

# Prostat kanserinde insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 ekspresyonunun patolojik evre ve prognoz açısından öngörü değeri

İ. Orkunt AYAZ (\*), Mustafa ÖZYÜREK (\*\*), Asif YILDIRIM (\*\*\*), Levent TÜRKERİ (\*\*\*\*)

## ÖZET

Organa sınırlı tümörlerin preoperatif saptanabilmesi için çeşitli prognostik göstergeler ortaya atılmıştır. Bunlar içinde en sık kabul göreni Partin ve ark. tarafından bildirilen preoperatif serum PSA düzeyi, klinik evre ve Gleason skorudur. Ancak, bu sistemde bile progresyonu öngörmeye oluşan başarısızlıklar nedeniyle prognozu öngörmeye yeni alternatiflere ihtiyaç duyulmaktadır.

Normal prostat hücrelerinin habis transformasyonuna neden olan faktörler arasında peptid büyüme faktörleri de sayılmaktadır. Bunlar arasında en önemlilerinden biri de insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF)'dir. IGF ailesinde IGF-1 ve-2 olmak üzere iki hormon bulunmaktadır. IGF-1 insan prostat hücreleri için mitojendir. Aktivitesi IGF-bağlayıcı proteinlerle (IGFBP) düzenlenir. IGF'nin prostat üzerindeki etkisini etkileyen ise IGFBP-3'tür. IGFBP-3, IGF-1'in indüklediği prostat hücre proliferasyonunu inhibe eder.

Bu çalışmada IGFBP-3'ün dokuda ekspresyon düzeylerinin klinik olarak organa sınırlı prostat kanserinde patolojik evre ve prognoz ile olan ilişkisi araştırıldı. Bu amaçla, lokalize prostat kanseri tanısı konulup radikal prostatektomi operasyonu gerçekleştirilen toplam 38 hastanın cerrahi doku örnekleri alınarak IGFBP-3 ekspresyonu dokularda immünohistokimyasal olarak araştırıldı. İmmünohistokimyasal çalışma sonucunda, tümör dokularında IGFBP-3 ekspresyonunun azaldığı, BPH hastalarından alınan dokularda ise arttığı görüldü. IGFBP-3 boyaması tüm tümör dokularında azalmış olarak bulundu.

Sonuç olarak, IGFBP-3'ün prostat kanseri gelişiminde önemli rolünün olabileceği, ancak immünohistokimya ile doku ekspresyonu düzeylerinin saptanmasının patolojik evre ve prognozu öngörmeye mevcut yöntemlere ek bir fayda sağlamadığı saptandı.

**Anahtar kelimeler:** Prostat kanseri, IGFBP-3, prognoz

## SUMMARY

**Predictive value of insulin like growth factor binding protein-3 expression in relation with pathologic stage and prognosis in prostatic carcinoma**

There are some prognostic factors for the pre-operative prediction of organ confined prostatic carcinoma. The mostly accepted ones include preoperative blood PSA level, clinical stage and Gleason score. But, the predictive values of these factors are not very effective. So, we need more efficient prognostic factors. One of the most important factor to be investigated is the insulin like growth factor (IGF).

There are two peptide hormones in IGF family: IGF-1 and IGF-2. IGF-1 is mitogen for human prostate cells. Its activity is regulated by IGF-binding proteins (IGFBP). IGFBP-3 is the most effective one which regulates prostatic activity.

In this study, we investigated the expression of IGFBP-3 in prostatic cancer specimens, and its relation to pathological stage and prognosis. For this purpose, 38 patients which were diagnosed as localized prostate cancer and underwent radical prostatectomy were investigated. Tissue samples of radical prostatectomy specimens were examined by immunohistochemistry for detection of IGFBP-3 expression. As a result of immunohistochemical study IGFBP-3 expression was decreased in the tumoral tissues whereas increased in BPH tissues. Expression also decreased in the BPH tissues closer to the tumoral areas and increased in BPH tissues away from the tumoral area.

As a conclusion, we found that IGFBP-3 may have an important role in the development of prostate cancer. But, examining the tissue expression by immunohistochemistry do not give any additional benefit to existing methods for prediction of pathological stage and prognosis.

