

# Mol Hidatiform ve Hidropik Abortus Olgularında Ki-67 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

## Evaluation of Ki-67 Expression in Cases of Hydatidiform Mole and Hydropic Abortion

Rabia ALTUNBAŞ\*, Hacer UYANIKOĞLU\*\*, Muhammet Emin GÜLDÜR\*, Adnan İNCEBIYIK\*\*

\*Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa

\*\*Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Şanlıurfa

### ÖZ

**Amaç:** Mol hidatiform (MH) ve hidropik abortus (HA) vakalarında Ki-67 ekspresyonunu değerlendirmeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmaya Ocak 2014 – Ocak 2016 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalına MH tanısı ile gelmiş 40 olgu ile HA tanısı almış 40 olgu, toplam 80 olgu dahil edilmiştir. İmmuno-histokimyasal çalışma için parafin bloklardan Poly-L-lysine ile kaplanmış lamlara 5 mikron kalınlıkta kesitler alındı. Bu kesitler Ki-67 immuno-histokimyasal belirteci ile boyandı ve Ki-67 ekspresyonu yüzdelik dilim üzerinden hesaplandı.

**Bulgular:** Yaş ortalaması MH tanısı alan olgularda  $29.8 \pm 9.4$ , HA tanısı almış olgularda  $27.9 \pm 6.4$  idi. MH tanısı alan olgularda Ki-67 ekspresyonu ortalama % 45, HA olgularında ise % 10 olarak saptandı ( $p < 0.001$ ). Ki-67 ekspresyonunun MH ve HA vakalarının ayırt edilmesinde Roc analizi kullanıldı. Bu analiz ölçümüne göre cut-off değeri % 18.5, sensitivite değeri % 85 ve spesifisite değeri % 87.5 olarak hesaplandı.

**Sonuç:** Ki-67 ekspresyonu MH grubunda HA grubuna göre daha yüksek düzeyde saptanmıştır. Buna göre Ki-67 proliferasyonunun % 18.5 ve üzerinde olmasının MH lehine olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Mol hidatiform, Hidropik abortus, Ki-67 ekspresyonu

### ABSTRACT

**Introduction:** We aimed to evaluate Ki-67 expression in cases of hydatidiform mole (HM) and hydropic abortion (HA).

**Material and Method:** In this study, 40 cases diagnosed as HM and 40 cases diagnosed as HA, between January 2014 and 2016 at Department of Medical Pathology, Harran University were included in the study. Five micron-thick sections were transferred from parafin blocks on to poly-L-lysine coated slides for immuno-histochemical analyses. These sections were stained with Ki-67 immuno-histochemical marker and Ki-67 expression were expressed as percentiles.

**Results:** Mean ages of patients with HM and HA were  $29.8 \pm 9.4$  and  $27.9 \pm 6.4$  years, respectively. There was a significant difference in Ki-67 immunoreactivity of cytotrophoblastic cells between HA and HM ( $p < 0.001$ ). ROC analysis was used to distinguish Ki-67 expression in both groups. According to this analysis, the measurement of the cut-off value, sensitivity and specificity values were calculated as 18.5, 85, and 87.5%, respectively.

**Conclusion:** We detected higher rate of Ki-67 expression in the HM group rather than HA. Accordingly, it has been thought that Ki-67 proliferation rate of  $\geq 18.5\%$  might be evaluated in favour of HM might be evaluated favorably.

**Keywords:** Hydatidiform mole, Hydropic abortion, Ki-67 expression

### GİRİŞ

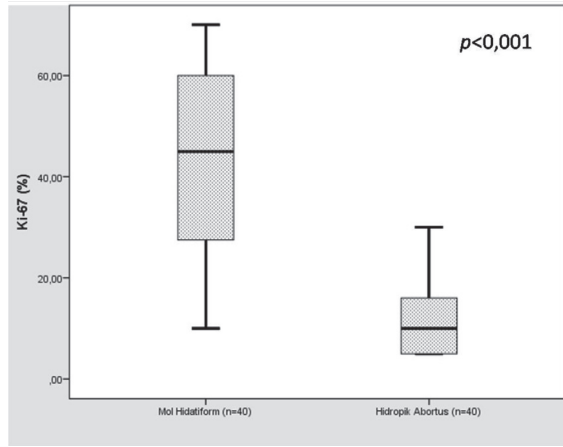
Gestasyonel trofoblastik hastalıklar anormal fertilizasyonun bir sonucu olarak gelişen ve trofoblastların aşırı proliferasyonu ile karakterize bir hastalık grubudur. Spontan rezolüsyon ile sonuçlanabilen mol hidatiformdan yaşamı tehdit eden koryokarsinoma kadar değişkenlik gösteren bir spektruma sahiptir<sup>(1)</sup>.

