

GESTASYONEL TROFOBLASTİK HASTALIKLARDA AgNOR YÖNTEMİNİN PROGNOZDAKİ ÖNEMİ VE BAZI KLİNİK PARAMETRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI

Pembe OLTULU*, Kazım GEZGİNÇ**, Osman YILMAZ*, Çetin ÇELİK**

* Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

** Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kadın Hast ve Doğum Anabilim Dalı

ÖZET

Hücre proliferasyon belirtici olan AgNOR'un (Argyrophilic Nucleolar Organiser Resion), GTH (Gestasyonel Trofoblastik Hastalık)'ların persistans kabiliyetini önceden belirleyen prognostik bir parametre olarak kullanılır olup olmayacağıın β -hCG düzeyleri ile AgNOR değerleri arasındaki korelasyonun araştırılması amaçlandı. Kliniğimizde 1997-2003 tarihleri arasında tanı alan, 14 Term plasenta ve 14 spontan abortus vakasından oluşan kontrol grubu ile 18 komplet hidatiform mol, 15 parsiyel hidatiform mol ve 15 persiste hidatiform vakasından oluşan GTH grubu çalışma kapsamına dahil edildi ve her birine AgNOR yöntemi uygulandı. Değerlendirme $\times 1000$ büyütmede immersiyon yardımıyla ışık mikroskobu altında Crocker'in önerdiği sayım sistemi kullanılarak hücre başına düşen AgNOR sayıları belirlendi. Çalışmada en yüksek AgNOR ortalamaları persiste mol grubunda en düşük ortalamalar ise plasenta grubunda saptandı. GTH gruplarının AgNOR ortalamaları kontrol gruplarından daha fazlaydı ($p < 0,05$). Persiste mol vakalarının AgNOR ortalamaları komplet hidatiformdan daha fazla bulundu ($p < 0,05$). Ancak komplet ve parsiyel mol vakalarının AgNOR ortalamaları arasında fark yoktu ($p > 0,05$). Vakaların serum β -hCG seviyeleri ile AgNOR ortalamaları arasında anlamlı korelasyon bulunmazken, AgNOR ortalamaları arttıkça serum β -hCG seviyelerinin normale inme sürelerinin uzadığı görüldü. AgNOR yöntemi GTH'larda persistans kabiliyeti ve prognozu belirlemede, klinik açıdan önemli bir parametre olan β -hCG seviyelerinin yükselmesinden daha önce bilgi verebilecek ekonomik ve kullanımı kolay bir yöntemdir.

Anahtar kelimeler: AgNOR, gestasyonel trofoblastik hastalık, β -hCG

SUMMARY

The importance of AgNOR method in the prognosis and comparison with some clinic parameters in gestational trophoblastic disease

To investigate AgNOR method which is an cell proliferation marker is studied as AgNOR can be a parameter of defining gestational trophoblastic disease persistancy by studying the correlation between β -hCG and AgNOR levels. In this study, as control group; 14 term plasenta, 14 spontaneous abortus and as GTD group; 15 partial hydatiform mole, 18 complete hydatiform mole and 15 persistent hydatiform mole cases are included which were diagnosed between 1997-2003 in our clinic. The AgNOR method is applied to all patients. The evaluation of materials are done on light microscope. Counting systems proposed for AgNOR by crocker were used. In the study, the highest level of AgNOR average were detected in persistent mole group. The least average were detected in the placenta group. The AgNOR averages of the GTD cases were higher than the AgNOR averages of the control cases ($p < 0.05$). The AgNOR averages of the persistent mole cases were found higher than complete mole cases ($p < 0.05$). But no difference were detected between the AgNOR averages of the complete and partial mole cases ($p > 0.05$). We couldnt detect any correlation between the serum β -hCG levels and the AgNOR averages, on the other hand if the AgNOR averages were increasing, the period to decrease normal levels of β -hCG levels was found to be prolonged.

The defining of AgNOR method in ability and persistancy of gestational trophoblastic disease is more economic and easier than β -hCG levels which is an important parameters gestational trophoblastic disease.

Key words: AgNOR, gestational trophoblastic disease, β -hCG

Yazışma adresi: Kazım GEZGİNÇ, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, 42080 / KONYA
Cep Tel: 0532 270 79 79 / Fax: (0332) 223 61 84
e-posta: kazimgezginc@hotmail.com

Alındığı tarih: 10.4.2006, revizyon istem tarihi: 19.7.06, kabul tarihi: 21.7.2006

GİRİŞ

Gestasyonel trofoblastik hastalıklar (GTH) anormal gametogenez sonucu meydana gelen trofoblast proliferasyonunun görüldüğü heterojen bir grup hastalıktır. Bu grubun benign ucunda hidatiform moller bulunurken malign olan ucunda malign karakterli plasental site trofoblastik tümör (PSTT) ve koryokarsinomlar yer alır. Hidatiform mollerin persiste olabilmesi; molar gebelik, term doğum, abortus veya ektopik gebelik sonrası koryokarsinom gelişebilmesi bu konuyu daima gündemde tutmuş ve birçok çalışmaya zemin oluşturmuştur. Günümüzde, mollerin persiste olup olmayacağı, gebeliklerden sonra koryokarsinom gelişip gelişmeyeceğinin önceden tespitinde tahmini kolaylaştırıcı bazı kriterler bulunsa da rutinde kullanılabilirliği olan güvenilir bir yöntem henüz mevcut değildir^(1,2).

Proliferasyon belirteci olan AgNOR sayım yöntemi, proliferasyon hızına ilişkin güvenilir bilgi sağlayan ekonomik ve kullanımı kolay bir metottur^(3,4). Bu çalışmada hücre proliferasyon belirteci olan AgNOR'un, GTH (Gestasyonel Trofoblastik Hastalık)'ların persistans kabiliyetini önceden belirleyen prognostik bir parametre olarak kullanılır olup olmayacağının ve β -hCG düzeyleri ile AgNOR değerleri arasındaki korelasyonun araştırılması amaçlandı.