**Key words:** Prostate cancer, IGFBP-3, prognosis

Prostat kanserinin doğal seyirindeki çeşitlilik, hangi aşamada progresyon göstereceğini öngörmenin mümkün olmaması ve tedavi seçeneklerinin etkisini gösterecek

randomize çalışma sayısındaki yetersizlik gibi etmenler klinik olarak lokalize prostat kanseri tedavisinde herkesin fikir birliğine vardığı bir tedavi yaklaşımını engelle-

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Uz. Dr.\*; Ergün Özalp Araştırma Laboratuvarı, Biyoteknoloji Uzmanı\*\*, SSK Göztepe Eğitim Hastanesi, Üroloji Kliniği, Uz. Dr.\*\*\*; Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Prof. Dr.\*\*\*\*

miştir (1).

Prostat kanserinde prognostik faktörler klinik ve patolojik olarak ikiye ayrılır (2). Klinik prognostik faktörler klinik evreleme (*parmakla rektal muayene, PRM*), TRUS-biyopsi Gleason skoru ve tanıdaki serum PSA düzeyidir. Patolojik prognostik faktörler içinde en önemlileri seminal vezikül invazyonu, lenf nodu invazyonu ve kapsül dışına yayılımdır (2). Bunların yanında ikincil öneme sahip patolojik özellikler ise nükleer şekil, pozitif biyopsi sayısı, PIN (*prostatik intraepitelial neoplazi*)’deki volüm, perinöral invazyon, tümör volümü, ploidi ve kromozomal aberasyonlardır (3).

PSA, klinik evre ve biyopsi Gleason skorunun tek tek kullanımı yerine ortak kullanımının preoperatif olarak son patolojiyi öngörmeye önemli faktörler oldukları bilinmektedir. Partin ve ark.’nın radikal prostatektomi yapılmış lokalize tümürlü 4133 hasta üzerinde yaptıkları çalışma, PSA, TNM, klinik evre ve Gleason skorunun birarada değerlendirilmesinin kapsül dışına uzanımı belirlemede en yüksek başarıyı sağladığını göstermiştir(4). Serum PSA düzeyi ve prostat kanseri patolojik evresi arasındaki ilişki pek çok çalışmada incelenerek, PSA düzeyi arttıkça patolojik evrenin de arttığı gösterilmiştir. Ancak, hasta bazında değerlendirildiğinde PSA’nın tek başına yeterli bir öngörüye sahip olmadığı bilinmektedir (5). Diğer prognostik faktörlerden biri olan TRUS eşliğinde prostat biyopsi Gleason skoru, son patolojiyi kuvvetle tahmin edebilmektedir. Gleason skoru 2-4 arasında olanlarda % 77 oranında organa sınırlı hastalık, 8-10 arasında olanlarda ise % 87 oranında kapsül dışına yayılım görülmektedir. Ancak, hastaların % 75’i Gleason 5-7 arasında bulunmakta ve bu değerlerde öngörü yapmak zorlaşmaktadır (6). Bunun yanında dikkatli yapılan PRM, T3a ve üzeri hastalarda kapsül dışına yayılımı öngörmeye en güvenilir yöntemdir(7). PRM’nin öngörü değeri T1c hastalarda sınırlıdır. Geniş serilerle yapılan çalışmalarda PRM’nin tanı oranlarının % 0.8 ve 1.4 arasında olduğu görülmektedir (8).

Tüm bu gelişmelere karşın hastalığın kapsül dışı yayılımı ve prognozu belirlemede % 100 etkili bir yöntem henüz saptanamamıştır. Bu nedenle, organa sınırlı hastalık tanısı ile radikal cerrahi girişimi uygulanan hastaların önemli bir bölümünde doku örneklerinin patolojik incelemesinde kapsül dışı hastalık saptanmakta ve bu hastalıkta yüksek oranlarda nüks görülmektedir. Tedavinin planlanması ve hastalığın seyrini öngörmeye

ortaya çıkan bu eksiklikleri gidermek için, öncelikle moleküler biyolojideki gelişmelere paralel olarak yeni prognostik faktörler öne sürülmektedir. Prostatik onkogeneizde önemli bir rolü olduğu düşünülen IGF’ler ve bunların fonksiyonunu düzenleyen IGFBP’ler prognostik açıdan önemli olabilecek yeni faktörlerdir.

Bu çalışmanın amacı, IGF’ler içinde prostatik onkogeneizde en önemli role sahip olduğu düşünülen IGF-1’in fonksiyonlarını düzenleyen IGFBP-3’ün prostat kanseri dokusunda ekspresyonunun kapsül dışı yayılım ve prognozu öngörmeye bir faydası olup olmadığını araştırmaktır.

