

# Gastrik Adenokarsinomlarda p53 İmmünreaktivitesinin Prognostik Faktörler İle Karşılaştırılması

Ferda AKSEL (\*), Şeyma MAYYAN (\*), Ebru ZEMHERİ (\*), Deniz GÜR (\*), Mahmut ZEMHERİ (\*\*), Ayşe ERDOĞAN (\*\*)

## ÖZET

Gastrik karsinomlar, doğu ülkelerinde daha yüksek oranda görülmele birlikte tüm dünyada ölüme neden olan karsinomlar arasında 2. sıklıkta bulunmaktadır. Tümörün tedavisinde, nüks ve metastaz ihtimallerinin değerlendirilmesinde prognostik faktörlerin büyük önemi vardır. Çalışmamızda prognostik faktör olarak Lauren sınıflandırmasına göre mikroskopik karsinom tipi (intestinal tip/diffuz tip/miks tip), grade, lenf nodu tutulumu (tutulunun mevcut olması L1, olmaması L0), TNM sınıflamasına göre invazyon derinliği (pT1, pT2, pT3), perinöral invazyonun ve vasküler tutulumun mevcudiyeti, nekroz içeriği, ve inflamatuvar yanıtın bulunması değerlendirildi. Tümörlü bloklara p53 antikoruna ile yapılan immünohistokimyasal boyamada nükleer boyanma izlendi: Po: boyanma olmayanlar P1: (+)<% 25 boyanma olanlar, P2:(++) % 25-50 boyanma olanlar, P3:(+++)>% 50 boyanma olanlar değerlendirildi. Olguların 15'inde (% 33.3) Po, 8'inde (% 17.7) P1, 7'sinde (% 15.5) P2, 15'inde (% 33.3) P3 tipinde boyanma saptandı. Sonuç olarak, p53 immünoreaktivitesi ile prognostik faktörleri karşılaştırdığımızda sadece damar invazyonu ( $p<0.05$ ) vke perinöral invazyon ( $p<0.05$ ) ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Mide, adenokarsinom, p53

Gastrik karsinom tanısı alan hastaların tedavisinin yönlendirilmesi, nüks ve metastaz ihtimallerinin değerlendirilmesi ve sağ kalım üzerine etkili pek çok prognostik faktörler bilinmektedir. Bunlar; hasta yaşı, tümör sınırları, tümör çapı, mikroskopik karsinom tipi, grade,

## SUMMARY

### p53 Immunoreactivity and Gastric Carcinomas

Though gastric carcinomas are more common in eastern countries, they are the second most common tumours causing death world wide. Prognostic factors are very important for deciding treatment modalities and the determination of recurrences and metastasis. In our study microscopic types of adenocarcinomas according to Lauren's classification (intestinal/diffuse/mixed type), grade of the tumour, presence of lymph node metastasis (L1), absence of lymph node metastasis (L0), depth of tumoural invasion according to TNM classification (pT1, pT2, pT3), perineural and perivascular tumoural infiltration, presence of necrosis and inflammatory reactions are evaluated as prognostic factors. Paraffin blocked sections of tumoural tissues are stained with anti p53 immunohistochemically. Nuclear staining with anti p53 is accepted as immunopositive. Immunonegative tissues are evaluated as P0, immunopositivity in less than 25 % of tumour is evaluated as P1(+), tumours with 25 % to 50 % immunopositivity are P2 (++) and tumours with more than 50 % immunopositivity are P3 (+++). 15 of the cases (33.3 %) are diagnosed as P0, 8 of the cases (17.7 %) are diagnosed as P1, 7 of the cases (15.5 %) are P2 and 15 of the cases (33.3 %) are diagnosed as P3. As a result when p53 immunoreactivity is compared with the prognostic factors, we found that only perivascular tumoural invasion ( $p<0.05$ ) and perineural tumoural invasion ( $r=0.155$ ,  $p=0.045$ ) are correlated with p53 immunopositivity and these results are statistically significant.