MATERYAL METOD

Bu çalışmada Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda 1997-2003 yılları arasında tanı almış olan 76 adet vaka incelemeye alındı. 1. grupta kontrol grubu olarak 28 vaka [term plasenta (14), spontan abortus (14)], 2. grupta Gestasyonel trofoblastikli hasta (GTH) grubu olarak 48 vaka [komplet mol hidatiform (18), parsiyel hidatiform mol (15) ve persiste hidatiform mol (15)] incelemeye alındı. Tüm gruplara ait preparatlar %10'luk formaldehit solüsyonu ile tespit edilip rutin yöntemlerle hazırlanarak retrospektif olarak gözden geçirildi ve uygun alanların bulunduğu preparatlara ait bloklar çalışma kapsamına dahil edildi. Vakaların yaş, gebelik haftası, tanı anındaki β -hCG seviyeleri, gebelik sayısı, doğum sayısı, serum β -hCG düzeyinin tedavi sonrası normale inme süresi (hafta) gibi klinik bilgiler hasta dosyalarından temin edildi.

Seçilmiş olan parafin blokların her birinden AgNOR boyaması yapmak üzere ikişer adet 4 μ m'luk kesitler hazırlandı. Çalışmamızda AgNOR boya yöntemi olarak Crocker ve arkadaşlarının önerdiği yöntem esas alındı (57). Bu yöntemle göre;

AgNOR çalışma çözeltisi:

I . AgNO ₃	10 gr.
Bidistile su	20 ml.
II. Jelatin	0.2 gr.
Bidistile su	10 ml.
Derişik formik asit	0.1 ml.

Boyama işlemi

- 1 Parafin bloklardan hazırlanan 4 μ m'luk kesitler bir gece etüvde ksilol içinde bekletilerek deparafinize edildikten sonra ertesi gün 20 dakika % 96'lık alkolde bekletilerek dehidrate edilip deiyonize (distile) su ile yıkandı.
- 2 Kesitler etüvde kurutuldu, I ve II no'lu çözeltiler karanlık ortamda karıştırılarak AgNOR çalışma çözeltisi elde edildi. Çözelti taze olarak kullanıldı. Çözeltinin kesitin her noktasına eşit dağılımını sağlamak amacıyla boyama işlemi 100 ml'lik şaleler içerisinde, karanlık ortamda ve oda sıcaklığında yapıldı.
- 3 Boyama süresi (ortalama 45 dakika) intranükleer beneklerin net olarak sayılması esas alınarak (bal rengi zemin, kahverengi benekler) preparatın mikroskopik kontrolü sonucunda belirlendi. Buna göre bu süre 60 ile 180 dakika arasında değişti.
- 4 Boyama işlemi sonrasında artefaktları azaltmak amacıyla deiyonize suda iyice yıkanıp %5'lik tiyosülfattan geçirildi ve tekrar deiyonize suda çalkalandı.
- 5 Son olarak ksilol ile temizlenip entellan ile kapatıldı.
- 6 Değerlendirme işlemi x1000 büyütme ile immersiyon yardımıyla ışık mikroskopunda yapıldı. Tüm vakalarda özellikle sinsityotroblastik hücrelerin proliferasyonunun görüldüğü alanlar seçildi. Nekrotik görünümlü hücreler çalışmanın doğruluğunu olumsuz etkileyeceği düşünülerek sayıma dahil edilmedi. Her bir vakada uygun görülen alanlardaki tesadüfen seçilmiş 100 sinsityotroblastik hücrenin nükleusunda Crocker'in önerdiği sayım sistemi kullanıldı⁽⁵⁷⁾.

Bunun için nükleus ve nükleolus içindeki koyu kahverengi ve siyah görülen tüm benekler sayıldı. Çıkan sonuç 100'e bölünerek hücre başına düşen AgNOR sayıları belirlendi. Sayım işlemi bittikten sonra sonuçların istatistiksel değerlendirmesi yapıldı. Sonuçların istatistiksel değerlendirmesi için SPSS for Windows 10.0 programı kullanılarak yapıldı. Tüm verilerin ortalama ve standart sapma değerleri belirlendi. Bağımsız grupların karşılaştırılmasında gruplar normal dağılım gösteriyorsa T-Testi, göstermiyorsa Mann-Whitney U testi kullanıldı. İki deneme fazla bağımsız örnekleme ortalamasının karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi ve ANOVA testi yapıldı. Veriler arasındaki bağlantılar, korelasyon katsayılarının hesaplanması ile bulundu. İstatistiksel olarak anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Gestasyonel trofoblastik hastalık vakaları değerlendirildiğinde 20 yaş altı gebelik 8 (%16,6) ve 35 yaş üstü gebelik 14 (%29,1) vaka olarak saptandı. 20 yaş altı gebeliklerin çoğu komplet hidatiform mol grubunda olup 4 vaka (%50), 35 yaş üstü gebeliklerin çoğu ise persiste hidatiform mol grubunda olup 8 vaka (%57,1) idi. Hastaların yaşları değerlendirildiğinde en düşük yaş 17 (parsiyel hidatiform molde, 1 kişi), en yüksek yaş 53 (persiste hidatiform molde, 1 kişi) olarak tespit edildi. Tüm vakaların toplam yaş ortalaması 29.5±8.7 idi. Gruplara göre yaş ortalamaları, term plasenta grubunda 27.2±5.2 (20-37), spontan abortus grubunda 30.5±8.3 (19-44), parsiyel hidatiform mol grubunda 27.8 ±8.6 (17-44), komplet hidatiform mol grubunda 26.8 ±6.8 (18-39), persiste hidatiform mol grubunda 35.4 ±11.5 (18-53) şeklinde dağılım göstermekteydi (Tablo I). Vakaların yaşları açısından gruplar kıyaslandığında; sadece komplet mol ve persiste mol grupları arasında farklılık tespit edildi (p=0,036). Buna göre persiste mol grubundaki hastaların yaş ortalaması komplet mol grubundan daha yüksek bulundu.

