ZKTB ORİJİNAL ARAŞTIRMA

Serviksin LSIL, HSIL ve Skuamöz Hücreli Karsinomlarında Biyopsilerde Ki-67, P16, C-erb B2 ve Siklin D1 Ekspresyonunun Önemi

The Importance of Ki-67, p16, C-erb-B2, and Cyclin D1 Expressions in LSIL, HSIL and Cervical Squamous Cell Carcinoma Biopsies

Birgül TOK [1], Şafak ERSÖZ [2], Gülname Fındık GÜVENDİ [3]

1. Akçaabat Haçkalıbaba Devlet Hastanesi, Patoloji Bölümü, Trabzon, Uzm. Dr.
2. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Ana Bilim Dalı, Trabzon, Prof. Dr.
3. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Rize, Yrd. Doç. Dr.

ÖZET

Amaç: *Serviksin skuamöz hücreli kanseri (SCC), jinekolojik kanserlerde en sık rastlanan malign tümördür. Skuamoz intraepitelyal lezyonlar (SIL) preinvazif lezyonlar olarak bilinir. Servikal kanser gelişiminde etkili lezyonların derecelendirilmesindeki sorunlardan dolayı lezyonların ayrımında immünohistokimyasal belirteçlerin yararlı olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, HSIL ve LSIL olgularında Ki-67, p16, siklin D1 ve c-erb-B2 boyama paterninin ekspresyonu ve yoğunluğu araştırılmıştır.*

Gereçler ve Yöntem: *Bu çalışmaya 2003-2011 yılları arasında XXX Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda teşhis konan 40 SCC, 40 düşük dereceli SIL (LSIL) ve 40 yüksek grade SIL (HSIL) hasta dahil edildi. Hastaların preparatlarında C-erb-B2, Ki-67, p16 ve siklin D1 ekspresyonları araştırıldı.*

Bulgular: *C-erb-B2, 6 HSIL vakasında (%15), 4 SCC vakasında (%10) ve 2 LSIL vakasında (%5) pozitif boyanma gösterdi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p> 0.05). Bununla birlikte SCC'li olgularda c-erb-B2 ile hastalık evresi arasında güçlü bir korelasyon gözlenmiştir (p<0.05, r = 0.891). Ki-67 ekspresyonu, LSIL vakalarının ortalama % 20'sinde, HSIL vakalarının ortalama %35'inde ve SCC vakalarının ortalama %40'ında mevcuttu. Gruplar arasındaki fark, LSIL'den dolayı, istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0.05). Siklin D1 ile nükleer boyanma çoğunlukla LSIL'li olgularda gözlendi, ancak sitoplazmik boyanma HSIL ve SCC'li olgularda ağırlıklı olarak gözlendi. Siklin D1 ile, gruplar arasında hiçbir istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (p>0.05). p16 ekspresyonu HSIL'da 39 (%97.5) olguda, LSIL'da 12 olguda (% 30) görüldü. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p <0.05).*

Sonuç: *Sonuç olarak, c-erb-B2 ve siklin D1 ekspresyonu bu lezyonların ayrımında yararlı değildir. Bununla birlikte, Ki-67, LSIL'ı HSIL ve SCC'den ayırmak için kullanılabilir. Ayrıca, p16 ekspresyonunun HSIL ve LSIL'ın ayrımında yararlı olduğu sonucuna varılmıştır.*

Anahtar Kelimeler: *ki-67, p16, c-erb-b2, siklin d1, serviks kanseri*

ABSTRACT

Objective: *The squamous cell carcinoma (SCC) of the cervix is the most common malignant tumor of gynecological cancers. Squamous intraepithelial lesions (SILs) are known as a preinvasive lesion. Due to problems in the grading of these lesions that are effective in the development of cervical cancer, immunohistochemical markers are reported to be useful in the differentiation of lesions. In this study, the expression and intensity of the staining pattern of Ki-67, p16, cyclin D1, and c-erb- B2 in HSIL and LSIL cases were investigated.*