**Key words:** Gastric, adenocarcinoma, p53

inflamatuvar yanıt, perinöral invazyon, cerrahi tipi, cerrahi sınırlar, regional lenf nodu tutulumu, DNA ploidy, c-erbB-2 protein, p53 protein ve proliferasyon belirteçleri (Ki-67 indeksi, mitoz, AgNOR vb.). Bu prognostik faktörler, tümörün gidişinin belirlenmesinde tek başına

yeterli olmamakta ve daha güvenilir prognostik faktörlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bir tümör süpresör geni olan p53'de oluşan mutasyonla ortaya çıkan mutant p53 geninin tümör oluşumunda prognoz üzerindeki etkilerini araştıran pek çok çalışma mevcuttur.

Çalışmamızda, SSK Göztepe Eğitim Hastanesi Cerrahi Kliniklerinde opere edilen ve laboratuvarımızda adenokarsinom tanısı alan 45 gastrik karsinom olgusuna immünohistokimyasal olarak anti p53 uygulayıp, sonuçları prognostik faktörlerle karşılaştırarak daha güvenilir tümör prognostik faktörlerinin kullanılabilirliğini göstermeyi amaçladık.

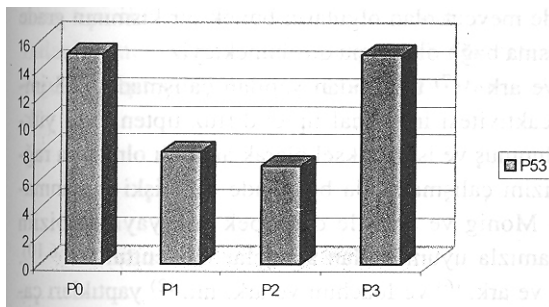
## MATERYAL ve METOD

45 gastrik adenokarsinom olgusunda Lauren'e göre mikroskopik karsinom tipi, grade, lenf nodu metastazı, damar invazyonu, perinöral invazyon, invazyon derinliği, iltihabi yanıt ve nekroz içeriği incelendi. Lauren sınıflamasına göre diffüz, intestinal ve mikst tip değerlendirilirken lenf nodu tutulumunun mevcudiyeti L1, olmaması L0 olarak gruplandırıldı. İnvazyon değerlendirilirken TNM sistem, esas alınmış olup pT1: lamina propria tümörün sınırlı olması, pT2: muskularis propria invazyonu, pT3: seroza invazyonu olup komşu organları invaze etmemiş olması dikkate alınmıştır. İnflamatuvar yanıt açısından tümör ile normal doku arasında lenfositik infiltrasyonun az veya hiç olmaması ile lenfositik infiltrasyon /lenfoid agregatın mevcut olması şeklinde gruplama yapılarak değerlendirilmiştir.

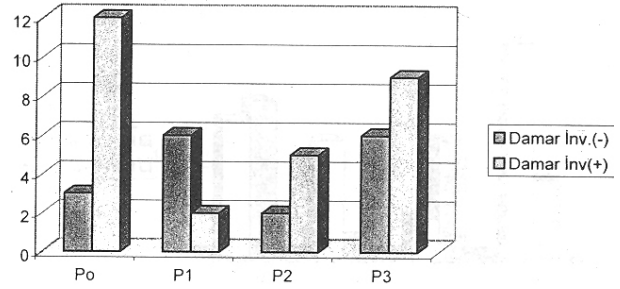
İmmünohistokimyasal işlemlerde anti p53 (antihuman cellular phosphoprotein) klon BP 53.12; izotip İgG2a-kappa "streptavidin biotin kompleks" yöntemiyle tümörlü bloklara uygulanmıştır. İmmünopozitivitesi bilinen meme karsinomu olgusu kontrol amacıyla kullanılmıştır. Nükleer boyanma gösteren p53 immünoaktivitesi değerlendirilirken P0:boyanma olmayanlar, P1: (<math>+</math>)<math>< 25</math> boyanma olanlar, P2: (<math>++</math>)<math>< 25-50</math> arası boyanma olanlar, P3: (<math>+++</math>)<math>> 50</math> boyanma olanlar olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmamıza ait 45 gastrik adeno karsinom olgusunun