Tüm grupların gebelik haftası ortalaması 16.8±11.1 (4-42) idi. Gruplara göre gebelik haftası ortalamaları ise plasenta grubunda 38.6±1.6 (35-42), spontan abortus grubunda 11.3±3.7 (7-22), parsiyel hidatiform mol grubunda 11.4±4.3 (7-20), komplet hidatiform mol grubunda 12.6±4.5 (4-21), persiste hidatiform mol grubunda 11.9±4.2 (5-20) arasında değişmekteydi. Çalışmamızda 30 tane (%39,4) 1. trimester, 32 tane (%42,2) 2. trimester, 14 tane (%18,4) 3. trimester vakası vardı.

Parsiyel mol grubu hastalarının 9 tanesi 1. trimester (%60), 6 tanesi 2. trimester (%40), komplet mol grubu hastaların 7 tanesi 1. trimester (%38,7), 11 tanesi 2. trimester (%61,1), persiste mol grubu hastaların 7 tanesi 1. trimester (%46,6), 8 tanesi 2. trimesterde (%43,3) bulunmaktaydı. Plasenta grubu vakalarının tamamı 3. trimestere ait iken, abortus grubunun 7 tanesi 1. trimesterde (%50), 7 tanesinde 2. trimesterde (%50) bulunmaktaydı (Tablo I).

Çalışmamızda parsiyel mol, komplet mol, persiste mol

grupları arasında gebelik haftaları yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p=0,901, p=0,996, p=0,987).

Gruplardaki vakaların tümünün ortalama gebelik sayısı (gravida) 2,86±2,10 (1-12) idi. Vakaların gruplara göre gebelik sayısı ortalamaları plasenta grubunda 2,14±1,40 (1-5), spontan abortus grubunda 2,36±1,27 (1-5), parsiyel hidatiform mol grubunda 2,47±1,35 (1-5), komplet hidatiform mol grubunda 2,61±1,72 (1-6), persiste hidatiform mol grubunda 4,67±3,24 (1-12) şeklinde tespit edildi. Gruplar arasında gebelik sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p>0,05) (Tablo I). Çalışmamızdaki toplam 76 vakanın doğum sayısı ortalaması 1,82±1,79 (0-9) idi. Doğum sayıları plasenta grubunda 1,64±1,08 (1-4), spontan abortus grubunda 1,14±0,77 (0-2), parsiyel hidatiform mol grubunda 1,53±1,40 (0-4), komplet hidatiform mol grubunda 1,44±1,54 (0-5), persiste mol grubunda 3,33±2,74 (0-9) şeklinde tespit edildi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (p>0,05) (Tablo I).

Gestasyonel trofoblastik hastalık vakalarının tedavi öncesi serum β-hCG ortalaması 215.001±235899.5 mIU/ml olup, parsiyel hidatiform mol grubunda 61.000±44289.6 (25.000-200.000) mIU/ml, komplet hidatiform mol grubunda 278.011±234716.8 (13.829-73.100) mIU/ml, persiste hidatiform mol grubunda 293.392±284362.7 (16.000-844.428) mIU/ml olduğu görüldü. En düşük β-hCG düzeyi komplet hidatiform mol grubunda (13.829 mIU/ml) iken, en yüksek düzey persiste hidatiform mol grubundaydı (844.428 mIU/ml) (Tablo II).

Tablo II: Tedavi öncesi gruplardaki ortalama serum β-hCG düzeyleri

Gruplar (n)	Serum β-hCG düzeyleri (mIU/ml) (Ortalama±sd)
Parsiyel Mol (15)	61.000±44289.6 (25.000-200.000)
Komplet Mol (18)	278.011±234716.8 (13.829-731.000)
Persiste Mol (15)	293.392±284362.7 (16.000-844.428)
Toplam (48)	215.001±235899.5 (13.829-844.428)

Tüm gruplar β-hCG düzeyleri yönünden kıyaslandığında parsiyel mol grubunun, komplet mol ve persiste mol grupları ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü (p=0,012, p=0,012). Komplet ve persiste mol

Tablo I: Grupların yaş, gebelik haftası, gebelik sayısı, doğum sayısı ve AgNOR değerlerinin ortalaması.

Gruplar (n)	Plasenta (14)	Abortus (14)	Parsiyel mol(15)	Komplet Mol(18)	Persiste Mol (15)	Toplam (76)
Yaş (Ortalama±sd)	27.2±5.2 (20-37)	30.5±8.3 (19-44)	27.8±8.6 (17-44)	26.8±6.8 (18-39)	35.4±11.5 (18-53)	29.5±8.7 (17-53)
Gebelik haftası (Ortalama±sd)	38.6±1.6 (35-42)	11.3±3.7 (7-22)	11.4±4.3 (7-20)	12.6±4.5 (4-21)	11.9±4.2 (5-20)	16.8±11.1 (4-42)
Gebelik Sayısı (Ortalama±sd)	2.14±1.40 (1-5)	2.36±1.27 (1-5)	2.47±1.35 (1-5)	2.61±1.72 (1-6)	4.67±3.24 (1-12)	2.86±2.10 (1-12)
Doğum Sayısı (Ortalama±sd)	1.64±1.08 (1-4)	1.14±0.77 (0-2)	1.53±1.40 (0-4)	1.44±1.54 (0-5)	3.33±2.74 (0-12)	1.82±1.79 (0-12)
AgNOR Değerlerinin dağılımı (Ortalama±sd)	1.65±0.14 (1.32-1.93)	4.16±0.71 (3.10-5.74)	6.68±0.80 (5.29-8.19)	7.88±0.80 (6.30-9.30)	14.39±3.57 (10.16- 19.90)	7.09±4.55 (7.09-19.90)

grupları arasında ise bu fark bulunamadı ($p>0,05$). Persiste ve komplet mol vakalarının tedavi öncesi serum β -hCG düzeyleri parsiyel mol vakalarına kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptandı ($P<0,05$).

