

MEMENİN İNVAZİV DUKTAL KARSİNOMUNDA NESTİN, P53, CK5/6 EKSPRESYONUNUN DİĞER PROGNOSTİK PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Filiz FİLİZ

T.C.S.B. Nusaybin Devlet Hastanesi

MEME KARSİNOMU

- Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümördür.
- Spesifik morfolojik ve immünohistokimyasal özellikleri ve klinik davranışları yönünden pek çok farklı biyolojik antiteyi kapsayan heterojen bir malignitedir.
- Bilinen prognostik parametreler önemli bilgiler sağlamasına rağmen iyi ve kötü prognozlu gruplar içerisinde farklı gidişe sahip olgular olabilmektedir.

MEME KARSİNOMU

- Bu durum prognozu belirleyen başka faktörlerin bulunduğu düşüncesini ortaya çıkarmaktadır.
- Son zamanlarda meme karsinomlarında diagnostik ve prognostik yeni protein belirteçlerin tanımlanması için yapılan çalışmalar artmıştır.

MEME KARSİNOMU

Biz de bu çalışmamızda

- Nestin
- CK5/6
- P53
- Östrojen Reseptörü (ER)
- Progesteron Reseptörü (PR)
- CerbB-2

immunohistokimyasal belirteçlerini kullandık.

NESTİN

- İlk kez 1985 yılında Hockfield ve McKay tarafından fare beyinde progenitör kök hücre belirteci olarak tanımlanmıştır.
- Nestin embriyonik ve fetal dokuların erken gelişme dönemlerinde proliferasyona uğrayan progenitör ve kök hücrelerde eksprese olan tip IV ara filaman proteinidir.
- Diferansiyasyonla birlikte nestin down regulasyona uğrar ve yerini doku spesifik ara filaman proteinler alır.

Hockfield S, McKay R. D.G. Identification of major cell classes in the developing mammalian nervous system. J. Neuroscience 1985;5: 3310-3328.

NESTİN

- Neoplazi ve doku hasarı gibi bazı patolojik durumlarda da yeniden eksprese olduğu gösterilmiştir.
- Beyin, cilt, gastrointestinal sistem, prostat ve pankreas tümörlerinde de immunohistokimyasal olarak boyanabildiği görülmüştür.
- Tümörlerin malignite derecesiyle uyumlu olduğu düşünülmektedir.