## MATERYAL ve METOD

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji Anabilim Dalı’na başvurarak lokalize prostat kanseri tanısı konularak radikal prostatektomi operasyonu gerçekleştirilen 38 hasta bu çalışma kapsamına alındı. Bu hastalara ait arşiv dosyaları, patoloji raporları, tümör izlem kayıtları incelenerek, klinik veriler elde edildi. Tümörlerin evrelendirilmesi 1997 Amerikan Joint Committee on Cancer/International Union Against Cancer TNM sınıflandırma sistemine göre yapıldı (9). Kontrol grubu olarak, alt üriner sistem semptomları nedeniyle değerlendirilip BPH’ya bağlı obstrüksiyon nedeniyle opere edilen 10 hastanın cerrahi doku örnekleri kullanıldı.

Radikal prostatektomi doku örneklerinden elde edilen materyaller nötral tamponlu % 10 formaldehid içinde fikse edildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Bu bloklardan immünohistokimyasal ve histolojik çalışma için kesitler hazırlandı. Her bloktan ikişer kesit hazırlanarak bir kesit hematosilen ile boyanarak histolojik değerlendirme yapıldı. Diğer kesitle ise immünohistokimyasal çalışma gerçekleştirilerek insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 doku ekspresyon düzeyi araştırıldı. BPH nedeniyle opere edilen toplam 10 hastanın TUR-prostatektomi doku örneklerinden hazırlanan kesitlere de aynı işlemler yapıldı.

İmmünohistokimyasal inceleme sonuçları aşağıdaki boyanma kriterlerine göre değerlendirildi:

- Hiç boyanma yok
- 1 pozitif (+)-Zayıf boyanma
- 2 pozitif (+)-Orta derecede boyanma
- 3 pozitif (+)-Şiddetli(kuvvetli) boyanma

Ardından 0 ve 1 (+) olarak değerlendirilenler (*IGFBP-3 düzeyi düşük olanlar*) grup 1; 2 (+) ile 3 (+) olarak değerlendirilenler (*IGFBP-3 düzeyi yüksek olanlar*) ise grup 2 olarak sınıflandırıldı. Grup 1 ve Grup 2 içindeki hastaların kapsül dışına yayılım ve rekürrens oranları karşılaştırıldı. Rekürrens, hem biyokimyasal ( $PSA \geq 0.2$  ng/ml) rekürrens hem de klinik rekürrens (*lokal ya da metastatik tümör varlığı*) olarak bir arada değerlendirildi.

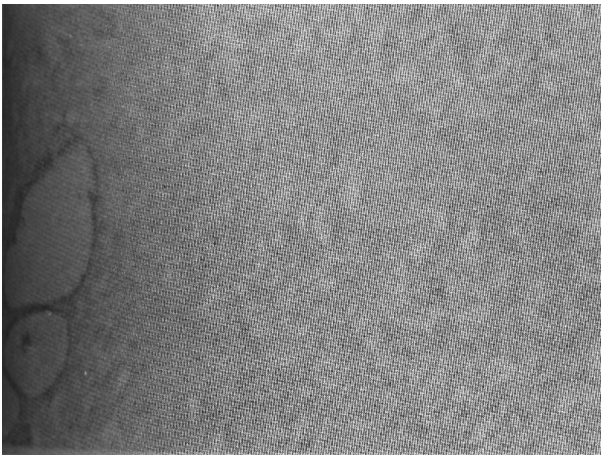
Gruplar arası farklılıklar “comparison of proportions” testi kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen p değerinin 0.05’den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmaya yaşları 45 ile 76 yıl arasında değişen (ort. 64.4) toplam 38 erkek hasta dahil edildi. İzlem süreleri ortalama 23.7 aydı (3-108). Bu hastaların ortalama pre-operatif PSA değerleri 10.8 ng/dl (1.44-33), median Gleason skorları ise 6 (2-9) şeklinde bulundu. Radikal prostatektomi doku örnekleri incelendiğinde, 18 hastada (% 47.3) kapsül dışına yayılım tespit edilirken 7 (% 18.4) hastada ise rekürrens saptandı.