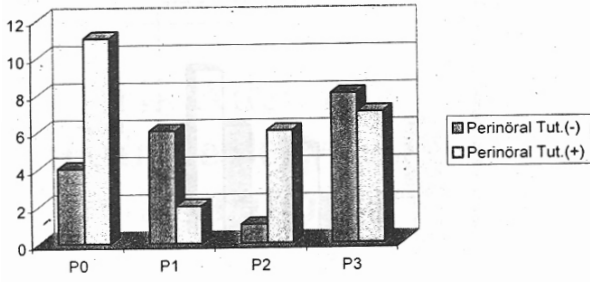
Şekil 1. p53 ile boyanma.



Şekil 2. p53 boyanma ile damar tutulumu.

35'i (% 77.7) Lauren sınıflamasına göre intestinal tip, 1'i (% 2.2) mikst tip, 9'u (% 20) diffüz tip olarak değerlendirildi. Olguların 3'ü (% 6.6) grade 1, 19'u (% 42.2) grade 2, 23'ü (% 51.1) grade 3 idi. 1 olgu (% 2.28) T1, 8 olgu (% 17.7) T2, 36 olgu (% 80) T3 olarak bulundu. 17 olguda (% 37.7) damar invazyonu bulunmazken, 28 olguda (% 62.2) damar invazyonu mevcut idi. Olguların 15'i (% 33.3) L0, 30'u (% 66.6) L1 olarak değerlendirildi. Nekroz içeren 14 olguya karşılık, 31 olguda (% 68.8) nekroz mevcut değildi. Tümör alanı etrafında inflamatuvar yanıtın az veya hiç olmadığı olgu sayısı 28 (% 62.2), inflamatuvar yanıt oluşturan olgu sayısı 17 (% 37.7) olarak saptandı. Olguların 19'unda (% 42.2) perinöral tutulum varken, 26'sında (% 57.7) yoktu. p53 boyamasıyla 15 olguda (% 33.3) P0, 8 olguda (% 17.7) P1, 7 olguda (% 15.5) P2 tipi boyanma, 15 olguda (% 33.3) P3 tipi boyanma saptandı (Şekil 1).

p53 boyamasıyla Lauren'e göre mikroskopik karsinom tipi karşılaştırıldığında P0 olguların 12'si (% 80) intestinal, 3'ü (% 20) diffüz tiptedir. P1 tipi boyanan olguların tamamı intestinal tiptedir. P2 tipi boyananların 4'ü (% 57.2) intestinal tip, 3'ü (% 42.8) diffüz tiptedir. P53 tipinde boyananların 11'i (% 73) intestinal tip, 3'ü (% 20) diffüz tip, 1'i (% 6.6) mikst tipte karsinomdu. Mikst tipte adenokarsinom sadece 4 olgu P3 tipinde boyanma göstermiştir. İstatistiksel olarak da anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ). P0 olguların 1'i (% 6.6) grade 1, 6'sı (% 40) grade 2, 8'i (% 53.3) grade 3'tü. P1 boyanma gösterenlerin 1'i (% 12.5) grade 1, 4'ü (% 50) grade 2, 3'ü (% 37.5) grade 3'tü. P2 boyananların 1'i (% 14.2) grade 2, 6'sı (% 85.7) grade 3'tü. P3 tipinde boyananların 1'i (% 6.6) grade 1, 8'i (% 53.3) grade 2, 6'sı (% 40) grade 3'tü. İstatistiksel olarak grade ile p53 immünoaktivitesi arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ( $p > 0.05$ ). P0 boyanan olguların 2'si (% 13.3) T2, 13'ü (% 86.6) T3'tü. P1 boyananların 1'i (% 12.5) T1, 2'si (% 25) T2, 5'i (% 62.5) T3'tü. P2'lerin tamamı (% 100) T3'tü. İsta-