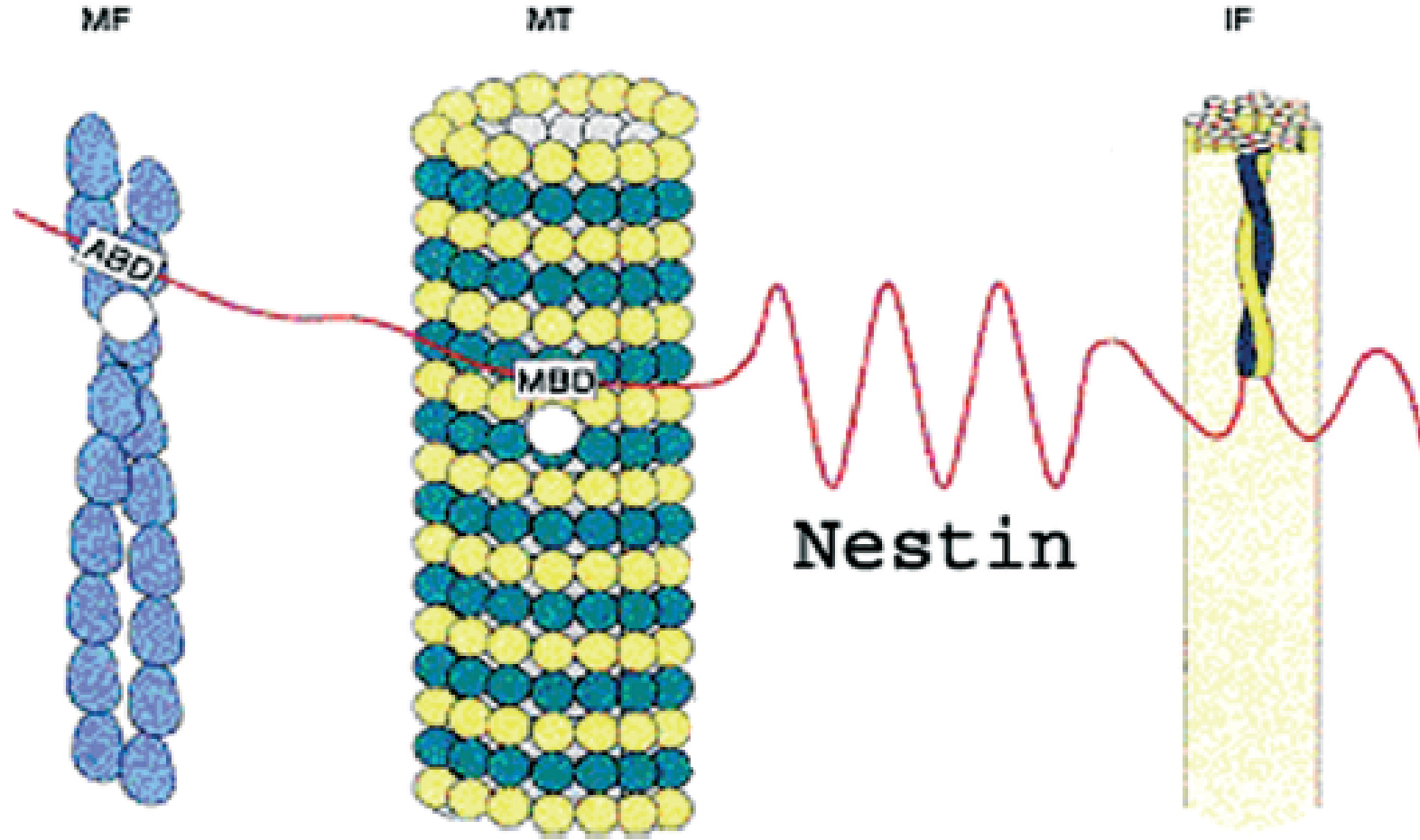
NESTİN

- Günümüzde nestinin memenin basal/myoepitelyal hücrelerinde eksprese olduğu gösterilmiştir.
- Bu yüzden myoepitelyal belirteç olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.
- Ancak meme karsinomlarında prognostik ve klinik önemi henüz net değildir.

Li H, Cherukuri P, Li N, Cowling V, Spinella M, et al. Nestin is expressed in the basal/myoepithelial layer of the mammary gland and is a selective marker of basal epithelial breast tumors. Cancer Res 2007;67:501-10.

NESTİN

- Nestinin hücresel yapı regülasyonundaki rolünü açıklamak için çeşitli modeller önerilmiştir mesela nestin-vimentin heteropolimerlerin vimentin homopolimerlerine yapışması gibi. Nestinin uzun karboksi terminal ucu ara filamanlar, mikrofilamanlar ve mikrotübüller arasında çapraz köprü görevi görür.



Şekil 4: Mikrofilamanlar (MF), mikrotübüller (MT) ve intermediate filamanlar (IF) arasındaki etkileşim: İntermediate filaman proteininin vimentini(sarı) / nestin(mavi) heterodimerinden oluşumu. Nestinin uzun non- α -helikal karboksi terminal ucu MT ve MF'ler arasında kararlı dengeyi sağlıyor (Herrman ve Aebit, 2000'den adapte edilmiştir).

CK5/6

- Bazal sitokeratin olarak adlandırılır.
- Sitokeratin 14 ve sitokeratin 17 gibi normal meme duktus hücrelerinin bazal tabakasında bulunan intermediate filamanlardır.
- Genellikle bazal terimi kullanılmakla beraber, bu sitokeratinlerin meme duktus hücrelerinde kökeni tam olarak bilinmemektedir.