Tedavi sonrası serum β -hCG düzeylerinin normale iniş süresi ortalamalarının parsiyel hidatiform mol grubunda $1,4\pm 0,5$ (1-2) hafta, komplet hidatiform grubunda $2,8\pm 1,3$ (1-5) hafta, persiste hidatiform mol grubunda $4,7\pm 3,4$ (2-12) hafta olduğu tespit edildi. Serum β -hCG düzeylerinin normale iniş süresinin en uzun olduğu vaka persiste mol grubunda olup 12 hafta (2 vaka) idi. En düşük ortalamalar parsiyel mol grubunda gözlemlendi ($1,4\pm 0,5$) (Tablo III).

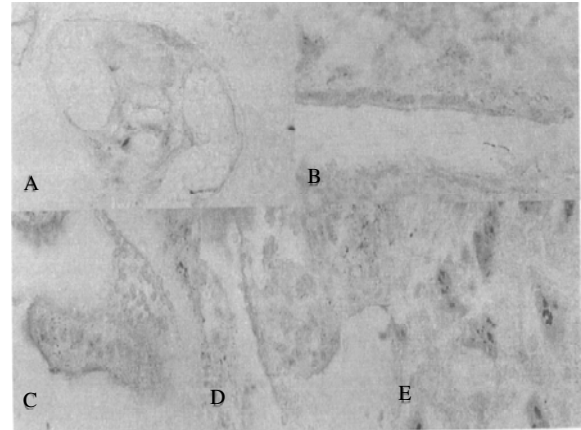
Tablo III: Tedavi sonrası gruplardaki serum β -hCG düzeylerinin ortalama normale iniş süreleri

Gruplar (n)	Süre (Hafta) (Ortalama \pm sd)
Parsiyel Mol (15)	$1,4\pm 0,5$ (1-2)
Komplet Mol (18)	$2,8\pm 1,3$ (1-5)
Persiste Mol (15)	$4,7\pm 3,4$ (2-12)
Toplam (48)	$2,9\pm 2,4$ (1-12)

Gestasyonel trofoblastik hastalık gruplarındaki tüm vakaların tedavi sonrası serum β -hCG düzeylerinin normale iniş süresi karşılaştırıldığında, parsiyel mol grubu ile komplet ve persiste mol grupları arasında istatistiki fark saptandı ($p<0,05$). Komplet ve persiste mol grupları arasında istatistiki fark saptanmadı ($p>0,05$).

76 vakanın sitotrofoblastik hücre başına düşen ortalama AgNOR değerleri $7,09\pm 4,55$ (1,32-19,90) idi. Bu değerler plasenta grubunda $1,65\pm 0,14$ (1,32-1,93) (Şekil 1A), spontan abortus grubunda $4,16\pm 0,71$ (3,10-5,74) (Şekil 1B), parsiyel hidatiform mol grubunda $6,68\pm 0,80$ (5,29-8,19) (Şekil 1C), komplet hidatiform mol grubunda $7,88\pm 0,80$ (6,30-9,30) (Şekil 1D), persiste hidatiform mol grubunda $14,39\pm 3,57$ (10,16-19,90) (Şekil 1E) olarak tespit edildi. En düşük ortalamalar plasenta grubunda görülürken ($1,65\pm 0,14$), en yüksek ortalamalar persiste mol grubunda tespit edildi ($14,39\pm 3,57$). En düşük değer plasenta grubunda iken 1,32, en yüksek değer persiste mol grubunda 19,90 idi (Tablo I). Plasenta grubu ile diğer dört grup (abortus, parsiyel mol, komplet mol ve persiste mol) arasında ($p=0,002$, $p=0,000$, $p=0,000$, $p=0,000$); abortus grubu ile GTH grupları (parsiyel mol, komplet mol ve persiste mol) arasında ($p=0,002$, $p=0,000$, $p=0,000$); persiste mol ile parsiyel ve komplet mol grupları arasında ($p=0,000$, $p=0,000$) istatistiksel olarak farklılık tespit edildi. Ancak parsiyel mol ve komplet mol grupları arasında AgNOR değeri açısından fark yoktu ($P<0,05$). Plasenta ve abortus grupları tek grup (28 vaka), GTH grupları (48 vaka) tek grup olarak ele alındığında yapılan AgNOR değerlendirmelerinde, bu iki grubun AgNOR ortalamaları kontrol gruplarında $2,90\pm 1,37$ (1,32-5,74), GTH gruplarında $9,54\pm 3,92$ (5,29-19,90)

olarak belirlendi (tablo IV). Bu iki grup arasında anlamlı farklılık saptandı ($p=0,000$).



Şekil 1a: Nukleus içinde 1-2 AgNOR beneğinin izlendiği (ok), kontrol plasenta grubundaki sinsityotrofoblastlar (AgNOR, $\times 1000$).

Şekil 1b: Nukleus veya nukleolus içerisinde 3-4 adet AgNOR beneğinin izlendiği (ok), kontrol spontan abortus grubundaki proliferatif sinsityotrofoblastlar (AgNOR, $\times 1000$).