Şekil 3. p53 boyama ile perinöral tutulum.

tistiksel olarak aralarında anlamlı bir ilişki bulunamadı ( $p>0.05$ ). P0 boyanan olguların 3'ünde (% 20) damar invazyonu yok, 12'sinde (% 80) vardı. P1 tipinde boyananların 6'sında (% 75) yok, 2'sinde (% 25) vardı. P2 boyananların 2'sinde (% 28.5) damar invazyonu yok, 5'inde (% 71.4) vardı. P3 olguların 6'sında (% 40) yok, 9'unda (% 60) vardı. İstatistiksel olarak aralarında anlamlı bir ilişki bulundu ( $p<0.05$ ) (Şekil 2).

P0 boyanan olguların 5'i (% 33.3) L0, 10'u (% 66.6) L1'di. P1 boyananların 4'ü (% 50) L0, 4'ü (% 50) L1'di. P2 tipinde boyananların 1'i (% 14.2) L0, 6'sı (% 85.7) L1, P3'lerin 5'i (% 33.3) L0, 10'u (% 66.6) L1 olarak değerlendirildi. p53 immünreaktivitesi ile lenf nodu metastazi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p<0.05$ ). Nekroz içeriği; P0 boyananların 8'inde (%53.3) yok, 7'sinde (% 46.6) vardı, P1 boyananların 6'sında (% 75) yok, 2'sinde (% 25) vardı, P2lerin 5'inde (% 71.4) yok, 2'sinde (% 28.5) vardı. P3'lerin 12'sinde (% 80) yok, 3'ünde (% 20) vardı. İstatistiksel olarak aralarında anlamlı bir ilişki mevcut değildi ( $p>0.05$ ). İnflamatuar yanıt P0 boyananların 8'inde (% 53.3) yok, 7'sinde (% 46.6) vardı, P1 tipinde boyananların 5'inde (% 62.5) yok, 3'ünde (% 37.5) vardı, P2'lerin 6'sında (% 85.7) yok, 1'inde (% 14.2) vardı, P3 boyananların 9'unda (% 60)yok, 6'sında (% 40) vardı. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $p>0.05$ ). Perinöral tutulum P0 boyanma gösterenlerin 4'ünde (% 26.6) yok, 11'inde (% 73.3) var, P1'lerin 6'sında (% 75) yok, 2'sinde (% 25) var, P2 tipinde boyananların 1'inde (% 14.2) yok, 6'sında (% 85.7) var, P3'lerin 8'inde (% 53.3) yok, 7'sinde (% 46.6) vardı. İstatistiksel olarak aralarında anlamlı bir ilişki saptandı ( $p< 0.05$ ) (Şekil 3).

## TARTIŞMA

Hasta ve tümörle ilgili pek çok prognostik faktör bir arada ve birbirleriyle etkileşerek klinik gidişte ve sağka-

lmda rol oynamakta olup, bilinen prognostik faktörlerin hiçbiri tek başına etkili değildir. Bu prognostik faktörler pek çok genetik, biyolojik ve histolojik araştırmalarla ortaya çıkmıştır. Moleküler biyolojik çalışmalarda tümör süpresör genler, kromozom değişiklikleri, onkogenler ve proliferasyon belirteçlerinin prognostik önemi ile ilgili önemli bilgiler elde edilmiştir. Multistep genetik değişiklikler insan kansinomlarının oluşması ile yakından ilişkilidir. Bu değişiklikler; hücrel protoonkogenlerin ve tümör süpresör genlerin inaktivasyonunu içermektedir. Şu ana kadar tespit edilmiş en sık tek gen değişikliği p53 gen mutasyonudur (1).