P53

- P53 proteini 1970'li yılların sonlarında SV₄₀ DNA virüsünün büyük transform antijenine bağlı nükleer fosfoprotein olarak bulunmuştur.
- P53 hücre siklusunun kontrolü, DNA sentezi ve tamiri, hücre diferansiyasyonu ve programlı hücre ölümünde rol oynamaktadır

P53

- Mutant formları resesif tümör süpresör genin karakteristiklerine sahip olup, dominan onkogen olarak rol oynayabilir.
- P53 mutasyonları meme, mide, akciğer, kolon, pankreas, karaciğer, uterus, beyin, mesane, melanomlar, over ve testis kanserleri ile kemik ve yumuşak doku sarkomlarında saptanmıştır

Bu çalışmanın amacı

- Meme karsinomlarında nestin ile CK5/6, p53, östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve cerbB-2 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi belirlemek
- Meme karsinomlarında bilinen diğer prognostik parametrelerle bu belirteçleri karşılaştırmaktır.



GEREÇ VE YÖNTEMLER

GEREÇ VE YÖNTEMLER

- 2006-2010 yılları arasında Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde meme karsinomu nedeniyle opere edilerek patoloji kliniğine gönderilen mastektomi materyalleri incelendi.
- 54 adet invaziv duktal karsinom tanısı almış olgu değerlendirmeye uygun bulunarak çalışma kapsamına alındı. Bu vakaların
 - 34'ü triple negatif
 - 10'u c-erbB2 ile kuvvetli pozitif, ER ve PR ile negatif
 - 10 tanesi ise c-erbB2 negatif, ER ve PR ile pozitif

GEREÇ VE YÖNTEMLER

- Her olgunun tümörü en iyi temsil eden parafin bloğu seçilerek nestin, p53, CK5/6 immunohistokimyasal boyaları kontrollü olarak çalışıldı.
- İmmunohistokimyasal çalışma streptavidin-avidin-biotin (HRP) yöntemiyle yapıldı.
- Kullandığımız antikorlardan Nestin liyofilize doku kültürlerinden elde edildiği için 1/100 oranında Diluent Antibody solüsyonu ile hazırlandı p53 ve CK5/6 kullanıma hazır halde idi.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

- P53; nükleer boyanma
- Nestin ve CK5/6; sitoplazmik boyanma pozitif olarak değerlendirildi
- Bu markerların ekspresyonu ile yaş, histolojik grade, nükleer grade, tümör çapı, vasküler invazyon, aksiller lenf nodu invazyonu, ER, PR, cerbB-2 gibi prognostik faktörler arasındaki ilişki araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

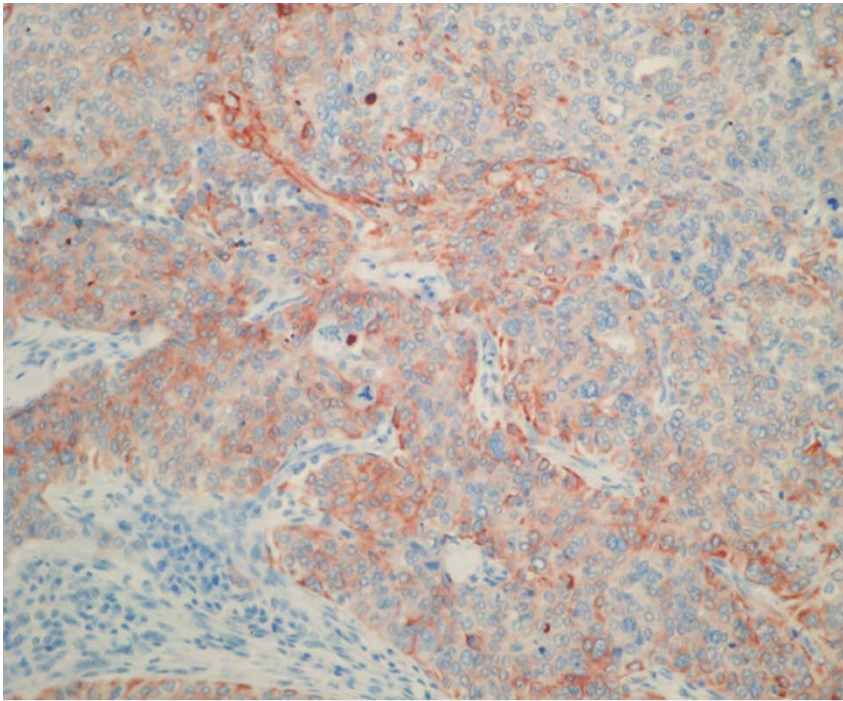
- Verilerin değerlendirilmesinde SPSS for Windows 10.0 istatistik paket programı kullanıldı. Karşılaştırmalarda Ki-Kare testi, Mann Whitney U testi, Fisher kesin testi ve T-Test kullanıldı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.