Şekil 1c: Çoğu intranükleoler görünümli 5-6 adet AgNOR beneğinin izlendiği (ok), parsiyel hidatiform mol grubundaki proliferatif sinsityotrofoblastlar (AgNOR, $\times 1000$).

Şekil 1d: Çoğu nukleolus içinde yerleşmiş 8-9 adet AgNOR beneğinin izlendiği (ok), komplet hidatiform mol grubundaki proliferatif sinsityotrofoblastlar (AgNOR, $\times 1000$).

Şekil 1e: Nukleolus ve nukleus içinde yerleşmiş 10-15 adet AgNOR beneğinin izlendiği (ok), persiste hidatiform mol grubundaki proliferatif sinsityotrofoblastlar (AgNOR, $\times 1000$).

Tablo IV: Vakaların serum β -hCG seviyelerine göre gruplara dağılımı

n=48	Serum β -hCG düzeyleri (mIU/ml)
1.Grup	<40.000 mIU/ml
2.Grup	40.000-100.000 mIU/ml
3.Grup	>100.000 mIU/ml

Gestasyonel trofoblastik hastalık vakalarının tedavi öncesi serum β -hCG düzeyleri ile AgNOR değerleri arasında istatistiksel bir korelasyon incelendi. Vakalar serum β -hCG seviyelerine göre üç gruba ayrıldı (Tablo IV). 12 vakanın (%25) serum β -hCG düzeyi <40.000 mIU/ml, 10 vakanın (%20,8) serum β -hCG düzeyi 40.000-100.000 mIU/ml, 26 vakanın (%54,1) serum β -hCG düzeyi >100.000 mIU/ml olarak tespit edildi. Serum β -hCG düzeyi ile AgNOR sayıları karşılaştırıldığında; serum β -hCG'si <40.000 mIU/ml olan grupta ortalama AgNOR değeri $7,71\pm 4,10$ (5,35-18,64), 40.000-100.000 mIU/ml olan grupta $7,22\pm 5,16$ (5,29-19,90), 100.000 mIU/ml ve üzerinde olan grupta $8,56\pm 3,41$ (6,30-18,68) olarak saptandı. GTH vakalarında tedavi öncesi serum β -hCG düzeyi ile AgNOR değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

Gestasyonel trofoblastik hastalık vakalarının tedavi sonucu

serum β -hCG düzeylerinin normale dönme süreleri (hafta) ile hücre başına düşen AgNOR ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edildi ($p=0,000$). Bu ilişkiye göre sinsityotrofoblastik hücre başına düşen AgNOR değeri arttıkça β -hCG düzeylerinin normale dönme sürelerinin de uzamış olduğu belirlendi.

TARTIŞMA

Son zamanlarda tümör progresyonunu önceden belirleyebilmek için pek çok araştırma yapılmaktadır. Bunlar içerisinde genetik ve patolojik çalışmalar daha ön plana çıkmaktadır. Sitopatoloji veya histopatolojide tümör hücrelerine uygulanan bazı immunhistokimyasal belirteçler, hücrelerin malign potansiyelini göstermek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlar içinde proliferasyon hızı ve oranını gösteren belirteçler (Ki 67, PCNA, AgNOR) ile tümör süpresör genler (p53) en çok üzerinde çalışılan antijenlerdir^(2,5,6).

Argyrophilic Nucleolar Organiser Resion yöntemi rutin doku örneklerinde hücre proliferasyonunun hızını tam olarak gösteren güvenilir bir metoddur. Bu sayede bazen teşhiste, çoğu zaman hastalık progresyonunu takip etmede bazende tedavi protokolünü düzenlemede oldukça yardımcı olur^(4,7,8).

Bu çalışmada AgNOR parametresinin, trofoblast agresifliğinin ve hastalık progresyonunun önceden belirlenebilmesinde kullanılabilir olup olamayacağını incelemek ve AgNOR değerlerinin klinik parametrelerle alakasını tespit etmek amacı ile 28 kontrol (%36,8), 48 GTH (%63,1) vakasından oluşan toplam 76 vaka incelemeye alındı ve her birine AgNOR boyası uygulandı. Gestasyonel trofoblastik hastalık genelde reproduktif dönemdeki kadınlarda görülür (20-35 yaş arası) ^(1,9,10,11). Bizim hastalarımızın genel yaş ortalaması 30.0 (17-53) idi. Bu dönemin uçlarını oluşturan 20 yaş altı ve 40 yaş üzerindeki gebeliklerin sayısı az olsa bile bu dönem gebeliklerinde molar gebelik için artmış risk söz konusudur^(1,9). Yapılan çalışmalarda komplet molde anne yaşının direkt risk faktörü olduğu ancak parsiyel mol hastalarında anne yaşının ya daha az risk oluşturduğu, yada risk oluşturmadığı ifade edilmiştir ^(12,13,14). Bizim çalışmamızda parsiyel mol hastalarının yaş ortalaması 27.8 (17-44), komplet mol hastalarının yaş ortalaması 26.8 (18-39) olup birbirine yakın değerdeydi ve aralarında istatistiksel bir fark yoktu ($p>0,05$).