Material and Methods: *40 patients with SCC, 40 patients with low grade SIL (LSIL), and 40 patients with high grade SIL (HSIL) who were diagnosed in Department of Pathology of XXX University Medical Faculty between 2003-2011 years were included in this study. C-erb-B2, Ki-67, p16, and cyclin D1 expressions was investigated in the preparations of the patients.*

Results: *C-erb-B2 in 4 cases with SCC (10%), in 6 cases with HSIL (15%), and in 2 cases with LSIL (5%) showed positive staining. There was no statistically significant difference between the three groups (p>0.05). However, in cases with SCC, a strong correlation between c-erb-B2 and the disease stage was observed (p<0.05, r = 0.891). Ki-67 expression was present in average 20% of LSIL cases, average 35% of cases of HSIL, and average 40% of SCC cases. The difference between groups was statistically significant (p<0.05) and due to LSIL. Nuclear staining of cyclin D1 was mainly observed in cases with LSIL, however, cytoplasmic staining was mainly observed in cases with HSIL and SCC. No statistically significant difference between groups was observed with cyclin D1 (p>0.05). p16 expression was found in 39 (97.5%) cases with HSIL, 12 cases (30%) with LSIL. The difference was statistically significant (p<0.05).*

Conclusion: *In conclusion, c-erb-B2 and cyclin D1 expression is not useful in the differentiation of these lesions. However, the Ki-67 may be used to separate LSIL from HSIL and SCC. Also, p16 expression was concluded to be useful in the differentiation of HSIL and LSIL.*

Keywords: *ki-67, p16, c-erb-b2, cyclin d1, cervical carcinoma*

GİRİŞ

İnvaziv serviks karsinomu dünyada her yıl 300.000'den fazla kadının ölümüne sebep olan, kadınlarda meme kanserinden sonra ikinci sıklıkta görülen malign tümördür. Serviks karsinomunun görülme sıklığı, özellikle gelişmiş ve PAP-smear tarama programlarının uygulandığı ülkelerde büyük oranda azalmıştır. Paritenin azalması ve yaşam şartlarının düzelmesi de görülme sıklığını azaltan sebeplerdendir (1). Görülme yaşı 20-80 yaş gibi geniş bir aralığa yayılmasına rağmen en sık 50-59 yaşları arasında görülmektedir (2).

Ülkemizde ise serviks kanseri kadınlarda görülme sıklığı ve ölüm nedenleri arasında dokuzuncu sırada yer almaktadır (3). Serviks kanserinde prognozu belirleyen en önemli etken erken evrede tanı konulmasıdır (4). Serviks lezyonlarının öncü lezyonlarının bir kısmı uzun bir preinvaziv hastalık evresini izleyerek serviks kanseri gelişimine sebep olmaktadır. Bu lezyonlar genellikle asemptomatik olmakla birlikte, günümüzde kullanılan sitolojik tarama yöntemleri sayesinde tespit edilebilmektedir.

İletişim Bilgileri
Sorumlu Yazar: Gülname Fındık GÜVENDİ, Yrd. Doç. Dr.
Yazışma Adresi: Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, 53200 Rize, Türkiye
E-posta: gulnamefindik@hotmail.com
Tel: +90 (464) 212 30 09
Makale Geliş Tarihi: 11.01.2018
Makale Kabul Tarihi: 29.03.2018
DOI: http://dx.doi.org/10.16948/zktipb.377749

Bu lezyonların tedavi edilebilir olması nedeni ile de serviks kanseri insidansı ve mortalitesi giderek azalmaktadır (5).

Skuamöz intraepitelyal lezyonların (SIL), birbirinden ve diğer benign ve malign lezyonlardan ayrımında son yıllarda çeşitli ek inceleme yöntemlerinin kullanılabileceği bildirilmektedir. İmmunhistokimyasal yöntemle çeşitli işaretleyiciler SIL ve skuamöz hücreli kanser (SHK) lezyonlarında çalışılmış ve bir kısmının bu lezyonların tanısında değerli olabileceği bildirilmiştir (6).