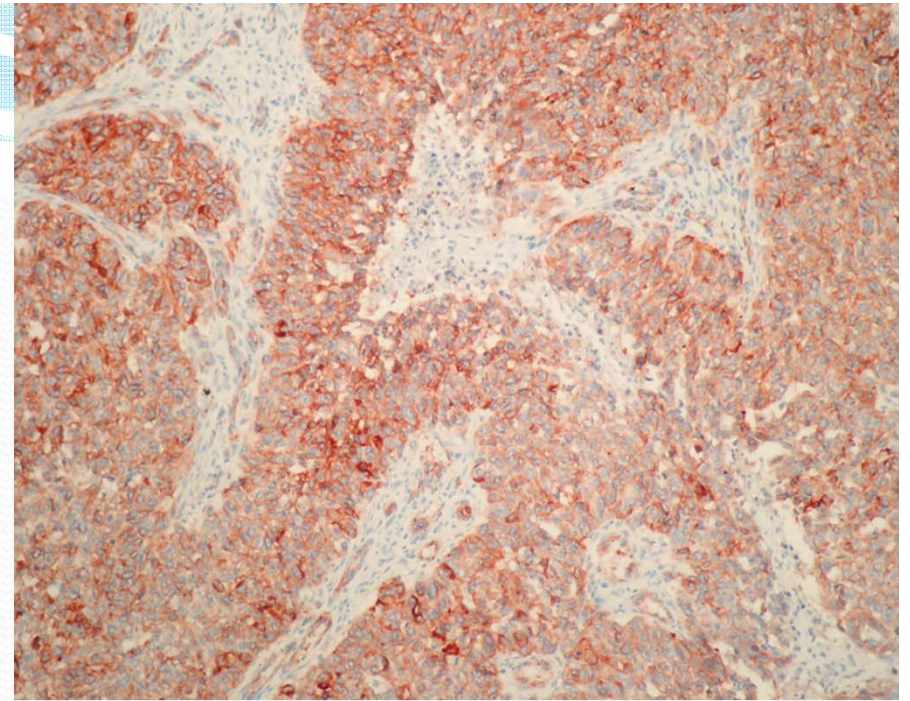
BULGULAR

BULGULAR

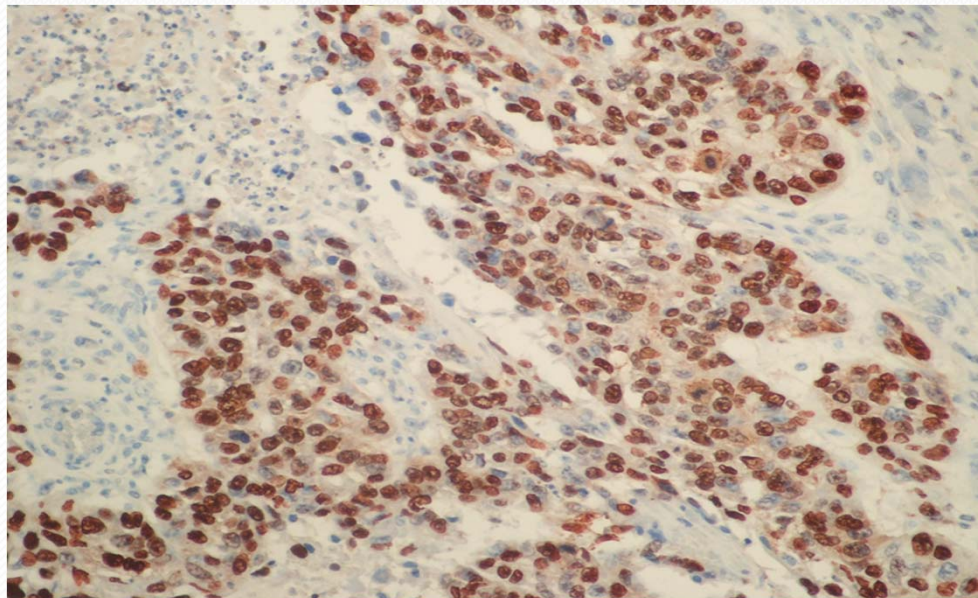
- Bu çalışmada toplam 54 vakanın
 - 29'unda (% 53,7) sitoplazmik nestin ile pozitif
 - 20'sinde (% 37) sitoplazmik CK5/6 ile pozitif
 - 45'inde (% 83,3) nükleer p53 ile pozitif boyanma saptandı.



CK5/6
20(0/37)



Nestin
29(0/53,7)



P53
45(0/83,3)

Nestin - ER, PR

			ER,PR		Toplam
			Negatif	Pozitif	
Nestin	Negatif	n	17	8	25
		%	68,00%	32,00%	100,00%
	Pozitif	n	27	2	29
		%	93,10%	6,90%	100,00%
Toplam		n	44	10	54
		%	81,50%	18,50%	100,00%

- 44'ü (%81,50) ER, PR negatif boyandı. Nestin ile pozitif boyanan 29 vakanın 27 'si (%93,10) ER, PR ile negatif boyandı Nestinin ER ve PR değerlendirilmesinde Fisher kesin ki kare testi uygulandı.
- İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,032$).

Nestin – CK5/6

			Ck5_6		Toplam
			Negatif	Pozitif	
Nestin	Negatif	n	20	5	25
		%	80,00%	20,00%	100,00%
	Pozitif	n	14	15	29
		%	48,30%	51,70%	100,00%
Toplam		n	34	20	54
		%	63,00%	37,00%	100,00%

- Olguların 29'u (%53,7) nestin ile pozitif boyandı. Bu vakaların 15'i (%51,70) CK5/6 ile pozitif ,14'ü (%48,30) negatif boyandı. Nestin ve Ck5/6 ekspresyonunun karşılaştırmasında Pearson Ki-Kare testi uygulandı.
- İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı Ki-Kare=5,794 ve p=0,016)

Nestin – p53

			P53		
			Negatif	Pozitif	Toplam
Nestin	Negatif	n	9	16	25
		%	36,00%	64,00%	100,00%
	Pozitif	n	0	29	29
		%	0,00%	100,00%	100,00%
Toplam		n	9	45	54
		%	16,70%	83,30%	100,00%

- Olguların 29'u (%53,7) nestin ile pozitif boyandı. Bu vakaların tümü p53 ile pozitif boyandı (Tablo 28). Nestin ve p53 ekspresyonunun karşılaştırmasında Fisher kesin ki kare testi uygulandı.
- İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0,000$).

CK5/6

- CK5/6 ekspresyonu
 - ER, PR ve p53 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.
 - CerbB-2 negatifliği ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı.