p53, 53 k.d. ağırlıkta fosfoprotein sentezleyen bir tümör süpresör genidir. Bu nükleer proteinin normal hücre siklusunun başlaması ve ilerlemesini regüle ettiğine inanılmaktadır. p53, hücre siklusunda G0'dan G1'e geçiş sırasında indüklenmektedir (2). Herhangi bir nedenle hücre siklusunda DNA hasarı oluştuğunda, DNA replikasyonu öncesi bu hasarın onarımı için siklusu G1 fazında tutarak onarımı sağlar. Eğer hasar onarırsa hücre S fazıyla devam eder veya onarılamazsa hücre ölümü gerçekleşir (3). Hücre proliferasyonunu inhibe eden Wild tipi p53 proteininin bu aktivitesinin kaybı, hücrede neoplastik transformasyona yol açar. p53 gen fonksiyonunda oluşan bozuklukların en sık nedeni yanlış protein üretimine ve mutant alelin kaybına neden olan misense mutasyonlardır. Mutasyon sonucunda oluşan mutant p53 geni, Wild tip proteinden daha uzun bir yarı ömre sahiptir. Bu nedenle Wild tipe kompleks oluşturabilme ve onu inaktive edebilme yeteneğine sahiptir (2).

Bizim çalışmamızda seçilen 45 olgunun 30'unda (% 66.6) nükleer boyanma şeklinde p53 immünoreaktivite izlenirken literatürlerde % 26-60 arasında değişen oranlarda p53 immünoreaktivite bildirilmiştir (2,4-9). Çalışmamızda daha yüksek oranlarda boyanma izlenmiş olmasının nedeni, daha sonra da anlatılacağı gibi, grade ile p53 immünoreaktivitesi arasında ilişki bulunamamasına rağmen, elimizde mevcut olan olguların büyük bir kısmının grade 3 olmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Shun ve ark. (17) tarafından yapılan çalışmada, p53 immünoreaktivitesi intestinal tipte, diffuz tipten daha yüksek bulunmuş ve istatistiksel olarak anlamlı olmasına rağmen bizim çalışmamızda bu yönde bir ilişki saptanmamıştır. Monig ve ark. ile daha pek çok yayında bizim çalışmamızla uyumlu olan sonuçlar mevcuttur (2,5,6,10). Monig ve ark. (6) ve Ioachim ve ark.'nın (2) yaptıkları çalışmalarla uyumlu olarak, bizim çalışmamızda da grade

ile p53 immünoreaktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Literatürde bunu destekleyen başka sonuçlar da mevcuttur (4,5,10,11).

İnvazyon derinliği ile p53 immünoreaktivitesi karşılaştırıldığında, Kim ve ark. tarafından (12) yapılan çalışmaya ters olmakla birlikte, başka birçok literatür çalışmasıyla uyumlu olarak istatistiksel bir ilişki izlenmedi. Monig ve ark. (6) tarafından yapılan çalışmada, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmasına rağmen, bizim çalışmamızda lenf nodu metastazı ile p53 immünoreaktivitesi arasında böyle bir ilişki saptanamamıştır. Bizim çalışmamıza uyumlu başka literatürler de mevcuttur (11-14). Ioachim ve ark. (2) ve başka literatürlerde (12,14) olduğu gibi bizim çalışmamızda da damar invazyonu ve p53 immünreaktivitesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Ioachim ve ark. nekroz ve p53 immünoreaktivitesi arasında anlamlı bir ilişki tespit etmiş olmalarına rağmen bizim çalışmamızda bu yönde bir ilişki saptanamamıştır. Meme kansinomu (15), transizyonel hücreli kansinom (16) gibi tümörlerde tümör dokusu ile etraf stroma arasında lenfositik infiltrasyonun varlığı iyi prognoz göstergesi olarak kabul edildiğinden, biz de bu çalışmada bu parametreyi araştırmayı amaçladık; ancak, p53 immünoreaktivitesi ile inflamatuvar yanıt arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamadık. Bu konuyu araştıran, tartışmamızda karşılaştırabileceğimiz bir yayın elde edilememiştir.

Perinöral invazyon ile p53 immünoreaktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Ancak bu sonucu karşılaştırıp tartışacağımız başka bir literatür bulunamamıştır.

