları 17 ile 74 arasında değişmekte olup, ortalaması 49.2 ± 14.7 'dir. Hastaların yaş ortalamalarını gruplara göre incelediğimizde ise; malign grupta 54.1 ± 13.5 ; borderline grupta 44.7 ± 10.7 ; benign grupta ise 42.5 ± 14.9 olarak hesaplanmıştır. Malign gruptaki hastaların yaş ortalamaları, borderline ve benign gruptakilerden anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.05$). Benign ve borderline gruplar arasında ise fark yoktu ($p > 0.05$).

Malign gruptaki hastaların histolojik tiplere göre dağılımları Şekil 4'de gösterilmiştir. Buna göre, 42 hastanın 17'si seröz (%40.4); 13'ü müsinöz (%31); 10'u endometroid (%24) ve ikisinin (%5) berrak hücreli tipte olduğu gözlemlenmiştir.

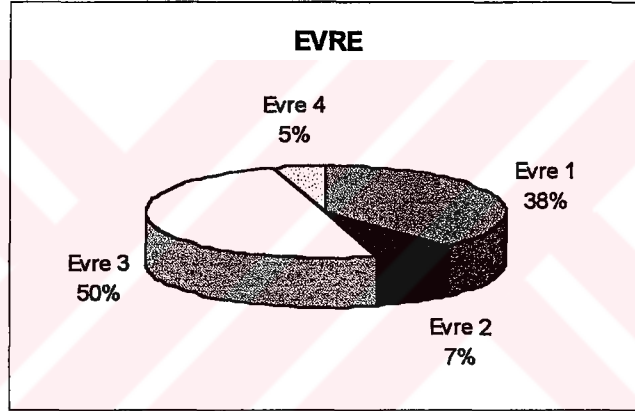


Şekil 4. Malign gruptaki hastaların histolojik tiplere göre dağılımı

Hastalar, histolojik gradelerine göre incelendiğinde, 15 hasta (%36) grade 1; 19 hasta (%45) grade 2 ve 8 hasta (%19) ise grade 3 olarak bulunmuştur (Şekil 5).



Şekil 5 . Malign gruptaki hastaların histolojik grade'e göre dağılımı



Şekil 6 . Malign gruptaki hastaların FIGO evrelerine göre dağılımı

Hastaların FIGO evrelemesine göre dağılımları Şekil 6'de gösterilmiştir. Buna göre, 16 hasta (%38) evre I; 3 hasta (%7) evre II; 21 hasta (%50) evre III ve 2 hasta da (%5) evre IV olarak saptanmıştır.

Çalışma gruplarındaki hastaların p53 immunoreaktiviteleri tablo 3'de gösterilmiştir. Malign gruptaki hastaların %33.3'ünde, borderline gruptakilerin ise %10'unda pozitif p53 immunoboyanması tespit edilmiş, ancak aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Benign grupta ise p53 boyanması saptanmamıştır.

Tablo 3. Over tümörlerinde p53 immunoreaktivitesi

Over tümörü	n	p53 (+)	(%)	p
Malign	42	14	33.3	>0.05
Borderline	10	1	10.0	
Benign	31	0	0	

Malign gruptaki hastalardaki p53 immunoreaktivitesinin; histolojik tip, FIGO evresi, ve grade ile ilişkisi tablo 4'de gösterilmiştir. Seröz tümörlerde p53 immunoreaktivitesi diğer histolojik tiplere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.01$). Seröz tümörlerde %52.9 oranında pozitiflik saptanırken, seröz olmayan grupta bu oran %20 olarak bulunmuştur. Erken evre tümörlerin (evre I ve II) %20'sinde pozitiflik gözlenirken; bu oran ileri evrelerde (evre III ve IV) %43'e çıkmakta, ve aradaki fark da istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Grade ile p53 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. p53 pozitif ve negatif olan hastaların ilk tanı aldıkları yaşların ortalamaları sırasıyla; 58.35 ± 8.23 ve 51.92 ± 15.35 olup, aradaki fark anlamlı değildir ($p>0.05$).

c-erbB-2 immunoreaktivitesinin gruplara göre dağılımı incelendiğinde; malign gruptaki hastaların %35.7'sinde (15/42) pozitif boyanma saptanırken, bu oran borderline grubunda %10 (1/10), benign grupta ise %9.6 (3/31) olarak bulunmuştur (tablo 5). Malign gruptaki c-erbB-2 pozitif boyanması, borderline ve benign gruptan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.05$). Borderline grup ile benign grup arasında ise fark yoktu ($p>0.05$).

Tablo 4 : Malign over tümörlerinde p53 immunoreaktivitesinin çeşitli klinik ve patolojik bulgularla ilişkisi

Histolojik Tip	p53 İmmunoreaktivite (+)		p53 İmmunoreaktivite (-)		p
	n	(%)	n	(%)	
Seröz	9	52.9	8	47.1	
Endometroid	1	10.0	9	90.0	
Müsinöz	3	23.1	10	76.9	
Berrak Hücreli	1	50.0	1	50.0	p<0.01*
Histolojik Derece					
I	2	13.3	13	86.7	
II	9	47.3	10	52.7	
III	3	37.5	5	62.5	p>0.05
FİGO Evresi					
I - II	4	21	15	79	
III - IV	10	43.4	13	56.6	p<0.05
Tanı yaşı	58.35±8.23		51.92±15.35		p>0.05

*seröz grup non-seröz grup ile karşılaştırılmıştır.

Malign gruptaki hastaların c-erbB-2 immunoreaktivitesinin; histolojik tip, grade ve FİGO evreleri ile ilişkisi tablo 6'da gösterilmiştir. En yüksek oranlar berrak hücreli, evre IV ve grade 2 tümörlerde saptanırken aradaki fark istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir (p>0.05). c-erbB-2 pozitif grubun ortalama ilk tanı yaşı 57.66±9.81, negatif olan grubun ise 52.07±15.06 olarak hesaplandı, ancak aradaki fark anlamsızdı (p>0.05).