P53

- P53 ekspresyonu
 - ER, PR, cerbB-2, CK5/6 ile karşılaştırıldığında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.

Nestin, CK5/6, p53 pozitifliği ile

- Yaş
- Histolojik grade
- Nükleer grade
- Tümör çapı
- Vasküler invazyon
- Aksiller lenf nodu metastazı

İstatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı

Triple negatif vakalar

- Olguların 34'ü (%63) triple negatif idi
- Çalışma grubuna alınan triple negatif vakalarda nestin ve CK5/6 ekspresyonu ile anlamlı ilişki saptandı ($p < 0,05$) ancak p53 ekspresyonu ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ($p > 0,05$).



TARTIŞMA

TARTIşMA

- Liu ve ark. 150 vakada yaptıkları çalışmada
- Triple negatif ve histolojik grade 3 vakaların nestin ile daha kuvvetli eksprese olduğunu saptamışlardır.
- Lenf nodu metastazında nestin ekspresyonunun farklılık gösterdiğini istatistiksel olarak göstermişlerdir.
- Nestin ile p53 arasındaki değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulmuşlardır. ($p=0,006$).

Liu C, Chen B, Zhu J, Zhang R, Yao F, et al. Clinical implications for nestin protein expression in breast cancer. Cancer Sci 2010;101:815-9

TARTIŞMA

- Parry ve ark. 245 invaziv duktal karsinom olgularında immunohistokimyasal olarak nestin ekspresyonunu incelemişler.
- Özellikle bazal benzeri ve triple negatif meme karsinomlarında nestin ekspresyonunun olduğunu, nestin ile boyanmanın yüksek proliferasyon indeksiyle ve p53 nükleer boyanmayla ilişkili olduğunu saptamışlardır. Neoadjuvan tedavi sonrası cerrahi operasyon olan hastalarda nestinin bağımsız prognostik faktör olmadığını göstermişlerdir.

Parry S, Savage K, Marchio C, et al. Nestin is expressed in basal-like and triple negative breast cancers. J Clin Pathol 2008;61:1045-50.

TARTIşMA

- Çalışmamızda literatür bilgileri ile uyumlu olarak
 - Özellikle triple negatif meme karsinomlarında nestin ekspresyonunun olduğunu, nestin ekspresyonunun p53 nükleer boyanmayla ilişkili olduğunu saptadık.
 - Ancak yüksek nükleer ve histolojik gradeli tümörlerde, lenf nodu metastazında nestin ekspresyonu ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkiye rastlanmadı.

TARTIŞMA

- *Bhalla ve ark. 23 benign ve 25 malign meme olgularında CK5/6 ekspresyonunu incelemişler. Boyutu 3 cm.'den büyük olan, makroskopik incelemede geniş nekroz alanları bulunan ve yüksek mitotik aktivite gösteren grade 3 tüm meme kanserli olgularda CK5/6'nın pozitif olduğunu saptamışlardır.
- **Abd El-Rehim ve ark. tümör çapının, lokal ve rejyonel rekürensın, uzak metastazın, kötü prognozın Ck 5/6 ile pozitif korelasyonunun olduğunu fakat yaş ile ters ilişkili olduğunu bulmuşlardır.

*Bhalla A, Manjari M, Kahlon SK, Kumar P, Kalra N. Cytokeratin 5/6 expression in benign and malignant breast lesions. Indian J Pathol Microbiol. 2010;53:676-80.

**Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE, Bell J. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. J Pathol 2004; 203: 661-71.

TARTIŞMA

- *Takei ve ark. diğer çalışmaların aksine yüksek molekül ağırlıklı sitokeratinleri eksprese eden tümörlerde sağkalım açısından önemli bir fark olmadığını
- **Korsching ve ark. ayrıca CK5/6 pozitif tümörlerin ER (-) ve PR(-) özellik gösterdiği ve klinik olarak bunların cebB-2 tümörlerden farklı bir grup olduğunu saptamışlardır. Ayrıca bu grubun p53, epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) eksprese ettiklerini bildirmişlerdir.