Birinci gruptaki (Grup 1) 23 hastanın 11'inde (% 47.8) kapsül dışına yayılım ve 3'ünde rekürrens (% 13.04) görüldü. İkinci gruptaki (Grup 2) 15 hastanın 7'sinde (% 46.6) kapsül dışına yayılım ve 4'ünde rekürrens (% 26.6) görüldü. Her iki grupta da genel olarak tümör dokularının, aynı doku örneklerindeki BPH alanlarına oranla daha düşük IGFBP-3 ekspresyonu gösterdiği saptandı (Resim 1, 2, 3, 4). Sadece 5 hastada (% 13.5) tümör alanları BPH alanlarından daha şiddetli ve 6 hastada ise (% 15.7) her iki alanda eşit derecede ekspresyon vardı. Tümör dokusuna yakın BPH alanlarındaki ekspresyon tümöre uzak alanlara oranla çok daha düşük saptandı. Prostat kanserli ve BPH'lı dokularda daha çok epitel boyanırken, stromanın da epitele oranla daha düşük seviyede olmakla birlikte, IGFBP-3 ekspresyonu gösterdiği saptandı.

BPH tanısı alan hastaların doku örnekleri incelendiğinde, hepsinde de 3(+) şiddette boyanma saptandı (Resim 5, 6). Stromanın da genelde BPH alanlarındaki boyanmaya eş veya biraz daha az ekspresyon gösterdiği saptandı.



Resim 1. IGFBP-3 ekspresyonunun azaldığı kanserli alan ve yanında selim kistik bezler (x 40).

Grup1 ve 2'deki hastalar karşılaştırıldığında kapsül dışına yayılım ve rekürrens açısından aralarında belirgin bir farklılık saptanamadı (Tablo 1).

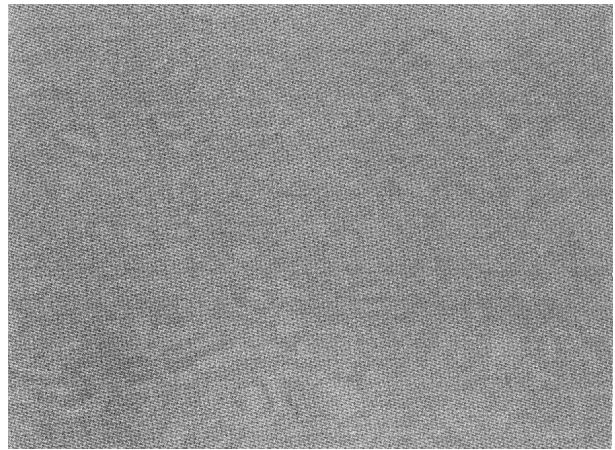
## TARTIŞMA

Literatürde IGF'lerin hücrelerin normal büyüme ve gelişmesi üzerinde düzenleyici rollerinin yanında, habis tümörlerin oluşmasında da etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Pek çok tümör hücresi IGF-1, IGF-2 ve IGF reseptörleri ile IGFBP üretebilecek moleküler mekanizmaya sahiptir. Meme kanseri, rabdomiyosarkom, osteosarkom ve Willm's tümörü gibi bazı tümörlerde IGF sisteminde bir aksama olduğu bilinmektedir <sup>(10)</sup>.

IGF sistemi pek çok dokuda olduğu gibi prostat epitel hücreleri üzerinde de etkilidir <sup>(11)</sup>. Cohen ve ark. primer

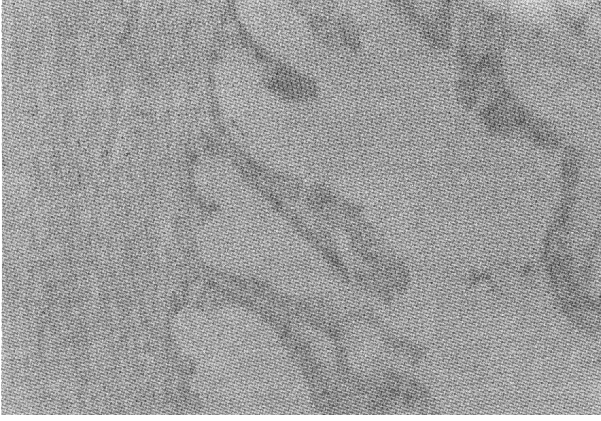


Resim 2. IGFBP-3 ekspresyonunun azaldığı kanserli alan ve yanında ekspresyonun arttığı BPH alanları (x100).