Gebelik ve doğum sayısı açısından değerlendirildiğinde yapılan çalışmalarda, multipar kadınlarda relatif riskin 0.6 ile 1.0 arasında olduğu belirtilmiştir^(15,16,17). Bazı çalışmalarda ise risk gösterilmemiştir^(18,19). Çalışmada GTH gelişme riski ile gebelik sayısı arasında bir ilişki gösterilmedi. β -hCG düzeyleri GTH ların tanı ve takibinde kullanılan

trofoblast aktivitesini gösteren önemli bir kriterdir. Kliniklerde, tedavi sonrası β -hCG takipleri yapılarak persistans gösteren vakaların erken teşhisi sağlanabilir ^(20,21). Çalışmalarda genel olarak parsiyel mol hastalarının başlangıç β -hCG düzeylerinin komplet mol hastalarına göre daha düşük olduğu bildirilmiştir ^(22,23). Smith ve ark. ⁽²³⁾ komplet mol hidatiform vakalarının β -hCG düzeylerinin nonmolar gebelik ve parsiyel mol hidatiformlu vakalara oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada β -hCG düzeylerinin normale iniş süresinin komplet mol vakalarında diğer iki gruba oranla anlamlı derecede daha uzun bulunduğu tespit edilmiştir. Kale ve ark.⁽²⁴⁾ çalışmasında ise β -hCG düzeyleri açısından invaziv, komplet ve parsiyel mol grupları arasında anlamlı fark olmamasına karşın β -hCG 'in normale dönüş süresinin parsiyel mol hastalarında invaziv ve komplet mol hastalarına oranla anlamlı derecede daha kısa olduğu bildirilmiştir. Fakat β -hCG seviyeleri hastalıklara göre standardize edilemez. Molar gebeliklerde çok yüksek değer tespit edilebilirken, koryokarsinomlarda düşük değerler bulunabilir. Hangi hastada invaziv mol veya koryokarsinom gelişeceğini gösteren standart bir β -hCG seviyesi yoktur^(25,26).

Bizim çalışmamızda GTH vakalarının tedavi öncesi serum β -hCG ortalaması 215.001 mIU/ml olup, parsiyel hidatiform mol grubunda 61.000 (25.000-200.000) mIU/ml, komplet hidatiform grubunda 278.011 (13.829-73.100) mIU/ml, persiste hidatiform mol grubunda 293.392 (16.000-844.428) mIU/ml şeklinde dağılım göstermekteydi. En düşük β -hCG düzeyi ortalaması parsiyel hidatiform mol grubunda 61.000 (25.000-200.000) mIU/ml iken, en yüksek ortalama persiste hidatiform mol grubunda 293.392 (16.000-844.428) mIU/ml idi. Parsiyel mol grubu hastaların β -hCG seviyeleri, komplet mol ve persiste mol grubu hastaların β -hCG seviyelerine göre anlamlı derecede daha düşüktü ($p>0,005$). Yapılan çalışmalarda tedavi sonrası β -hCG düzeylerinin normal değere inme sürelerinin, parsiyel mollerde komplet molderden daha kısa olduğu ifade edilmiştir ^(23,24). Bu süre serum β -hCG seviyesi ile paralellik göstermekteydi. Bu çalışmada, tedavi sonrası serum β -hCG düzeylerinin normale iniş süresi ortalamalarının parsiyel hidatiform mol grubunda 1.4 ± 0.5 (1-2) hafta, komplet hidatiform grubunda 2.8 ± 1.3 (1-5) hafta, persiste hidatiform mol grubunda 4.7 ± 3.4 (2-12) hafta olduğu tespit edildi. Serum β -hCG düzeylerinin normale iniş süresindeki en uzun ortalamalar persiste mol grubunda iken (4.7 ± 3.4), en düşük ortalamalar parsiyel mol grubunda gözlemlendi (1.4 ± 0.5). Ayrıca tedavi sonrası β -hCG düzeylerinin normal değere inme süreleri ile tedavi öncesi β -hCG seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edildi ($p<0,05$). Bu değerler yapılan çalışmalarla uyumluydu.

İstatistiki olarak, parsiyel mol hastalarının β -hCG seviyelerinin komplet ve persiste mol hastalarına göre anlamlı derecede daha kısa sürede normale döndüğü tespit edildi ($p<0,05$). Komplet ve persiste mol hastalarının tedavi ile β -hCG düzeylerinin normale iniş süreleri arasında fark tespit edilmedi ($p>0,05$).

NORs ilk olarak 1931'de Heitz ve McClintock (1934) tarafından tanımlandı (27). NOR'lar ribozomal RNA'yı kodlayan ribozomal genleri içeren DNA bölgeleridir. RNA sentezi için yapısal fonksiyonel birimdir. Bu bölgeler argyofilik proteinler içerirler. Bundan dolayı NOR'lar oldukça hızlı ve kesin bir yöntem olan gümüş boyama ile gözlenebilir. Gümüşle boyanan NOR'lar AgNORs olarak isimlendirilir ve argyofilik NOR proteinlerine ise AgNOR proteinler denir(27,28,29).

Tümöral lezyonlardaki proliferasyon hücrelerinin oranını (büyüme fraksiyonunu) ölçebilen birçok teknik yöntem vardır. MIB-1/ Ki 67, PCNA ve bromodeoksiüridin vb. Fakat bunlardan hiçbirisi hücre proliferasyonunun hızını gösteren bilgiyi veremez, proliferasyon oranını verir. AgNOR yöntemi ise nükleus ve nükleolus içerisindeki boyanan taneciklerin sayısını gösterdiğinden hücrelerin proliferasyon hızını doğru şekilde gösterir (4).

Tümör patolojisinde AgNOR'u ilk olarak Ploton ve arkadaşları kullanmışlardır(30). Prostat kanser hücrelerinde benign yada hiperplastik hücrelerle karşılaştırıldığında interfaz AgNOR'larının daha yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir(4,27). Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen bilgilere göre kanser hücrelerinin normal veya benign hücrelerden daha fazla sayıda interfaz AgNOR'u bulundurduğu tespit edilmiştir. Bir çok çalışmada AgNOR parametresinin malign tümörlerde prognostik faktör olarak değeri araştırıldı ve olumlu sonuçlar elde edildi(4,31). Bu çalışmada benign ve persiste GTH vakalarında AgNOR parametresinin ayırıcı tanıdaki yeri, persistans kabiliyetinin önceden tespiti ile prognostik faktör olarak kullanılıp kullanılmayacağı araştırıldı.