Tablo 5. Over tümörlerinde c-erbB-2 immunoreaktivitesi

Over tümörü	n	c-erbB-2 (+)	(%)	p
Malign	42	15	35.7	<0.05
Borderline	10	1	10.0	
Benign	31	3	9.6	

Tablo 6. Malign tümörlerde c-erbB-2 immunoreaktivitesinin çeşitli klinik ve patolojik faktörler ile ilişkisi

Histolojik Tip	c-erbB-2 İmmunoreaktivite				p
	(+)		(-)		
	n	(%)	n	(%)	
Seröz	6	35.3	11	64.7	
Endometroid	3	30.0	7	70.0	
Müsinöz	4	30.7	9	69.3	
Berrak Hücreli	2	100	0	0	p>0.05
Histolojik Grade					
I	4	26.6	11	73.4	
II	9	47.3	10	52.7	
III	2	25.0	6	75.0	p>0.05
FİGO Evresi					
I - II	5	26.3	14	73.7	
III - IV	10	43.4	13	56.6	p>0.05
Tanı yaşı	57.66±9.81		52.07±15.06		p>0.05

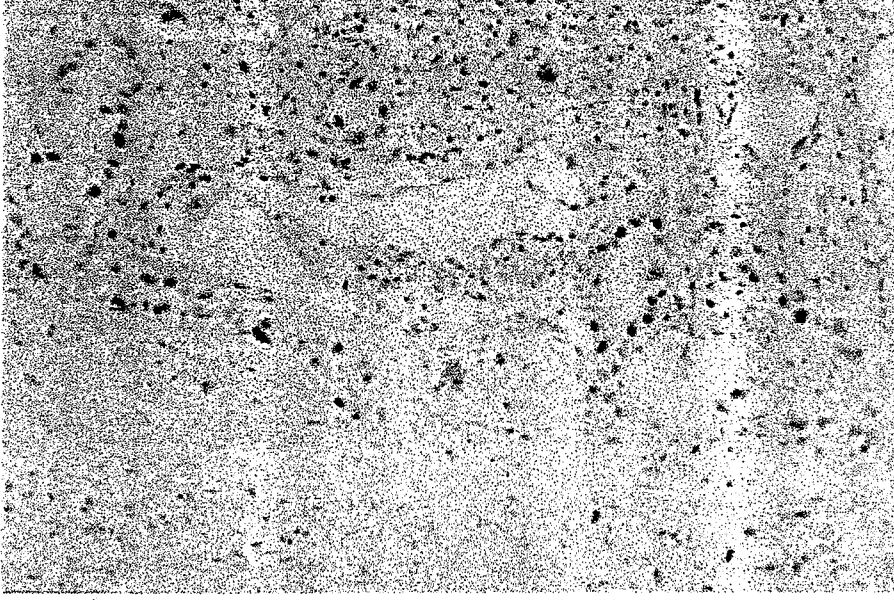
Primer cerrahi sonrası makroskopik rezidü kalan hastaların %58.3'ünde p53 immunoboyanması pozitif saptanırken, rezidü kalmayan hastalarda bu oran %23.3 olarak hesaplandı ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.05). Aynı parametre c-erbB-2 için incelendiğinde, cerrahi sonrası rezidü tümörü olanların %41.6'sında c-erbB-2 pozitif saptanırken, bu oran rezidüsü olmayanlarda %33.3'dü; ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0.05).

Maksimum tümör çapı ile p53 ve c-erbB-2 pozitifliği arasında ise istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı. Asit sıvısında malign hücre bulunanlarda, bulunmayanlara göre p53 pozitifliği daha yüksekti (%45 - %22.7). Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0.05). Benzer şekilde, asit sıvısında malign hücreli olanlarda, c-erbB-2 pozitifliği olmayanlara göre daha yüksekti (%45 - %27.2), ama fark anlamlı bulunmadı (p>0.05) (tablo 7).

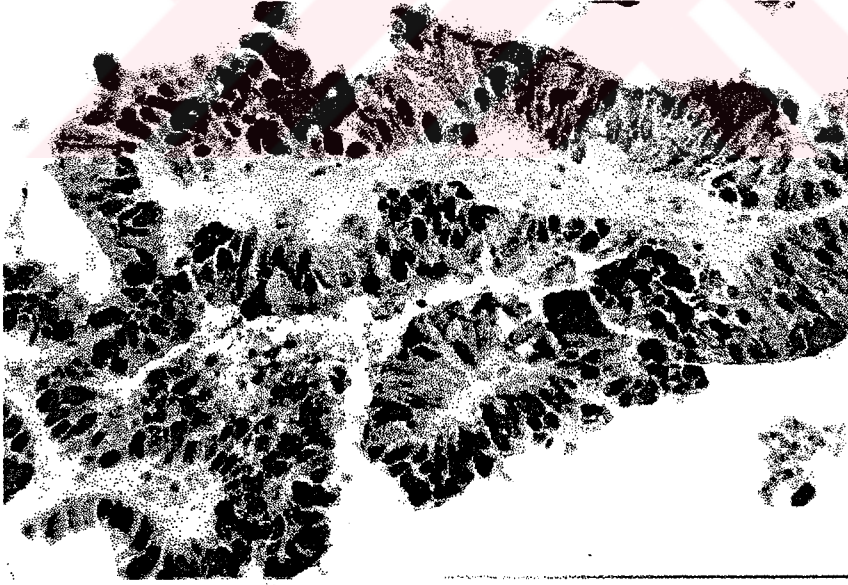
Tablo 7. Malign tümörlerde primer cerrahi sonrası rezidü ve maksimum tümör çapı ve pozitif sitolojinin p53 ve c-erbB-2 immumoreaktivitesi ile ilişkisi

Rezidü	p53 (+)			c-erbB-2 (+)		
	n	%	p	n	%	p
var	7/12	58.3		5/12	41.6	
yok	7/30	23.3	<0.05	10/30	33.3	>0.05
Maksimum Tümör Çapı						
≤10cm	8/22	36.3		6/22	27.3	
>10cm	6/20	30.0	>0.05	9/20	45.0	>0.05
Asit sıvısında malign hücre						
var	9/20	45.0		9/20	45.0	
yok	5/22	22.7	>0.05	6/22	27.3	>0.05