Over, meme, endometrium, akciğer, mesane, gastrointestinal sisteme ait karsinomların bir kısmında c-erb B2 ekspresyonu mevcuttur. C-erb-B2'nin aşırı ekspresyonu kötü prognostik faktördür. Ki-67, proliferasyon belirleyicisidir ve displazide ekspresyonu artmaktadır. İmmunhistokimyasal incelemede p16 ve Ki-67 oranlarının yüksek olması displazi ile uyumludur. Siklin D1 (SD1) proteininin hücre siklusunun ilerlemesinde kritik bir rolü vardır. Bu proteinin ekspresyonunun regülasyonunun bozulması, birçok malign tümöral gelişimden sorumlu tutulmaktadır. Ki- 67, c-erb B2 ve siklin-D1 immunhistokimyasal işaretleyicilerinin servikal intraepitelyal neoplazi (CIN) 1, CIN3, SHK için prognostik değeri vardır (6).

Çalışmamızda düşük dereceli SIL (LSIL), yüksek dereceli SIL (HSIL) ve SHK tanısı alan hastaların biyopsilerinde Ki-67, siklin D1, p16 ve c-erb B2 ekspresyonlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

2003-2011 yılları arasında XXX Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda tanı alan toplam 120 olgu çalışmaya alındı. Olguların 40'ı LSIL, 40'ı HSIL ve 40'ı SHK idi. Vakalara ait parafin bloklar ve camlar patoloji arşivinden elde edildi.

Hematoksilen Eozin boyalı preparatlar tekrar değerlendirildi (Olympus BX50). Parafin bloklardan adhezivli camlar üzerine immünohistokimyasal boya yapmak üzere 5 mikron kalınlığında LSIL ve HSIL olguları için dörder, SHK olguları için üçer adet kesit alındı (Leica RM 2155 Rotary). Tüm kesitler önce etüvde 58 0C'de 60 dakika bekletildi.

İmmunhistokimyasal çalışma:
Daha sonraki aşamada deparafinizasyon ve antijen açığa çıkarma (CCL, standart) işlemi dahil tüm boyama basamakları, Benchmark XT (VentanaMedicalsystems, Inc, Tuson, AZ) otomatik cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Antijenik boyama işlemi peroxidase-labeled streptavidin-biotin kiti ve diaminobenzidan kromojen ile yapıldı. Zemin boyası için Mayer's Hematoksilen kullanıldı. Çalışma için gerekli kullanmaya hazır primer antikorlar c-erb-B2 (Poliklonal; prediluted; ScyTek, Utah, USA), p16 (G175-405; prediluted; BioGenex, USA), Ki-67 (BGX-Ki-67; prediluted; BioGenex, USA) ve siklin D1 (AB447P; prediluted; BioGenex, USA) titrasyon aşamasında cihaza manuel olarak eklendi.

Pozitif kontrol dokusu olarak; Ki-67 ve siklin D1 için normal internal skuamöz epitel bazal tabakası, c-erb B2 için invaziv duktal karsinom tanısı almış meme dokusu, p16 için proliferatif endometrium dokusu kullanıldı.

Boyanan preparatlar uzman patolog ve patolog adayı tarafından değerlendirildi.

İmmünhistokimyasal değerlendirme:
SiklinD1/ Ki-67/ c-erb-B2 pozitif ve negatif kontroller her antikor için kullanıldı. Ki-67 indeksi 25 BBA da 200 hücre sayılmasıyla saptandı. Bunlar epitelyal tabakaların hepsini içermekteydi. C-erb-B2 için pozitif ekspresyonda +1+2+3 skalası kullanıldı. Stoplazmik membranın boyanması pozitif kabul edildi. Boyanma tüm membranı çevrelerse (+3) olarak değerlendirildi. 0, +1, +2 sonuçları negatif kabul edildi. Siklin D1 immun belirleyicisinde sitoplazmik, çekirdek ve her ikisini de içeren boyanma dikkate alındı. P16 immun belirleyicisi ile hücrelerde çekirdek ve sitoplazmik boyanma incelendi. Sonuçlar negatif, fokal ya da diffüz olarak değerlendirildi.