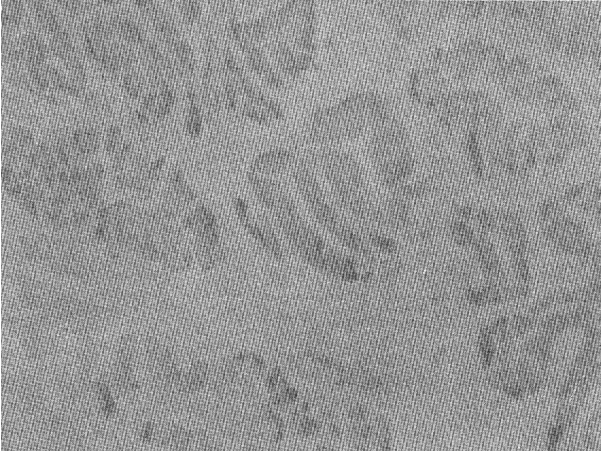


Resim 3. IGFBP-3 ekspresyonunun azaldığı kanserli alan ve yanında ekspresyonunun arttığı BPH alanları (x40).

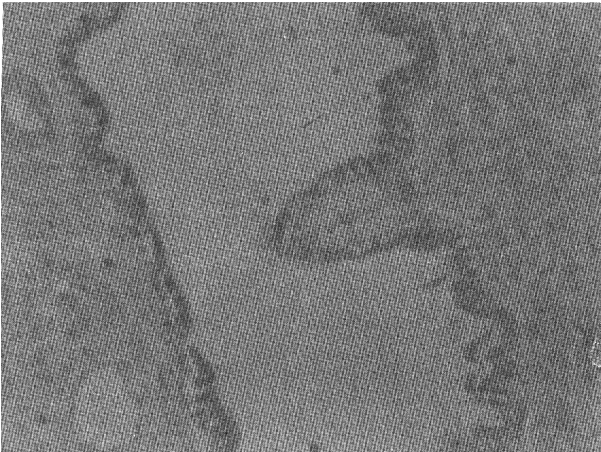




Resim 4. IGFBP-3 ekspresyonunun azaldığı kanserli alan ve yanında ekspresyonun arttığı BPH alanları (x40).



Resim 5. IGFBP-3 ekspresyonunun arttığı BPH alanları (x100).



Resim 6. IGFBP-3 ekspresyonunun arttığı BPH alanları (x100).

kültür ortamında prostat epitel hücrelerinin gelişimleri için (daha çok IGF-1 olmak üzere) IGF-1 ve IGF-2'ye ihtiyaç duyduklarını ve bu hücrelerin tip 1 IGF resep-

Tablo 1. Grup 1 ve 2'nin kapsül dışına yayılım ve rekürrens ile arasındaki istatistiksel ilişki.

Gruplar	p değeri	% 95 güven aralığı	p değeri	% 95 güven aralığı
Grup1/Grup 2	0.795	-0.313-0.337	0.529	-0.388-0.110

törü barındırdıklarını göstermişlerdir (10). IGF-1 ve 2 etkilerini dokudaki IGF reseptörleri yoluyla göstermekle birlikte, bu sistemin etkisi IGFBP'ler ile düzenlenmektedir. Boudan ve ark., prostat dokularının IGFBP-2-3-4-5'i salgıladığını gösterdiler (12). Bu çalışmada, epitel hücrelerin IGFBP-2-3-4, stromal hücrelerin ise IGFBP-2-3-4-5 salgıladıkları saptanmıştır.

Daha önce de belirtildiği gibi, IGFBP'ler IGF'in proliferatif ve mitojenik etkilerini modüle etmekte, ancak IGFBP ile IGF arasındaki moleküler mekanizma halen tam olarak açıklanamamaktadır. Bugüne kadar IGFBP ile prostat kanseri arasındaki ilişkiyi inceleyen çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Playmate ve ark., normal prostat epitel hücrelerinin habis transformasyonunun, IGF-1'e verdikleri yanıtın IGFBP düzeyindeki değişikliklere bağlı olarak değişmesi ile geliştiğini göstermişlerdir (11). Literatür incelendiğinde, doku düzeyinde yapılan çalışmalarda genelde prostat kanseri hücrelerinde IGFBP-3 düzeyinin düştüğü görülmektedir (11,13,14). Prostat kanserli hastaların serumlarında yapılan çalışmalarda ise, IGF-1 ve IGFBP-3 düzeylerinin prostat kanseri ile ilişkisi konusunda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Ancak, IGF-1 ve IGFBP-3 prostat dışında pek çok hücre grubu tarafından üretilip sirkülasyona karıştığı için, serum düzeylerinin incelenmesi prostata özgü bilgi vermeyebilir. Bu nedenle de, bu faktörleri doku düzeyinde incelemek daha anlamlıdır.