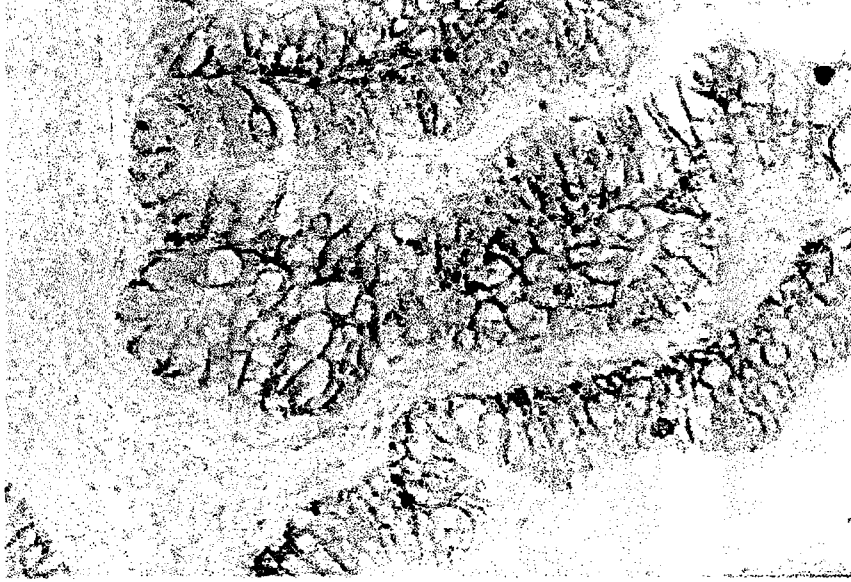
Malign gruptaki hastalar içinde 6 hastanın (%14.2) hem p53, hem de c-erbB-2 immunoreaktivitesi pozitif saptandı. Bu hastaların biri dışında hepsinde de ileri evre tümör mevcuttu. p53 ile c-erbB-2 ekspresyonu arasında korelasyon saptanmadı (p=0.506).



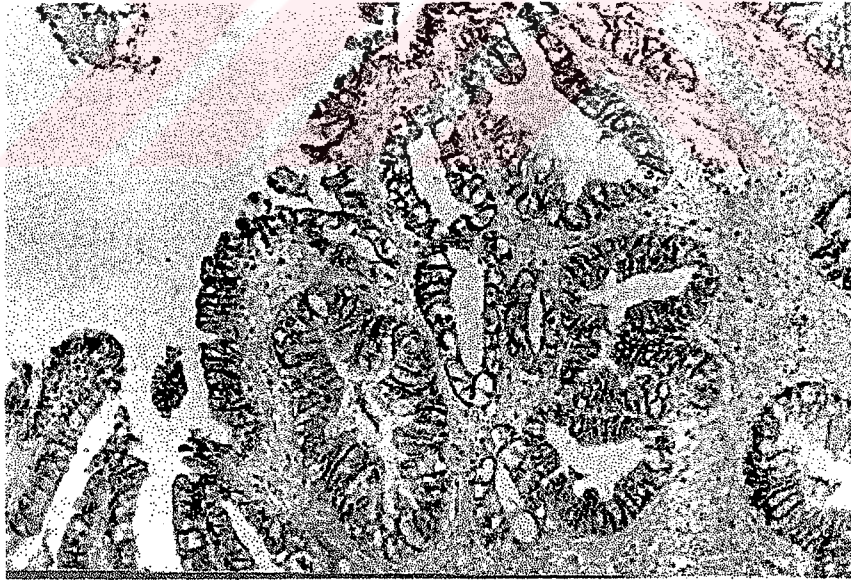
RESİM 1: Müsinöz Kistadenokarsinom olgusunda (+++) p53 nükleer immünoreaktivitesi (büyütme x100)



RESİM 2: Seröz kistadenokarsim olgusunda (+++) p53 nükleer immünoreaktivite (büyütme x200)



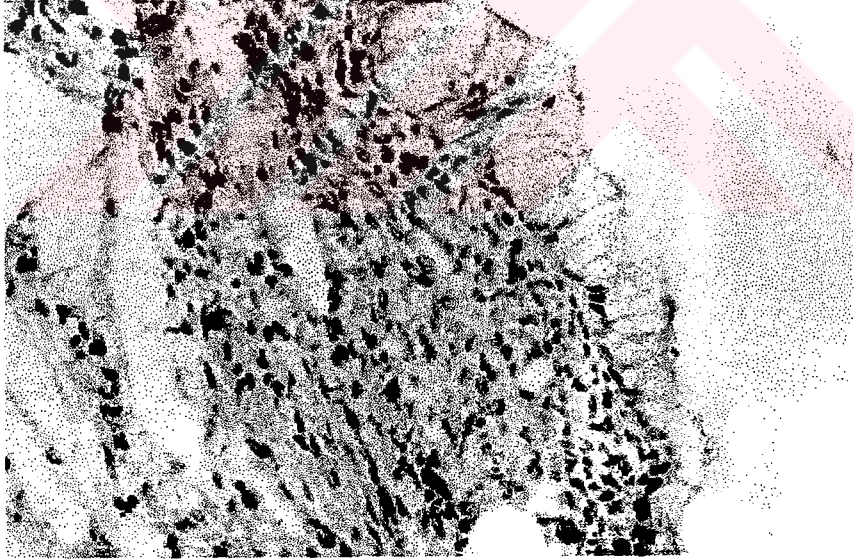
RESİM 3: Seröz kistadenokarsinom olgusunda sitoplazmik membranda (+++) c-erbB-2 immunoreaktivitesi (büyütme x200)



RESİM 4: Endometroid adenokarsinom olgusunda sitoplazmik membranda (+++) c-erbB-2 immünoreaktivitesi (büyütme x100)



RESİM 5: Borderline müsinöz kistadenom olgusunda sitoplazmik membranda (++) c-erbB-2 immünoreaktivitesi (büyütme x200)



RESİM 6: Benign müsinöz kistadenom olgusunda sitoplazmik membranda (+++) c-erbB-2 immünoreaktivitesi (büyütme x200)

TARTIŞMA

Over kanseri, kadın genital kanserlerinde en çok ölüme neden olan ve genellikle geç evrelerde tanı aldığından sınırlı tedavi olanaklarına sahip bir kanserdir. Etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte çeşitli hormonal, genetik ve çevresel faktörler ileri sürülmüştür.