Spontan abortusun klinik insidansı yaklaşık %15 olmakla birlikte gerçek insidansın %40-80 kadar yüksek olduğu düşünülmektedir<sup>(2)</sup>. HA histolojik

Alındığı tarih: 27.04.2017

Kabul tarihi: 14.07.2017

Yazışma adresi: Uzm. Dr. Hacer Uyanıkoğlu, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Şanlıurfa  
e-posta: huoglu@hotmail.com



Şekil 1. Ki-67 ekspresyonunun her iki gruptaki değerleri.

olarak koryonik villuslarda hidropik değişikliklerin görülmesi olarak tanımlanır. MH'un ise üç histolojik özelliği vardır: Trofoblastik hiperplazi, trofoblastik inklüzyon ve vilüslerde belirgin şişme veya sisterna oluşumudur. MH olgularına benzer şekilde HA olgularında da villus yapıları hidropik şişme, fokal sisterna oluşumu ve villöz ödem özellikleri gösterebilir, ancak bu bulgular hidropik abortusta daha az belirgindir. Trofoblastik proliferasyon ise HA olgularında izlenmezken, MH olgularında oldukça belirgindir<sup>(3)</sup>. Bu iki tanının ayırımı için iyi tanımlanmış histopatolojik kriterler olmasına rağmen, bu kriterlerin çeşitlilik göstermesi ve gözlemciler arasındaki farklılıklar ayırıcı tanıda sorun oluşturabilmektedir<sup>(4)</sup>. Dolayısıyla yeni yöntemlerin geliştirilmesi şüpheli olgularda ayırıcı tanı için oldukça önemlidir. Bunun için literatürde molar ve non-molar gebeliklerde Ki-67 ve P-63 gibi proliferatif markerler çalışılmıştır<sup>(2)</sup>.

Ki-67 çoğalan hücrelerde görülen bir çekirdek proteindir. Esas olarak hücre siklusunun tüm aktif fazlarında (G1, S, M ve G2) görülür, G0 fazında ise izlenmez<sup>(5)</sup>. Hücre proliferasyonunun morfolojik özelliklerini iyi bir şekilde gösteren protein olup, mitotik index ve tümör gradelemesinde sıklıkla kullanılmaktadır<sup>(6)</sup>. Literatürde Ki-67 proliferasyon indeksinin nöroendokrin tümörler, non-Hodgkin lenfoma, meme, akciğer ve prostat kanseri gibi pek çok neoplazi grubunda çalışıldığı gösterilmiştir<sup>(7-11)</sup>. Bunun yanı sıra hiperinvazyonla karakterize molar gebelik olgularında da Ki-67 proliferasyonunu değerlendiren çalışmalar mevcuttur, fakat bu çalışmalar oldukça sınırlı sayıda olgu içermektedir<sup>(12,13)</sup>.

Biz daha geniş olgu serisi olan bu çalışmamızda, Ki-67 ekspresyonunu molar ve non-molar olgularda değerlendirerek bu belirtecin bu iki hastalık grubunun ayırıcı tanısında yararlı olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