Bu çalışmada; hücre başına düşen AgNOR ortalamaları plasenta grubunda 1.65 ± 0.14 (1.32-1.93), spontan abortus grubunda 4.16 ± 0.71 (3,10-5,74), parsiyel hidatiform mol grubunda 6.68 ± 0.80 (5.29-8.19), komplet hidatiform grubunda 7.88 ± 0.80 (6.30-9.30), persiste hidatiform mol grubunda 14.39 ± 3.57 (10.16-19.90) olarak tespit edildi. En düşük ortalamalar plasenta grubunda görülürken (1.65 ± 0.14), en yüksek ortalamalar persiste mol grubunda tespit edildi (14.39 ± 3.57). Spontan abortus grubuna kıyasla hidatiform mollerin anlamlı derecede yüksek AgNOR değerine sahip olduğu belirlendi ($p<0,05$). Persiste mollerin AgNOR değerleri hidatiform mollere göre yüksek bulunurken, komplet ve parsiyel moller arasında farklılık görülmedi ($p>0,05$). Buradan yola çıkarak ilk iki trimesterdeki trofoblastların proliferasyon aktivitesinin terme göre daha yüksek olduğu, ancak trofoblastik hastalık

gelişmesi halinde proliferasyonun daha da arttığı, komplet ve parsiyel mol vakalarının proliferasyon aktivitelerinin birbirinden anlamlı derecede farklı olmadığı tespit edildi. Yang ve ark.(32) AgNOR sayımının GTH'larda erken malign değişiklikleri tespit etmek için kullanılabilirliğini ifade etmiştir. Bu çalışmada ise benzer şekilde en yüksek değer persiste mol grubunda iken hidatiform mol grubunun değerleri anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Çalışmada Yang'ın çalışmasıyla benzer olarak GTH'da malignite ve persistans gelişmesi ile AgNOR sayısı arasında pozitif bir ilişki bulunduğu tespit edildi. Kale ve ark.(24) spontan abortus vakalarının AgNOR değerlerinin GTH vakalarına oranla anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiş olup bizim çalışmamızda da benzer sonuç bulundu. Kale ve arkadaşları parsiyel mol vakalarının AgNOR değerlerini invaziv ve komplet molden fazla tespit etmiş olup, persistans gelişimi ile AgNOR değerleri arasında ilişki tespit edilmediğini öne sürmüştür. Bizim çalışmamızda ise persiste mol vakalarının değerleri hidatiform mollerden yüksek bulunmuş olup parsiyel ve komplet moller arasında fark gözlenmedi. Bununla beraber bu çalışmada, persistansa gidişle AgNOR arasında pozitif ilişki gösterildi. Ayrıca çalışmamızda da benzer bir şekilde hidatiform mol vakalarının abortus gruplarına göre anlamlı derecede daha yüksek AgNOR sayısı içerdiği tespit edilmiş olup, buradan abortus ve hidatiform mol vakalarının ayırıcı tanısında AgNOR ölçümünün kullanılabilirliği sonucuna ulaşıldı. Çalışmamızda, GTH vakalarının tedavi öncesi serum β -hCG düzeyleri ile AgNOR değerleri arasındaki korelasyon incelendi. Serum β -hCG'si 100.000mIU/ml ve üzerinde olan grupta AgNOR sayıları bir miktar yüksek olsada, GTH gruplarında tedavi öncesi serum β -hCG düzeyi ile AgNOR değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki görülmedi ($p>0,005$).

Çalışmada sinsityotrofoblastik hücre başına düşen AgNOR değeri arttıkça serum β -hCG düzeylerinin normale dönme sürelerinin de uzamış olduğu belirlendi. Buradan yola çıkarak AgNOR ortalamaları yüksek olan hastaların, serum β -hCG düzeylerinin normale dönme sürelerinin uzayabileceği dolayısı ile kullanılan kemoteropatik dozunun artabileceği gözönünde bulundurulacak olursa, AgNOR düzeyi ile hastalık progresyonu arasındaki pozitif ilişki desteklenmiş olur.

Sonuç olarak; GTH'larda trofoblastların invazivlik özelliği ve persistans potansiyeli arttıkça nükleus başına düşen ortalama AgNOR sayısının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı; sinsityotrofoblastik hücre başına düşen AgNOR değeri arttıkça serum β -hCG düzeylerinin normale dönme sürelerinin de uzamış olduğu tespit edildi.

Gestasyonel trofoblastik hastalık vakalarının takibi, tedavilerinin düzenlenmesi ve progresyonun belirlenmesinde nükleus başına düşen AgNOR değerlerinin ölçümünün

oldukça faydalı olabileceğini düşünmekteyiz. Yöntemin standardizasyonunun belirlenmesi ve bu konuyla ilgili yapılacak olan yeni çalışmalar sonucunda GTH'lardaki AgNOR sayılarına standardizasyon getirilmesi sonucunda uygulamanın rutin kullanıma girebileceğini ve GTH'ların prognozunun tayininde oldukça faydalı bir parametre olabileceğini söyleyebiliriz. Böylece persistans kabiliyeti olan hidatiform vakaları önceden belirlenerek, hastanın kullanacağı kemoteropatik dozu azalacak ve yaşam kalitesi artacaktır.