Son yıllarda spesifik tümör supresör genlerin ve proto-onkogenlerin saptanması ve çeşitli insan kanserlerinde değişmiş olduklarının belirlenmesi ile bunların kanserin etiopatogenezinde etkili oldukları ve prognozu değiştirdikleri ileri sürülmüştür.

p53 hücre büyümesini negatif yönde regüle eden bir tümör supresör gendir. p53 gen ürünü 393 amino asit içeren ve DNA bağlanma bölgesi ve transkripsiyon domainleri içeren bir nükleer fosfoproteindir. Normal p53 proteini hücrede DNA hasarı olduğunda hücre bölünmesini durdurur ve genetik hataların ilerlemesini karşı hücreyi korur. p53 geninde mutasyonlar çeşitli insan kanserlerinde saptanmıştır (34). Mutant p53 proteinlerinin yarı ömürleri wild tip p53'den daha uzundur ve bu yüzden malign hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar. Bu nedenle p53 için immunohistokimya ile pozitif boyanma p53 geninde veya regülasyonunda büyük oranda anormalliği düşündürür.

c-erbB-2 veya HER-2/neu proto-onkogeni ise, bir hücre yüzeyi büyüme faktörünü kodlar ve bazı meme ve over kanserlerinde overeksprese olur. Bazı çalışmalar, c-erbB-2'nin overekspresyonu veya amplifikasyonunun, meme ve over kanserinde kötü prognoz ile korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır (32).

p53 ve c-erbB-2 insan tümörlerinde geniş olarak araştırılan moleküler markırlar olup, bu ikisinin kanser gelişiminde ve / veya progresyonunda etkin olarak rol aldıkları düşünülmektedir.

Bu retrospektif çalışmada, benign, borderline ve malign epiteliyal over tümörlerinde, parafine gömülü dokularda p53 ve c-erbB-2 ekspresyonunu incelendi.

Bizim çalışmamız, p53 ekspresyonunun over tümörlerinin farklı tiplerinde farklı olduğunu göstermiştir. Benign tümörlerde hiç p53 boyanması saptanmazken, borderline grupta %10, malign grupta ise %33.3 oranında bulunmuştur. Literatürde borderline tümörlerde p53 ekspresyonu için %0 ile %33 arasında değişen farklı rakamlar bildirilmiştir (35). Berchuck ve arkadaşları (36), p53 ekspresyonunu benign over tümörlerinde %0, borderline tümörlerde ise %4 olarak saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da literatür bilgileri ile uyumlu olarak 10 borderline tümörü olan hastadan sadece birinde (%10) pozitif bulunmuştur. Lee ve arkadaşları (37) 17 borderline tümörün üçünde (%17.6); pozitif immunoreaktivite gözlemlemişlerdir. Milner ve arkadaşları ise (38) 15 borderline tümörden birinde p53 gen mutasyonu saptarken, Teneriello ve arkadaşları (39) 20 hastanın hiç birinde mutasyon görmemişlerdir. Başka bir çalışmada ise, 39 borderline over tümörünün %12'sinde p53 ekspresyonu gözlenirken histolojik ve klinik parametrelerden hiç biri ile ilişkisi bulunmamıştır (40). p53 genindeki mutasyonların incelendiği bir araştırmada ise borderline over tümörlerinden hiç birinde genlerde mutasyon gözlenmemiştir (41). Bu sonuçlar p53'ün benign ve borderline over tümörlerinin gelişiminde hemen hemen hiç rolü olmadığını düşündürmektedir.

Malign over tümörlerinde p53 ekspresyonu için literatürde %29 ile %62 arasında değişen rakamlar bildirilmiştir. El Tabbakh ve arkadaşları (42) 221 olguluk serisinde p53 pozitifliğini %48.4 saptamış ve ileri evre, seröz histoloji, yüksek grade ve ileri hasta yaşı ile ilişkili olduğunu ancak bağımsız bir prognostik faktör olmadığını öne sürmüşlerdir. Klemi ve arkadaşları (43) 136 hastanın 60'ında (%44) p53'ü pozitif saptarken, seröz tip, kötü histolojik grade ve DNA akım sitometrisinde mediandan yüksek S-fazı fraksiyon boyu ile ilişkisi olduğunu, ama evre, tanı yaşı ve DNA ploidi ile ilişkisiz olduğunu göstermişlerdir. Başka bir çalışmada ise, 98 hastanın %55'inde p53 pozitif saptanırken, evre ve histolojik tip ile ilişkisi bulunmamış, ancak kötü diferansiye tümörle bağlantılı olduğu ve p53 pozitif olanlarda hastalısız dönem ve sağkalımın daha kısa olduğu kanısına varmışlardır (44). Renninson ve arkadaşları (45) over kanserli 50 olgularında p53 pozitifliğini %56 olarak bulmuşlar ve klinik evre, grade ve tedaviye yanıt ile bir korelasyon olmadığını görmüşlerdir. Bu çalışmada ise, seröz grupta diğer histolojik tiplere göre p53'ün anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır (seröz grupta %52.9; seröz olmayan grupta %20, $p<0.01$). Evre I'de pozitiflik %18.7 iken evre IV'de bu oran %50'ye çıkmakta olup, ileri evrelerde anlamlı olarak yüksektir ($p<0.05$). Ancak, literatürden farklı olarak histolojik grade ile bir ilişki saptanmamıştır ($p>0.05$). İlk tanı yaşı; p53 pozitif olan grupta biraz yüksek olarak bulunsa da aradaki fark anlamlılık göstermemiştir ($p>0.05$). Ayrıca, primer cerrahi sonrası rezidüsü olanlarda, p53 pozitifliği anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Maksimum tümör çapı ve asit sıvısında malign hücre bulunması ile arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir ($p>0.05$). Greisler ve arkadaşları (46), 83 epiteliyal over kanserinde prospektif olarak immunohistokimyasal boyama ve kantitatif görüntü analizi ile p53 overekspresyonunu incelediklerinde, seröz