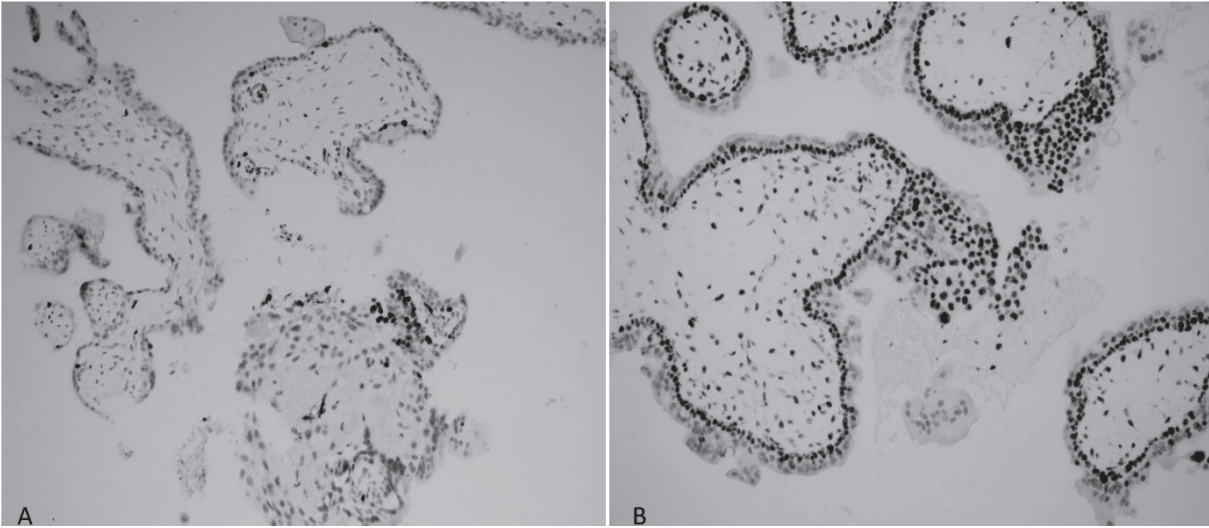
## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu retrospektif çalışmada Ocak 2014-Ocak 2016 yılları arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda tanısı konmuş 40 HA ve 40 molar gebelik olgusu değerlendirmeye alındı. Çalışma planı için hastanemiz Etik Kurulu tarafından onay alındı. Patoloji arşivinden olgulara ait tüm lamalar çıkarıldı ve preparatlar tekrar değerlendirilerek immünohistokimyasal inceleme için uygun parafin bloklar seçildi. Bu parafin bloklardan Poly-L-lysine ile kaplanmış lamlara 5 mikron kalınlıkta 2 adet boyasız kesit alındı. Bu kesitler Leica Bond otomatik immünohistokimyasal boyama cihazında Ki-67 antikoru ile boyandı. Histopatolojik incelemelerin hepsi Olympus Bx51 marka mikroskop ile yapıldı. Ki-67 ekspresyonu 40x büyütmede 10 farklı alanda yüzdelik olarak hesaplandı ve ortalaması alındı.

Tüm istatistiksel analizler için SPSS 20.00 versiyonu (Illinois, Chicago, USA) kullanıldı. Verilerin dağılımının normal olduğunu değerlendirmek için One Sample Kolmogorov Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri kullanıldı. Sonuçlar ortalama±SD (Standart Deviasyon) olarak verildi. Ki-67 parametresi için dağılımın normal olmaması nedeniyle nonparametrik testlerden Independent Simple T Test ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. Yaş ve Ki-67 ekspresyonu arasındaki ilişki için dağılımın normal olmaması nedeniyle her gruba ayrı olarak Spearman korelasyon analizi uygulandı. Cut-off değeri, spesifite, ve sensitivite değerlerinin hesaplaması için Roc analizi kullanıldı. Tüm sonuçlar için  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Olguların yaş ortalaması molar gebelik grubunda  $29,8 \pm 9,4$ , hidropik abortus grubunda ise  $27,9 \pm 6,4$  olup istatistiksel olarak benzerdi. Gebelik haftaları ise molar gebelik grubunda ortalama  $9 \pm 2,1$ , HA grubunda ise  $8 \pm 3,0$  idi ( $p > 0,05$ ).



**Resim 1. A: Hidropik abortus tanısı almış olguda % 10 oranında Ki-67 ekspresyonu (İHKx200); B: Mol hidatiform tanısı almış olguda %70 oranında Ki-67 ekspresyonu (İHKx2007)**

Molar gebelik ve hidropik abortus gruplarının Ki-67 ekspresyonu verileri, dağılımın normal olmaması nedeniyle Mann-Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark saptandı ( $p < 0.001$ , Şekil 1). Ki-67 ile boyanan preparatların örnek görüntüleri Resim 1’de gösterilmiştir.

Gruplara göre Ki-67 ekspresyonu ile yaş arasında herhangi bir ilişki olup olmadığının araştırılması için Spearman korelasyon analizi kullanıldı fakat Ki-67 ve yaş arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

Ki-67 ekspresyonunun MH ve HA olgularının ayırt edilmesinde Roc analizi kullanıldı. Bu analiz ölçümüne göre Ki-67 immunoreaksiyonunun cut-off değeri 18,5, sensitivite değeri %85 ve spesifite değeri %87,5 olarak hesaplandı. MH olgularında Ki-67 ekspresyonunun %18,5 ve üzerinde olduğu saptandı. Bu değerler Ki-67 ekspresyonunun MH ve HA olgularının ayırt edilmesinde etkili olabileceğini göstermektedir.