Sonuç olarak; p53 immünreaktivitesi ile bilinen prognostik faktörler karşılaştırıldığında, sadece damar invazyonu ve perinöral invazyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Literatürde bizim çalışmamızla uyumlu sonuçlar olduğu gibi grade ve mikroskobik kansinom tipi ile bizimkinden farklı olarak anlamlı ilişki bulunamaz. Farklı prognostik faktörlere sahip olguların eşit sayıda olmadığı serimizin sadece 45 olgu-

dan oluşmasının, elde ettiğimiz sonuçları etkilediğini düşünmekteyiz. p53'ün bir prognostik faktör olarak rutin kullanılabilmesi için yüksek kalitede teknik olanakların mevcut olduğu geniş serilerle çok sayıda çalışmalar yapmak gerektiği kanısındayız.

## KAYNAKLAR

1. **Hollstein M, Sidransky D, et al:** p53 mutations in human cancers. *Science* 253:49-53, 1991.
2. **Ioachim E, Goussia A, Steffanov D and Agrantis NJ:** Expression of p53 protein in gastrik cancer. An immunohistochemical study with correlation to proliferative activity. *Anticancer Research* 17:513-517, 1997.
3. **Lane Dp.,** "A death in the life of p53" *Nature* 362:786-7, 1993.
4. **Matturri L, Biondo B, et al:** Prognostic Significance of different biological markers in 126 adenocarcinoma gastric biopsies. *Anticancer Research* 18:2819-2826, 1998.
5. **Toshikatsu seta MD, et al:** Expression of p53 and p21 WAF1/CIP1 proteins in gastric and esophageal cancers comprisson proteins in gastric with mutations of the p53 gene. *Digestive Diseases and sciences*, V.D.43 No2 February 1998 pp:279-289.
6. **Monig SP, Eidt S, et al:** p53 expression in gastrik cancer clinico pathological correlation and prognostik significance. *Digestive Diseases and Sciences*, 42(12):2463-2467, 1997.
7. **Haru Sasaki, Takashi Yao et al:** Minute gastrik carcinoma of diferantiated type with special reference to the significance of intestinal metaplasia, proliferative zone and p53 protein during tümör development. *Cancer* 85:8, 1999.
8. **Sakaguchi et al:** Prognostic value of cyclin E and p53 expression in gastrik carcinoma. *Cancer* 82:7, 1998.
9. **Ohtani et al:** İmpact of the expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p27 Kip 1 and apoptosis in tümör cells on the overall survival of with non early stage gastrik carcinoma.
10. **Romiti A, Monetti A, et al:** analysis of p53 expression in pre cancerous and malignant gastrik mucosa. *Oncol Rep* 5(11):209-13, 1998.
11. **Villaseca MA, Roa I, Araya JC, Flores P:** Double immunostaining for p53 and molecular chaperone hsp 72/73 in gastrik carcinoma *Mol. Path* 50(6):317-21, 1997.
12. **Kim KM, Lee A, et al:** Expression of p53 and ndf -k/nm 23 in gastrik carsinomas association with metastasis and clinico pathologic parameter *Jkorean Med Sci* 10(6):406-13, 1995.
13. **Lee WJ, Shun CT, Hong RL, et al:** Overexpression of p53 predicts shorter survival in diffuse type gastrik cancer. *Br J Surg* 85(8):1138-42, 1998.
14. **Gabbert HE, Muller W, et al:** The relation ship of p53 expression to the prognosis of 418 patients with gastrik carcinoma. *Cancer* 76(5):720-6, 1995.
15. **Kastelan M, Rudolf M, et al:** Lymphocyte reaktivite to mitogens and tumor sex steroidreceptors in breast cancer paients. *Biomedicine and pharmacotherapy* 39:442-41, 1995.
16. **Sarma KP:** The role of lymphoid reaction in bladder cancer. *J Vrd* 104:843-849, 1970.
17. **Shun CT, Wu MS, et al:** Relationship of p53 and c-erbB-2 expression to histopathological features, Helicobacter Pylori infection and prognosis in gastrik cancer *hepatogastro enterology* 44(14):604, 1997.