tümörlerde p53 ekspresyonunu, diğer histolojik tiplere kıyasla anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (ortalama %29.4 ve %10.5, $p < 0.001$). p53 ekspresyonunun ileri evrelerde ve optimum sitoredüksiyon yapılamayanlarda daha yüksek olduğunu ve p53'ün sağkalımda bağımsız prognostik faktör olduğunu bildirmişlerdir. Kohler ve arkadaşları (47) 52 erken evre (evre I-II) epiteliyal over kanserinde p53 overekspresyonunu %29 olarak bulmuşlar ve overlerin dışına yayılmış ve maksimum tümör çapı $>10\text{cm}$ olan tümörlerde bu oranının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ancak, rekürrens ve sağkalım ile bir ilişkisini saptamamışlar ve erken evrelerde p53 overekspresyonunun kötü sonuçlar ile bir bağlantısı olmadığı sonucuna varmışlardır. Başka bir araştırmada ise, seröz adenokarsinomlarda p53 ekspresyonunun %69 olduğu ve bu tümörlerin hemen hepsinde 17. kromozomun p53 geninin bulunduğu bölgede heterozigozite kaybı olduğu bildirilmiştir (48). Bu sonuçlar, p53 overekspresyonunun malign seröz tümörlerde daha yüksek oranda görülen, özellikle ileri evrelerde ortaya çıkan ve muhtemelen kötü prognozu gösteren bir genetik değişiklik olduğunu düşündürmektedir. p53 ekspresyonu; ovaryan karsinogenezde, tümör progresyonu ve metastaz aşamasında oluşan geç bir genetik değişiklik olduğu şeklinde de yorumlanabilir. Benzer şekilde kolon kanserinde de p53 mutasyon ve overekspresyonu geç oluşmaktadır. Çünkü, kolon kanserlerinde p53 insidansı %60 iken, premalign kolon poliplerinde bu olay çok nadir görülmektedir (49). Aynı şekilde, atipik endometrial hiperplazilerde hiç p53 mutasyonu saptanmazken, bu oran endometrium kanserinde %20'dir (50). Bunun tersine, tanı konulduğunda henüz metastaz yapmamış over kanserleri, daha az agresif davranışlı bir alt tip kanser tipini oluşturabilirler ve bunlarda da p53 mutasyonları daha az görülüyor olabilir. Over epitelinde kolayca tanımlanabilen

prealign lezyonların bulunmaması, p53 mutasyonlarının over karsinogenezinde erken mi yoksa geç mi oluştuğunu belirlememize önemli bir engel oluşturmaktadır.

İleri evre (evre III-IV) over tümörlerinde p53 mutasyonları ve protein akümüasyonu incelendiğinde 33 tümörden 20'sinde (%60) saptanan p53 gen mutasyonlarının %75'inin missense mutasyonu olduğu bulunmuştur. Pozitif immunoboyama sadece missense mutasyonlarda saptanmış olup, missense mutasyonu olan tümörlerde; sisplatin temelli kemoterapiye cevapsızlık %86 iken, olmayanlarda %23 olarak belirlenmiştir (51). Bu sonuca göre, over kanserinde p53'ün kemosensitiviteyi belirlemede önemli rol oynadığı düşünülebilir. p53'ün mutant formunun stabilize olması, proteinin normal apoptoz fonksiyonunu iptal ederek, kemoterapötik ilaçların hücrede apoptoza yol açmalarını engelleyebilir. Başka bir mekanizma da wild tip p53'ün overekspresyonu olması hücrenin tamir etkinliğini artırarak, DNA hasarına yol açan kemoterapötiklerin sitotoksik etkilerini azaltma şeklinde olabilir.

Benign ve borderline over tümörlerinde c-erbB-2 ekspresyonu fazla araştırılmamıştır. Bir çalışmada 8 benign over tümöründen dördünde (1 kuvvetli, 3 zayıf +), 6 borderline tümörden ise sadece birinde kuvvetli pozitif c-erbB-2 immunoboyaması saptanmıştır (52). Başka bir çalışmada ise 42 borderline tümörden 9'unda (%21) c-erbB-2 pozitif saptanmıştır (35). Bizim çalışmamızda ise, 31 benign tümörden üçünde (%9.6), 10 borderline tümörde ise birinde (%10) pozitif boyanma gözlenmiştir.

Over kanserinde ise c-erbB-2 ekspresyonunun yüzdesi değişik serilerde farklı olarak bulunmuştur. %0 ile %72 arasında değişen rakamlar bildirilmiştir (53). Bunun sebebi, incelenen materyalin niteliğine, kullanılan antikörlerin farklı

spesifisiterde olmasına, sonuçların yorumlanmasında gözlemciler arasında farklar bulunmasına ve farklı özelliklerde hastaların seçilmesine bağlanabilir. c-erbB-2 antijeninin frozen kesitlerde, aldehitile fikse edilmiş parafin bloklara göre daha iyi korunduğu söylenmektedir (48). Singleton ve arkadaşları (54) parafin bloklarda c-erbB-2 overekspresyonunu 4 ayrı antikor ile inceledikleri çalışmalarında antikorlar arasında spesifisite farklılıkları bulmuşlardır.