## TARTIŞMA

GTH’lar normal veya anormal gestasyon ile ilişkili trofoblastik proliferasyonun izlendiği bir hastalık grubudur<sup>(14)</sup>. Mol hidatiformlar trofoblastik proliferasyon ve viluslarda şişme ile karakterize hastalıklar olup komplet ve parsiyel olmak üzere ikiye ayrılır

<sup>(15,16)</sup>. Mol gebelikler histolojik olarak ilk trimester hidropik abortuslarla benzerlik gösterebilmektedir. Fakat mol hidatiformların invazyon yapabilme özellikleri nedeniyle hidropik abortuslardan ayırt edilmesi klinik izlem açısından oldukça önemlidir. Bu ayırımı histopatolojik özellikler yardımcı olabilir. Hidropik abortusta vezikül yapıları ve sisterna oluşumu yoktur, villöz trofoblastlar ya attenüedir veya proliferer ise kutupsal bir dağılım gösterir. Ayrıca trofoblastik atipi yoktur veya oldukça azdır<sup>(16,17)</sup>. Ancak histopatolojik incelemeye rağmen, yine de arada kalınan bazı olgular vardır ve bu olgularda kesin tanı vermede zorluklar yaşanmaktadır. Bu nedenle literatürde çeşitli proliferatif markerler çalışılmıştır<sup>(2)</sup>.

Literatürde hidropik gebeliklerle mol hidatiform ayırıcı tanısında Ki-67’nin yararlılığını araştıran çelişkili yayınlar mevcuttur. Shammel ve Bocklage yaptıkları çalışmada Ki-67 pozitifliğinin molar gebeliklerde %70, non-molar olgularda ise % 22 civarında olduğunu bulmuşlar ve Ki-67 pozitifliğinin molar ve non-molar gebelik ayırıcı tanısında kullanılabileceğini fakat parsiyel molü komplet molden ayırt edemeyeceğini ileri sürmüşlerdir<sup>(18)</sup>. Ostrzega ve ark.<sup>(12)</sup> ise komplet mol, parsiyel mol ve HA olgularında Ki-67 ekspresyonunu sırasıyla %84,4, %65,3 ve %8,7 olarak göstermiş ve gruplar arasında anlamlı farklılık bulmuşlardır. Evliyaoğlu ve ark.<sup>(19)</sup> Ki-67’nin komplet mol (%21) ile parsiyel mol (%8) ayırımında umut verici bir marker olduğunu göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda Ki-67 ekspresyonunu MH olgularında

% 45, HA olgularında ise % 10 olarak saptadık.

Ancak literatürde Ki-67'nin MH ve HA olgularının ayırımında yararlı olmadığına dair çalışmalar da mevcuttur. Khooei ve ark. <sup>(13)</sup> 29 olgulu bir çalışmada, Ki-67 ekspresyonunun ayırıcı tanıda anlamlı olmadığını ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde, Kim ve ark. <sup>(20)</sup> ve Özbilim ve ark. <sup>(21)</sup> molar ve non-molar plasentalarda proliferatif hücrelerde Ki-67 indeksini karşılaştırmışlar ve anlamlı farklılık bulmamışlardır. Bu çalışmalardaki sonuçların anlamsız çıkmasının nedeni olgu sayılarının azlığı, uygulanan teknik farklılıklar ve gebelik haftalarının farklı olması ile ilişkili olabilir. Çalışmamızda, gebelik haftaları benzer idi ve olgu sayımız daha fazlaydı (40 ve 29'a karşı 80).

Literatürde trofoblastik neoplazilerde de Ki-67 ekspresyonu araştırılmış ve benzer sonuçlar bulunmuştur. Bamberger ve ark. <sup>(22)</sup> Ki-67 ekspresyonunun HA olgularında %20-30, koryokarsinom olgularında ise %80-90 olarak bulmuş ve anlamlı farklılığın olduğunu belirtmişlerdir. Uzunlar ve ark. <sup>(23)</sup> 19 HA, 20 parsiyel mol ve 21 komplet mol, 9 invaziv mol ve 3 koryokarsinom olgusunda P53, PCNA ve Ki-67 immünreaktivitesini çalışmışlar ve gestasyonel trofoblastik hastalıklar ile HA ayırımında Ki-67 ekspresyonunun yararlı olabileceğini ifade etmişlerdir.