İstatiksel değerlendirme:
Vakaların tümü c-erb B2, p16, Ki-67 ve siklin D1 antikorları ile ekspresyon özellikleri açısından karşılaştırılarak istatiksel analize tabi tutuldu. İstatiksel analizler XXX Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı'nda yapıldı. İstatiksel analiz için SPSS paket programında niteliksel veriler için Ki-kare testi, korelasyon katsayılarının hesaplanmasında Spearman Sıra Korelasyon Analizi kullanılmıştır. $P<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Rho değeri için 0.50-0.74 iyi ilişki, 0.75-1.00 çok güçlü ilişki olarak kabul edildi.

BULGULAR

Olguların yaş dağılımı 24-96 arasında olup, yaş ortalaması 47.13 ± 14.6 idi. LSIL tanısı alan 40 kadının yaş dağılımı 24-74 arasında olup, yaş ortalaması 40.88 ± 10.1'di. HSIL tanısı alan 40 kadının yaş dağılımı 24-60 arasında olup, yaş ortalaması 41.03 ± 8.5'di. SHK tanısı alan 40 kadının yaş dağılımı 24-96 arasında olup, yaş ortalaması 59.50 ± 15.6'di.

Olguların 70'ine (%58.3) servikal punch biyopsi, 18'ine LEEP (Loop Electrosurgical Excision Procedure) materyali, 32'sine (% 26.7) total abdominal histerektomi ve bilateral salpingoooferektomi (TAH + BSO) materyali ile tanı konuldu (Tablo 1).

Tablo 1: Tanı materyallerinin gruplara göre dağılımı.

	Servikal Biyopsi	LEEP	TAH + BSO
LSIL	22 (%55)	10 (%25)	8 (%20)
HSIL	16 (%40)	8 (%20)	16 (%40)
SHK	32 (%80)	0	8 (%20)

LSIL, HSIL ve SHK olgularının c-erb B2 ile boyanma yüzdeleri Tablo 2'de verilmiştir. c-erb B2 ekspresyonu ile gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.730$). Ancak SHK'larda c-erb-B2 ile evre arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptandı ($p<0.05$, rho değeri=0.891). SHK olgularında c-erb B2 ile diferansiasyon, histolojik tip arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 2: LSIL, HSIL ve SHK olgularının c-erb B2 ile boyanma yüzdeleri.

SKOR	LSIL	HSIL	SHK	TOPLAM
+	2 (%5)	6 (%15)	4 (%10)	12
-	38 (%95)	34 (%85)	36(%90)	108
TOPLAM	40	40	40	120

SHK olgularında Ki-67 ile ortalama % 40 oranında boyanma saptandı. HSIL olgularında Ki-67 ile çoğunlukla epitelin 2/3 alt tabakasında ortalama %35 oranında boyanma saptandı. LSIL olgularında Ki-67 ile çoğunlukla epitelin 1/3 alt tabakasında ortalama %20 oranında boyanma saptandı (Tablo 3). Ki-67 indeksi ile gruplar arasında anlamlı farklılık görülmüş olup, uygulanan Post Hoc testi ile farklılığın LSIL kaynaklı olduğu görüldü ($p<0.05$). SHK olgularında Ki-67 ile diferansiyasyon, histolojik tip ve spesmenin türü arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p<0.005$).

Tablo 3: Tüm gruplarda Ki-67 boyanma oranları (%).