Bu çalışmada biz, immunohistokimyasal boyama ile 42 malign hastanın 15'inde (%35.7) c-erbB-2 ekspresyonu saptadık. Literatürü incelediğimizde Slamon (22) %26 (31/120); Berchuck (55) %32 (23/73); Rubin (56) %24 (25/105); Kacinski (52) %42 (36/86); Singleton (53) %18 (10/56); ve Felip (57) %21.7 (23/106) oranında değişik derecelerde pozitif c-erbB-2 membran boyaması saptamışlardır.

c-erbB-2 overekspresyonu ile prognostik faktörler arasındaki korelasyon ise açık değildir. Bizim çalışmamızda histolojik tip, grade ve ilk tanı yaşı ile bir ilişki saptanamamıştır. Erken evrelerde %26.3 olan c-erbB-2 pozitifliğinin, ileri evrelerde %43.4'e çıktığı gözlenmiştir. Ancak, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Benzer şekilde, Berchuck (55) ileri evre over tümörlerinde c-erbB-2'yi araştırmış ve grade ve yaş ile bir bağlantı saptamazken, kuvvetli pozitif boyanan hastalarda sağkalım süresini anlamlı olarak düşük bulmuştur ($p=0.001$). Yine bu hastalarda cerrahi olarak dökümente edilmiş kemoterapiye tam cevap daha düşük ve ikinci bakı laparotomide persistan hastalık bulunma olasılığı (CA 125 düzeyleri normal olsa bile) daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Aynı şekilde, Slamon (22) c-erbB-2 pozitif olan tümörlerde sağkalımı anlamlı olarak düşük saptamış. Bu iki çalışmanın tersine, Kacinski ve arkadaşları (52), ileri evre (Evre I-II'de %5; Evre III-IV'de %17), yüksek grade ve berrak hücreli/endometroid tip tümörlerde daha yüksek c-erbB-2 pozitifliği saptamış ve

genel sağkalım ile bir ilişkisi olmadığını bildirmişlerdir. Biz de 2 berrak hücreli karsinomu olan hastaların ikisinde de c-erbB-2 boyamasını pozitif saptadık. Ancak, bu gruptaki hasta sayısı az olduğundan böyle bir sonuca varmak mümkün değildir.

Bizim çalışmamızla uyumlu olarak, Rubin ve arkadaşları (56) evre, histolojik tip, grade, yaş ve cerrahi sonrası rezidüel tümör ile c-erbB-2 arasında bir ilişki saptamamışlar ve sağkalım üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde, 79 over kanserinin incelendiği bir çalışmada, %42 oranında çeşitli derecelerde c-erbB-2 mRNA ekspresyonunun olduğu, ancak histolojik tip, grade ve evre ile bir ilişkisinin olmadığı ve prognozu etkilemediği bildirilmiştir (58). Başka bir araştırmada da, %18 saptanan c-erbB-2 pozitifliğinin, benzer şekilde, evre, histolojik tip, grade ve prognoza etkisinin olmadığı bulunmuştur (56). Felip ve arkadaşları (57) ise prognostik faktörlerden sadece ileri evre ve cerrahi sonrası 2cm'den fazla rezidüel tümörü olanlarda ve kemoterapiye tam cevap vermeyen hastalarda c-erbB-2 ekspresyonunu yüksek olduğunu göstermişlerdir.

Sonuç olarak, c-erbB-2 proto-onkogeni over kanserlerinin bir kısmında overeksprese olmakla birlikte, klinik ve patolojik prognostik faktörler ile kuvvetli bir ilişkisi bulunmamış ve sağkalım üzerine etkisi de henüz tam olarak açıklık kazanmamıştır. Ayrıca, malign tümörlere kıyasla daha az da olsa, benign ve borderline tümörlerde de rastlanması bu moleküler markırın invaziv kanserlerde kullanımını kısıtlayabilmektedir.

Bu çalışmada, p53 ve c-erbB-2'nin koekspresyonu araştırıldığında, malign hastalardan 6'sında (%14.2) aynı anda hem p53, hem de c-erbB-2 immunoreaktivitesi pozitif saptanmış olup, bu hastaların biri dışında hepsinde de

ileri evre tümör mevcuttu. Ama p53 ile c-erbB-2 ekspresyonu arasında bir korelasyon gözlenmedi ($p=0.506$).

Özetle, epitelial over kanserlerinin yaklaşık olarak üçte birinde immunohistokimyasal metod ile p53 ve c-erbB-2 genlerinde değişiklik olduğunu, ancak her ikisi arasında anlamlı bir korelasyon olmadığını saptadık. p53 ekspresyonu özellikle ileri evre, seröz histolojik tip ve cerrahi sonrası rezidüsü kalan hastalarda daha sık rastlanırken, c-erbB-2 ekspresyonu ile bu gibi çeşitli klinik ve patolojik faktörler arasında kuvvetli bir ilişki gözlemlenmedi.

Over kanserinde görülen genetik değişikliklerin prognoza olan etkilerinin belirlenmesi ve bu kanserin gelişiminde rol alan diğer tümör supresör genlerin ve proto-onkogenlerin tanımlanmaları ile önümüzdeki yıllarda agresif davranışlı ve genellikle geç dönemde saptanan jinekolojinin bu önemli sorununun tanı ve tedavisinin yönlendirilmesinde yeni aşamalar kaydedileceği inancındayız.

ÖZET

Over kanseri, kadın genital sistem kanserleri içinde nispeten daha az görülmesine karşın, jinekolojik kanserler içinde en sık ölüme sebebiyet verenidir. Uzun süre spesifik bir bulgu vermediğinden, tanı genellikle ileri evrelerde konulur ve bu nedenle tedavi şansı azalır. Epitelial over kanserinin etiolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte özellikle genetik değişikliklerin etkili olduğu düşünülmektedir.

Kanserin genetik bir hastalık olarak kabul edilmesi ile birlikte tümör supresör gen ve proto-onkogen olarak adlandırılan iki gen tipi tespit edilmiştir. Bir tümör supresör gen olan p53 ve bir proto-onkogen olan c-erbB-2'nin çeşitli kanserlerde değişmiş olarak saptanması ile bunların kanserin çok basamaklı gelişiminde rol oynadıkları ileri sürülmüştür.

Çalışmamızda, benign, borderline ve malign epitelial over neoplazisi tanılarıyla hastanemizde tedavileri yapılan toplam 83 olgunun parafine gömülü bloklarında immunohistokimyasal boyama metodu ile p53 ve c-erbB-2 ekspresyonu araştırıldı ve klinik ve histopatolojik faktörler ile ilişkisi incelendi.