Son yıllarda ise Ki-67 ekspresyonunun gestasyonel trofoblastik hastalıkların prognozunu öngörmeye yararlı olabileceği düşünülmüştür. Ayırıcı tanıda cut-off değeri %12,5 olarak sensitivite %90, spesifite ise %93 olarak bulunmuştur <sup>(24)</sup>. Biz de çalışmamızda, MH ve HA olgularının ayırılmasında Roc analizi kullanarak Ki-67 için cut-off değerini %18,5 sensitivite değerini %85 ve spesifite değerini %87,5 olarak bulduk. Buna göre Ki-67 proliferasyonunun % 18.5 ve üzerinde olması MH lehine değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada, mol olgularının komplet ve parsiyel olarak ayrı değerlendirilmemesi ve diğer proliferatif markerlerin (P-63, P-57 gibi) çalışılmamasına rağmen, yapılan çalışmalarda Ki-67'nin diğer proliferatif faktörlere göre daha iyi bir belirteç olduğunun bildirilmesi <sup>(2)</sup> ve sonuçlarımızın literatürle uyumlu olması çalışmamızın olumlu yönleridir.

Sonuç olarak, Ki-67 pozitifliğinin histopatolojik tanı koymada karışabilme olasılığı olan molar ve non-molar gebeliklerin ayırıcı tanısında yararlı bir marker olabileceğini düşünmekteyiz. Bu konuda daha geniş olgu sayısı içeren çalışmalara gereksinim vardır.

## KAYNAKLAR

1. **Rustin GJS.** Trophoblastic diseases. In: Shaw RW, Soutter WP, Eds. Gynaecology. 2nd ed., London: Churchill Livingstone, 1997.
2. **Erfanian M, Sharifi N, Omid AA.** P63 and Ki-67 expression in trophoblastic disease and spontaneous abortion. *J Res Med Sci* 2009;14:375-84.
3. **Kurman RJ.** Partial Mole trophoblastic disease. In: Kurman RJ Eds. Blaustein's Pathology of Female Genital Tract. 4th ed., New York: Springer-Verlag, 2002.
4. **Fukunaga M, Katabuchi H, Nagasaka X Mikami Y, Minamiguchi S, Lage IM.** Interobserver and intraobserver variability in the diagnosis of hydatidiform mole. *Am J Surg Pathol* 2005;29:942-7. <https://doi.org/10.1097/01.pas.0000157996.23059.c1>
5. **Scholzen T, Gerdes J.** The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000;182:311-22. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4652\(200003\)182:3<311::AID-JCP1>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4652(200003)182:3<311::AID-JCP1>3.0.CO;2-9)
6. **Huisman MA, De Heer E, Grote JJ.** Cholesteatoma epithelium is characterized by increased expression of Ki-67, p53 and p21, with minimal apoptosis. *Acta Otolaryngol* 2003;123:377-82. <https://doi.org/10.1080/00016480310001376>
7. **Tang LH, Gonen M, Hedvat C, Modlin IM, Klimstra DS.** Objective quantification of the Ki67 proliferative index in neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system: a comparison of digital image analysis with manual methods. *Am J Surg Pathol* 2012;36:1761-70. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e318263207c>
8. **Patruno R, Zizzo N.** Microvaskuler density and endotelial area correlate with Ki-67 proliferative rate in the canine Non-Hodgkin's lymphoma spontaneous model. *Leukemia&Lymphoma* 2006;47:1138-42. <https://doi.org/10.1080/10428190600565859>
9. **Koda M, Sulkowski S, Kanczuga-Koda L, Surmacz E, Sulkowska M.** Expression of ERalpha, ERbeta and Ki-67 in primary tumors and lymph node metastases in breast cancer. *Oncol Rep* 2004;11:753-9.
10. **Hashimoto K, Araki K, Osaki M, Nakamura H, Tomita K, Shimizu E, Ito H.** MCM2 and Ki-67 expression in human lung adenocarcinoma: prognostic implications. *Pathobiology* 2004;71:193-200. <https://doi.org/10.1159/000078673>
11. **Bantis A, Giannopoulos A, Gonidi M, Liossi A, Aggelonidou E, Petrakakou E, Athanassiades P, et al.** Expression of p120, Ki-67 and PCNA as proliferative biomarkers in imprint smears of prostate carcinoma and their prognostic value. *Cytopathology* 2004;15:25-31. <https://doi.org/10.1046/j.0956-5507.2003.00090.x>