*Takei H, Lino Y, Maemura M, Oyama T, Yokoe T. Low and high molecular weight cytokeratins in invasive breast carcinoma. Oncol Rep 1997;4:33-8.

**Korsching E, Packeisen J, Agelopoulos K, et al. Cytogenetic alterations and cytokeratin expression patterns in breast cancer: integrating a new model of breast differentiation into cytogenetic pathways of breast carcinogenesis. Lab Invest 2002; 82:1525-33.

TARTIŞMA

- Bu çalışmada
 - CK5/6 ile pozitif boyanan 20 vakanın 19'u triple negatif gruptandı. İstatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.
 - CK5/6 ile ER ve PR arasında anlamlı ilişki görülmedi.
 - CK5/6 ile nestin arasında anlamlı ilişki saptanmasına rağmen CK5/6 ile p53 arasında anlamlı ilişki görülmedi.

TARTIŞMA

- Ayrıca vasküler invazyon, aksiller lenf nodu metastazı ve grade ile CK5/6 ekspresyonu arasında korelasyon saptanmadı.
- Bu bulgular Takei ve ark. ile uyumlu olup Korsching ve ark. ile zıttır.

TARTIŞMA

- Meme kanserlerinde yapılan çalışmalarda;
- p53 ekspresyonu ile yüksek tümör derecesi,
- ER ve PR yokluğu arasında yakın ilişki olduğu fikrinde birleşilmiştir.
- Bu parametreler kısa ömür ile ilişkili olduğundan p53 pozitifliği kötü prognoz ile de yakın ilişkilidir.
- Teşhis sırasında lenf nodu metastazına sahip olanlar kadar genelde tüm hastalarda kısa yaşam süresi ve hastalığın gözlenmediği aralıklar ile p53 ekspresyonu arasında prognostik bir anlamlılık bulunmuştur.

- Polyak K .Breast cancer gene discovery. <http://www.expertreviews.org> / 2002 .

TARTIŞMA

- Caleffi ve ark. yaptıkları çalışmada
 - P53'ün tümör çapı ve aksiller lenf tutulumu ile ilişkili olmadığını
 - ER negatif meme karsinomlarında özellikle meduller ve adenoid kistik karsinomlarda p53 pozitifliği saptamışlardır.

Caleffi M, Tague MW, Jensen RA, et al. P53 gene mutations and steroid receptor status in breast cancer; Cancer. 1994; 73:2147-2159

TARTIŞMA

- Bu çalışmada
 - Vakaların %83,3'ü p53 ile pozitif boyandı.
 - Caleffi ve arkadaşlarının çalışmasındaki gibi aksiller lenf tutulumu ve tumor çapıyla ilişki saptanmadı
 - Ancak ER, PR, vasküler invazyon ve grade gibi diğer prognostik faktörlerle de ilişki saptanmadı.

TARTIŞMA

- Nestin ile eksprese olan tüm vakalar p53 ile boyandı.
- Triple negatif vakaların %64,4'ü p53 ile pozitif boyanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı.



SONUÇ

SONUÇ

- Nestin triple negatif grupta triple negatif olmayan gruba oranla daha fazla eksprese olmaktadır.
- Nestin pozitif vakalar p53 ile nükleer ekspresyon göstermektedir.

SONUÇ

- Nestin, p53 ve CK 5/6 ekspresyonu ile
 - Yaş, histolojik grade, nükleer grade, tümör çapı, vasküler invazyon, aksiller lenf nodu metastazı gibi karşılaştırdığımız prognostik faktörler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır

SONUÇ

- Meme karsinomlarında nestin ekspresyonu ilişkisinin altında yatan mekanizma hala daha net değildir.
- Daha geniş çalışmalarda moleküler teknikler ile nestinin prognostik etkisinin incelenmesi gerekmektedir.



Teşekkürler...