Çalışmada p53 immunoreaktivitesi benign grupta hiç saptanmazken, borderline ve malign gruplarda sırasıyla %10 ve %33.3 olarak bulunmuştur. Seröz tip kanserlerde p53 immunoreaktivitesi diğer histolojik tiplere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.01$). Ayrıca, primer cerrahi sonrası makroskopik rezidüsü kalan hastalarda, rezidüsü olmayanlara göre p53 pozitifliği anlamlı olarak yüksekti ($p<0.05$). c-erbB-2 pozitifliği ise benign, borderline ve malign gruplarda sırasıyla %9.6, %10 ve %35.7 olarak gözlemlendi. Ancak, klinik ve histopatolojik faktörler ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi saptanmadı.

Epiteliyal over kanserlerinin gelişiminde ve / veya ilerlemesinde çok sayıda karmaşık genetik değişikliklerin rolü olduğu artık kesin olarak anlaşılmıştır. Bu çalışmada, bunlardan ikisinin, p53 ve c-erbB-2'nin, bu kanserlerin yaklaşık olarak üçte birinde değişime uğradığını gösterdik. Onkogeneizde rol alan diğer tümör supresör genlerin ve onkogenlerin belirlenmesi ve bunların hastalığın prognozunu ve tedaviye yanıtını nasıl etkilediklerinin tam olarak anlaşılması ile over kanseri mücadelesinde yeni aşamalar kaydedilecektir.



KAYNAKLAR:

- (1) Disaia JP, Creasman W. Epithelial ovarian cancer. In: Disaia JP, Creasman WT, 4th ed. Clinical Gynecologic Oncology. 4th edition. Strategies: Louis and Mosby Year Book, 1993:333-425
- (2) Heints AP, Hacker NF, Lagasse ND. Epidemiology and Etiology of Ovarian Cancer: a review. Obstet Gynecol 1985;66:127-35
- (3) Nguyen HG, Averette HE, Janicek M. Ovarian carcinoma: A review of the significance of the familial risk factors and the role of prophylactic oophorectomy in cancer prevention. Cancer 1994;74:545-55
- (4) Gershenson DM, Tortolero-Luna G, Mitchell MF, Rhodes-Morris HE. Epidemiology and screening of ovarian cancer. In: Obstetrics and Gynecology Clinics of North America Update on Epithelial Ovarian Cancer. Vol 21. Philadelphia, W.B. Saunders Company; March 1994;1:1-23
- (5) Coppleson M, Monaghan JM, Morrow CP, Tattersall MH. Malignant and borderline tumors of ovary: clinical features and management. In: Coppleson M, 2nd ed. Gynecologic Oncology. Vol 2. Churchill: Livingstone, 1992: 889-915
- (6) Berek JS, Adashi EY, Hillard PA. Ovarian Cancer In: Berek JS, 12th ed. Novak's Gynecology. Baltimore:Williams & Wilkins, 1996;1155-230
- (7) Gallion H, Pierretti M, DePriest P, van Nagell JR. The molecular basis of ovarian cancer. Cancer 1995;76:1992-7
- (8) Resta L, Russo S, Colucci A, Prat J. Morphologic Precursors of ovarian epithelial tumors. Obstet Gynecol 1993;82:181-6

- (9) Vogelstein BB, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, et al. Genetic alterations during colorectal tumor development. *N Engl J Med* 1988;319:525-32
- (10) Teneriello MD, Ebina M, Linnoila RI, Henry M, Nash JD, Rark RC, et al. p53 and K-ras gene mutations in epithelial ovarian neoplasms. *Cancer Res* 1993;53:3103-8
- (11) Simon A, Ponder S, Ponder P. Predisposing genes in breast and ovarian cancer: An overview. *Tumori* 1993;79:291-6
- (12) Futreal PA, Liu W, Shattuck-Eidens D, Cochran C, Harshman K, Tavtigian S, et al. BRCA mutations in primary breast and ovarian carcinoma. *Science* 1994;266:120-2
- (13) Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 1993;260:816-9
- (14) Phillips N, Ziegler M, Saha B, Xynos F. Allelic loss on chromosome 17 in human ovarian cancer. *Int J Cancer* 1993;54:85-91
- (15) Pieretti M, Powell DE, Gallion HH, Case EA, Conway PS, Turker MS. Genetic alterations on chromosome 17 distinguish different types of epithelial ovarian tumors. *Hum Pathol* 1995;26:393-7
- (16) Sciarra JJ, Droegemueller W, Baker VV. Oncogenes in gynecologic cancer. In: Sciarra Gynecology and Obstetrics. Revised ed. Philadelphia. Lippincot Company 1993 Vol:4;65:1-8

- (17) Berchuck A, Kohler MF, Boente MP, Rodriguez GC, Bast RC. Growth regulation and transformation of ovarian epithelium. *Cancer* 1993;71(2);545-51
- (18) Gannon JV, Lane DP. p53 and DNA polymerase α compete for binding to SV40 T antigen. *Nature* 1987;329:456-8
- (19) Harris CC, Hollstein M. Clinical implications of the p53 tumor suppressor gene. *N Eng J Med* 1993;329:1318-27
- (20) Baker SJ, Fearon ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Jessup M, et al. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science* 1989;245:217-21
- (21) Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 1991;351:453-6
- (22) Chen PL, Chen Y, Bookstein R, Lee WH. Genetic mechanisms of tumor suppression by the human p53 gene. *Science* 1990;250:1576-80
- (23) Baker SJ, Markowitz S, Fearon ER, Willson JK, Vogelstein B. Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild type p53. *Science* 1990;249:912-5
- (24) Halevy O, Michalovitz D, Oren M. Different tumor-derived p53 mutants exhibit distinct biological activities. *Science* 1990;250:113-6
- (25) Werness BA, Levine AJ, Howley PM. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 1990;248:76-9
- (26) Lane DP. A death in the life of p53. *Nature* 1993;362:786-7