12. **Ostrzega N, Phillipson J, Liu P.** Proliferative activity in placentas with hydropic change and hydatidiform mole as detected by Ki-67 and proliferating cell nuclear antigen immunostaining. *Am J Clin Pathol* 1998;110:776-81.  
<https://doi.org/10.1093/ajcp/110.6.776>
13. **Khoeei A, Atabaki Pasdar F, Fazel A, Mahmoudi M, Nikravesh MR, Khaje Delui M, Pourheydar B.** Ki-67 expression in hydatidiform moles and hydropic abortions. *Iran Red Crescent Med J* 2013;15:590-4.  
<https://doi.org/10.5812/ircmj.5348>
14. **Shih IM, Kurman RJ.** Immunohistochemical localization of inhibin-alpha in the placenta and gestational trophoblastic lesions. *Int J Gynecol Pathol* 1999;18:144-50.  
<https://doi.org/10.1097/00004347-199904000-00008>
15. **Fulop V, Mok SC, Gati I, Berkowitz RS.** Recent advances in molecular biology of gestational trophoblastic diseases. A review. *Reprod Med* 2002;47:369-79.
16. **Genest DR.** Partial hydatidiform mole: clinicopathological features, differential diagnosis, ploidy and molecular studies, and gold standards for diagnosis. *Int J Gynecol Pathol* 2001;20:315-22.  
<https://doi.org/10.1097/00004347-200110000-00001>
17. **Koenig C, Demopoulos RI, Vamolgus EC, Mittal KR, Peiner HD, Espiriuu EG.** Flow cytometric DNA ploidy and quantitative histopathology in partial moles. *Int J Gynecol Pathol* 1993;12:235-40.  
<https://doi.org/10.1097/00004347-199307000-00006>
18. **Schammel DP, Bocklage T.** p53, PCNA, and Ki-67 in hydropic molar and nonmolar placentas: an immunohistochemical study. *Int J Gynecol Pathol* 1996;15:158-66.  
<https://doi.org/10.1097/00004347-199604000-00011>
19. **Evlıyaoglu Ö, Kayıkçı F, Karshoglu Y.** The clinical value of Ki-67/Mib-1 proliferation index in hydatidiform mole. *Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji Dergisi* 2015;12:114-8.  
<https://doi.org/10.1097/01.pas.0000194299.27463.21>
20. **Kim MJ, Kim KR, Ro JY, Lage JM, Lee HI.** Diagnostic and pathogenetic significance of increased stromal apoptosis and incomplete vasculogenesis in complete hydatidiform moles in very early pregnancy periods. *Am J Surg Pathol* 2006;30:362-9.  
<https://doi.org/10.1097/01.pas.0000194299.27463.21>
21. **Ozbilim G, Karaburun SP, Zorlu G, Kaya R, Erdoğan G, Karaveli S.** Immunohistochemical staining properties of PCNA, Ki-67, p53, beta-hCG and HPL in trophoblastic disease. *Eur J Gynaecol Oncol* 2000;21:200-4.
22. **Bamberger AM, Aupers S, Milde-Langosch K, Löning T.** Expression pattern of the cell cycle promoter cyclin e in benign extravillous trophoblast and gestational trophoblastic lesions: correlation with expression of Ki-67. *Int J Gynecol Pathol* 2003;22:156-61.  
<https://doi.org/10.1097/00004347-200304000-00007>
23. **Uzunlar AK, Yılmaz F, Bayhan G, Akkuş Z.** Expressions of p53, proliferating cell nuclear antigen, and Ki-67 in gestational trophoblastic diseases. *Eur J Gynaecol Oncol* 2002;23:79-83.
24. **Hasanzadeh M, Sharifi N, Esmaili H, Daloe MS, Tabari A.** Immunohistochemical expression of the proliferative marker Ki67 in hydatidiform moles and its diagnostic value in the progression to gestational trophoblastic neoplasia. *J Obstet Gynaecol Res* 2013;39:572-7.  
<https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2012.01981.x>