IGFBP-3 doku ekspresyonunun araştırıldığı immünohistokimyasal çalışmamızda, Ori, Kenety ve Tennen'in çalışmalarında elde edilen sonuçlara benzer şekilde, IGFBP-3 prostat kanserli dokularda azalırken BPH'da arttığı saptandı.

Günümüz bilgileri ışığında ve bu çalışmada elde edilen verilerde, IGF/IGFBP-3 sisteminin prostat dokusunun selim yapıdan habis yapıya geçişinde etkisi olduğunu söylemek mümkündür. Ancak, IGFBP-3'ün habis transformasyona nasıl neden olduğunu hala tam olarak aydınlatılamamıştır ve henüz IGFBP-3 düzeylerini prognostik bir gösterge olarak kullanmak mümkün görünmemektedir.

Bu çalışma sonuçları, kanser dokusunda BPH'ya oranla daha düşük IGFBP-3 bulunduğunu göstermiştir. Prostat kanserinde IGFBP-3 ekspresyonun araştırıldığı bu immünohistokimyasal çalışmada şu sonuçlar elde edildi:

- IGFBP-3'ün prostat kanseri patogeneğinde rolü vardır.
- IGFBP-3 düzeyi prostat kanserinde azalmaktadır.
- IGFBP-3'ün prostat kanserinde patolojik evre ve prognozu öngörmede rolü yoktur.

## KAYNAKLAR

1. **Gilliland FD, Hoffman RM, Hamilton A, et al:** Predicting extracapsular extension of prostate cancer in men treated with radical prostatectomy: Results from the population based prostate cancer outcomes study. *Journal of Urology* 162:1341-1345, 1999.
2. **Eastham JA, Scardino PT:** Radical prostatectomy. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ (eds): *Campbell's Urology*, ed 7. Philadelphia: WB Saunders, pp. 2547-64, 1998.
3. **Altwein JE, Lubolt HS:** Prognostic factors for carcinoma of prostate. *Urologia internationalis* 63:62-71, 1999.
4. **Partin AW, Katton MW, Suborg ENP, et al:** Combination of prostate specific antigen, clinical stage and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer: A multi-institutional update. *JAMA* 277:1445-50, 1997.
5. **Ellis WJ, Brawer MK:** Management decisions in the patient with an elevated PSA. *AUA Update Series*. Lesson 34, Volume 12, 1993.
6. **Partin AW, Yoo J, Walsh PC:** The use of PSA, clinical stage and Gleason score to predict pathological stage in men with localized prostate cancer. *Journal of Urology* 150:110-114, 1993.

7. **James A, Scardino PT:** Radical prostatectomy. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ (eds): *Campbell's Urology*, ed 7. Philadelphia: WB Saunders, pp. 2547-64, 1998.
8. **Lilja H, Pireman T, et al:** Value of molecular forms of PSA and related kallikrein, hK2 in diagnosis and staging of prostate cancer. In: Vogelzang NJ, Scardino PT, Shipley WU, Coffey DS. (eds): *Comprehensive Textbook of Genitourinary Oncology*, ed 2. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, pp:638-650, 2000.
9. **Montie JE:** Staging systems for prostate cancer. In: Vogelzang NJ, Scardino PT, Shipley WU, Coffey DS. (eds): *Comprehensive Textbook of Genitourinary Oncology*, ed 2. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, pp:673-79, 2000.
10. **Cohen P, Graves CBH, Peehl DM, et al:** Prostate Sprsific Antigen is an insulin-like growth factor binding protein-3 protease found in seminal plasma. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 175(1):1046-52, 1992.
11. **Trushar B, Tevand BK, Honsberg KL, et al:** Immunohistochemical localization of insulin like growth factor binding protein 2 and 3 in prostate tissue: Clinical correlations. *Journal of Urology* 155:999-1003, 1996.
12. **Boudon C, Rodier G, Lechevallie E, et al:** Secretion of insulin like growth factors and their binding proteins by human normal and hyperplastic prostatic cells in primary culture. *J of Clinical Endocrinology and Metabolism* 81(2):612-17, 1996.
13. **Tennant MK, Thrasher JB, Twomey PA, et al:** Insuline like growth factor binding protein-2 and -3 expression in benign human prostate epithelium, prostate intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma of the prostate. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabilism* 81(1):411-420, 1996.
14. **Kannety H, Madjar Y, et al:** Serum insulin like growth factor binding protein 2 is increased and insulin like growth factor binding protein 3 is decreased in patients with prostate cancer: Correlation with serum prostate spesific antigen. *J of Clinical Endocrinology and Metabolism* 77(1):229-231, 1993.