- (27) Havrilesky LJ, Elbendary A, Hurteau JA, Withaker RS, Rodriguez GC, Berchuck A. Chemotherapy-induced apoptosis in epithelial ovarian cancers. *Obstet Gynecol* 1995;85:1007-10
- (28) Schechter AL, Stern DF, Vaidyanathan L, Decker SJ, Drebin JA, Greene MI, et al. The neu oncogene: an erb-B-related gene encoding a 185.000-Mr tumour antigen. *Nature* 1984;312:513-6
- (29) Di Fiore PP, Pierce JH, Kraus MH, Segatto O, King CR, Aarosson SA. erbB-2 is a potent oncogene when overexpressed in NIH/3T3 cells. *Science* 1987;237:178-82
- (30) Coussens L, Yang-Feng TL, Ellson Chen L, Gray A, McGrath J, Seeburg PH, et al. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985;230:1132-9
- (31) McCann A, Dervan PA, Johnston PA, Gullick WJ, Carney DN. c-erbB-2 oncoprotein expression in primary human tumors. *Cancer* 1990;65:88-92
- (32) Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, Studies of the HER-2/*neu* Proto-oncogene in Human Breast and Ovarian Cancer. *Science* 1989;244: 707-12
- (33) Garutti G, Genazzani AR. Human neu oncogene is expressed in endometrial but not in ovarian carcinomas. *Cancer* 1991;67:1713
- (34) Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, Jessup M, Hostetter R, Cleary K, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 1989;342:705-8

- (35) El Tabbakh GH, Belinson JL, Kennedy AW, Biscotti CV, Casey C, Tubbs RR. p53 and HER-2/neu overexpression in ovarian borderline tumors. *Gynecol Oncol* 1997;65:218-24
- (36) Berchuck A, Kohler MF, Hopkins MP, Humphrey PA, Robboy SC, Rodriguez GC, et al. Overexpression of p53 is not a feature of benign and early-stage borderline epithelial ovarian tumors. *Gynecol Oncol* 1994;52:232-6
- (37) Lee JH, Kang YS, Park SY, Kim BG, Lee ED, Lee KH et al. p53 mutation in epithelial ovarian carcinoma and borderline ovarian tumor *Cancer Genet Cytogenet* 1995;85:43-50
- (38) Milner BJ, Allan LA, Eccles DM, Kitchener HC, Leonard RCF, Kelly KF, et al. p53 is a common genetic event in ovarian carcinoma. *Cancer Res* 1993;53:1489-92
- (39) Teneriello MG, Ebina M, Linnoia RI, Henry M, Nash JD, Park RC, et al. p53 and Ki-ras gene mutations in epithelial ovarian neoplasms. *Cancer Res* 1993;53:3103-8
- (40) Darai E, Walker-Combrouze F, Milika-Cabanne N, Feldman G, Madelenat P, Scoazec JY. Expression of p53 protein in borderline epithelial ovarian tumors: a clinicopathologic study of 39 cases. *Eur J Gynaec Oncol* 1998;19:144-9
- (41) Kupryjanczyk J, Bell DA, Dimeo D, Beauchamp R, Thor AD, Yandell DW. p53 gene analysis of ovarian borderline tumors and stage I carcinomas. *Hum Pathol* 1995;26:387-92

- (42) El Tabbakh GH, Belinson JL, Kennedy AW, Biscotti CV, Casey C, Tubbs RR. p53 overexpression is not an independent prognostic factor for patients with primary ovarian epithelial cancer. *Cancer* 1997;80:892-8
- (43) Klemi PJ, Pylikkanen L, Kiilholma P, Kurvinen K, Joensuu H. p53 protein detected by immunohistochemistry as a prognostic factor in patients with epithelial ovarian carcinoma. *Cancer* 1995;76:1201-8
- (44) Bosari S, Giuseppe V, Radaelli U, Bossi P, Bonoldi E, Coggi G. p53 accumulation in ovarian carcinomas and its prognostic implications. *Hum Pathol* 1993;24:1175-9
- (45) Renninson J, Baker BW, McGown AT, Murphy D, Norton JD, Fox BW, et al. Immunohistochemical detection of mutant p53 protein in epithelial ovarian cancer using polyclonal antibody CMI: correlation with histopathology and clinical features. *Br J Cancer* 1994;69:609-12
- (46) Geisler JP, Geisler HE, Wiemann MC, Givens SS, Zhou Z, Miller GA. Quantification of p53 in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1997;66:435-8
- (47) Kohler MF, Kerns BJM, 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
- (48) 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

- (49) Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM. p53 gene mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 1990;50:7717-22
- (50) Kohler MF, Hishii H, Humphrey PA, Sasaki H, Marks J, Bast RC, et al. Mutation of the p53 tumor-suppressor gene is not a feature of endometrial hyperplasias. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:690-4
- (51) Righetti SC, Torre GT, Pilotti S, Ménard S, Ottone F, Colnaghi MI, et al. A comparative study of p53 gene mutations, protein accumulation, and response to cisplatin-based chemotherapy in advanced ovarian carcinoma. *Cancer Res* 1996;56:689-93
- (52) Kacinski BM, Mayer AG, King BL, Carter D, Chambers SK. NEU protein overexpression in benign, borderline, and malignant ovarian neoplasms. *Gynecol Oncol* 1992;44:245-53
- (53) Singleton TP, Perrone T, Oakley G, Niehans GA, Carson L, Cha SS, et al. Activation of c-erbB-2 and prognosis in ovarian carcinoma. *Cancer* 1994;73:1460-6
- (54) Singleton TP, Niehans GA, Gu F, Litz CE, Hagen K, Qiu Qiu BS, et al. Detection of c-erbB-2 activation in paraffin-embedded tissue by immunohistochemistry. *Hum Pathol* 1992;23:1141-50
- (55) Berchuck A, Kamel A, Whitaker R, Kerns B, Olt G, Kinney R, et al. Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1990;50:4087-91

- (56) Rubin SC, Finstat CL, Wong GY, Almadrones L, Plante Mlloyd KO.
Prognostic significance of HER-2/neu expression in advanced epithelial ovarian cancer: a multivariate analysis. Am J Obstet Gynecol 1993;168:162-9
- (57) Tanner B, Kreutz E, Weikel W, Meinert R, Oesch F, Knapstein PG, et al.
Prognostic significance of c-erbB-2 mRNA in ovarian carcinoma. Gynecol Oncol 1996;62:268-77
- (58) Felip E, Del Campo JM, Rubio D, Vidal MT, Colomer R, Bermejo B.
Overexpression of c-erbB-2 in epithelial ovarian cancer. Cancer 1995;75:2147-52



T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