KAYNAKLAR

- H. Y. S. Ngan :Gestational trophoblastic disease. Reviews in Gynaecological practice. 2003;3:142-147.
- Cheung AN: Pathology of gestational trophoblastic diseases. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2003 Dec;17(6):849-868.
- Lee YS: p53 expression in gestational trophoblastic disease. Int J Gynecol Pathol. 1995 Apr;14(2):119-124.
- Derenzini M: The AgNORs. Micron. 2000 Apr;31(2):117-120.
- Brescia RJ, Kurman RJ, Main CS, Surti U, Szulman AE: Immunocytochemical localization of chorionic gonadotropin, placental lactogen, and placental alkaline phosphatase in the diagnosis of complete and partial hydatidiform moles. Int J Gynecol Pathol. 1987;6(3):213-229.
- Olvera M, Harris S, Amezcua CA, McCourty A, Rezk S, Koo C, Felix JC, Brynes RK: Immunohistochemical expression of cell cycle proteins E2F-1, Cdk-2, Cyclin E, p27(kip1), and Ki-67 in normal placenta and gestational trophoblastic disease. Mod Pathol. 2001 Oct;14(10):1036-1042.
- Treere D, Pession A, Derenzini M: The silver-stained proteins of interphasic nucleolar organizer regions as a parameter of cell duplication rate. Exp Cell Res. 1989 Sep;184(1):131-137.
- Treere D, Pession A, Montanaro L, Chieco P, Derenzini M: AgNOR protein expression and tumor growth rate of human carcinoma xenografts growing subcutaneously in nude mice. Eur J Histochem. 1997;41 Suppl 2:153-154.
- Altieri A, Franceschi S, Ferlay J, Smith J, La Vecchia C: Epidemiology and aetiology of gestational trophoblastic diseases. Lancet Oncol. 2003 Nov;4(11):670-678.
- Sand PK, Lurain JR, Brewer JJ: Repeat gestational trophoblastic disease. Obstet Gynecol. 1984 Feb;63(2):140-144.
- Elston CW: Gestational trophoblastic disease. In: Fox H, editor Haines and Taylor, Obstetrical and gynaecological pathology, 4th ed. 1995;1597-1626.
- F. Parazzini, C. La Vecchia and S. Pampallona, Parental age and risk of complete and partial hydatidiform mole. Br J Obstet Gynaecol 93 (1986), pp. 582–585.
- I.H. Graham, A.M. Fajardo and R.L. Richards, Epidemiological study of complete and partial hydatidiform mole in Abu Dhabi: influence age and ethnic group. J Clin Pathol 43 (1990), pp. 661–664.
- N.J. Sebire, M. Foskett, R.A. Fisher et al., Risk of partial and complete hydatidiform molar pregnancy in relation to maternal age. Br J Obstet Gynaecol 109 (2002), pp. 99–102.
- L.A. Brinton, B.Z. Wu, W. Wang et al., Gestational trophoblastic disease: a case-control study from the People's Republic of China. Am J Obstet Gynecol 161 (1989), pp. 121–127.
- C. La Vecchia, S. Franceschi, F. Parazzini et al., Risk factors for gestational trophoblastic disease in Italy. Am J Epidemiol 121 (1985), pp. 457–464.
- F. Parazzini, C. La Vecchia, S. Pampallona and S. Franceschi, Reproductive patterns and the risk of gestational trophoblastic disease. Am J Obstet Gynecol 52 (1985), pp. 866–870.
- J. Matsuura, D. Chiu, P.A. Jacobs and A.E. Szulman, Complete hydatidiform mole in Hawaii: an epidemiological study. Genet Epidemiol 1 (1984), pp.271–284.
- F. Parazzini, S. Cipriani, G. Mangili et al., Oral contraceptives and risk of gestational trophoblastic disease. Contraception 65 (2002), pp. 425–427.
- Driscoll SG: Gestational trophoblastic neoplasms: morphologic considerations. Hum Pathol. 1977 Sep;8(5):529-539.
- Szulman AE, Ma HK, Wong LC, Hsu C: Residual trophoblastic disease in association with partial hydatidiform mole. Obstet Gynecol. 1981 Mar;57(3):392-394.
- Cole AL, Kohorn EI, Kim GS: Detecting and monitoring trophoblastic disease. J Reorod Med 1994;39:193-200.
- Smith EB, Szulman AE, Hinshaw W: human chorionic gonadotropin levels in complete and partial moles and in nonmolar abortuses. Am J Obstet Gynecol 1984;149(2):129-132.
- Kale A, Soylemez F, Ensari A: Expressions of proliferation markers (Ki-67, proliferating cell nuclear antigen, and silver-staining nucleolar organizer regions) and of p53 tumor protein in gestational trophoblastic disease. Am J Obstet Gynecol. 2001 Mar;184(4):567-574.
- Berkowitz RS, Goldstein DP: Pathogenesis of gestational trophoblastic neoplasms. Pathobiol Annu. 1981;11:391-411.
- O'Reilly SM, Rustin GJ: Mismanagement of choriocarcinoma due to a false low HCG measurement. Int J Gynecol Cancer. 1993 May;3(3):186-188.
- Derenzini M, Ploton D: Interphase nucleolar organizer regions in cancer cells. Int Rev Exp Pathol. 1991;32:149-192.
- Pardue ML, Gall JG: Molecular hybridization of radioactive DNA to the DNA of cytological preparations. Proc Natl Acad Sci U S A. 1969 Oct;64(2):600-604.
- Hernandez-Verdun D: Structural organization of the nucleolus in mammalian cells. Methods Achiev Exp Pathol. 1986;12:26-62.
- Ploton D, Menager M, Jeannesson P, Himer G, Pigeon F, Adnet JJ: Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. Histochem J. 1986 Jan;18(1):5-14.
- Avunduk MC: prostatın benign ve malign olgularında NOR cisimciklerinin prognostik ve diagnostik önemi. T Klin Tip Bilimleri 1999, 19:90-94.
- Yang BL: AgNOR of gestational trophoblastic tumors and its clinical significance. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 1993 Jul;28:408-10,442.