Ki-67	LSIL	HSIL	SHK
Min %	3	10	1
Max %	70	90	80
Ortalama %	20	35	40

HSIL ve LSIL olgularında p16 ile çekirdek ve/veya sitoplazmik boyanma fokal ve diffüz olarak değerlendirildi. İstatistiksel analizi anlaşılır hale getirebilmek amacıyla p16 için immunreaktivite var (pozitif) ve immunreaktivite yok (negatif) şeklinde tanımlama yapıldı. HSIL olgularının 36'sı (%90) diffüz, 3'ü (%7.5) fokal boyanırken 1'inde (%2.5) boyanma saptanmadı (Tablo 4). p16 ile HSIL olgularının 34' ünde (%85) sitoplazmik, 5' inde (%12.5) çekirdek+sitoplazma boyanma görüldü. LSIL olgularının 7'si (%17.5) diffüz, 5'i (%12.5) fokal boyanırken, 28'inde (%70) boyanma saptanmadı. p16 ile LSIL olgularının 6'sında (%15) sitoplazmik, 5'inde (%12.5) çekirdek+sitoplazma, 1'inde (%2.5) çekirdek boyanması görüldü. p16 ekspresyonu ile HSIL ve LSIL grupları arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$). p16'nın diffüz ve fokal boyanması açısından LSIL ve HSIL arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$).

Tablo 4: HSIL ve LSIL olgularında p 16 boyanma oranları.

	Negatif	Diffüz pozitif	Fokal pozitif
HSIL	1 (% 2.5)	36 (% 90)	3 (% 7.5)
LSIL	28 (% 70)	7 (% 17.5)	5 (% 12.5)

LSIL, HSIL ve SHK olgularının siklin D1 boyanma yüzdeleri Tablo 5'te verilmiştir. SHK tanılı olguların 14'ünde (%35) siklin D1 ile çekirdekte boyanma, 20'sinde (%50) siklin D1 ile çekirdek ve sitoplazmada boyanma, 6'sında (%15) siklin D1 ile sitoplazmik boyanma saptandı. HSIL tanılı olguların 13'ünde (%32.5) siklin D1 ile çekirdekte boyanma, 6'sında (% 15) siklin D1 ile çekirdek ve sitoplazmada boyanma, 16'sında (%40) siklin D1 ile sitoplazmik boyanma saptandı. 5 hastada (%12.5) siklin D1 ile boyanma saptanmadı. LSIL tanılı 40 hastanın 21'inde (%52.5) siklin D1 ile çekirdekte boyanma, 19'unda (%47.5) ise çekirdek ve sitoplazmada boyanma saptandı. SHK olgularında siklin D1 ile yaş, tümör diferansiyasyon, histolojik tip ve evre arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p<0.05$).

Tablo 5: LSIL, HSIL ve SHK olgularının siklin D1 boyanma yüzdeleri.

	CD1 N	CD1 N+S	CD1 S	CD1 negatif
SHK	14 (% 35)	20 (%50)	6 (%15)	0 (%0)
HSIL	13 (%32.5)	6 (%15)	16 (%40)	5 (%12.5)
LSIL	21 (%52.5)	19 (%47.5)	0 (%0)	0 (%0)

TARTIŞMA

İnvaziv serviks karsinomu; dünyada tüm kanserler arasında yedinci sırada, kadınlarda ise meme kanserinden sonra ikinci sırada görülen malign tümördür. Jinekolojik kanserler arasında ilk sırayı almaktadır (7). Serviks karsinomuna bağlı mortalite, morbidite oranları ve karsinomun görülme insidansı, özellikle gelişmiş ve PAP-smear tarama programlarının uygulandığı ülkelerde giderek azalmaktadır (1).

Skuamöz hücreli karsinomların önemli bir kısmında invaziv kanser gelişmeden önceki dönemde öncü lezyonlardan herhangi biri bulunmaktadır. SIL'ların gidişatını kesin olarak belirlemek mümkün olmasa da, düşük greydli SIL'ların birçoğu spontan regresyona uğrarken, yüksek greydli lezyonlar progresyon gösterme eğilimindedirler (5, 8).

Histopatolojik değerlendirme, SIL tanısı ve derecelendirmesinde altın standarttır. Ancak araştırmacılar, ayırıcı tanıda ortaya çıkan zorluklarla sık karşılaşılması, tanı konulan lezyonun ileride regrese mi olacağı ya da progrese olarak invaziv karsinomaya mı dönüşebileceğinin tahmin edilememesi ve biyopsileri değerlendiren kişiler arası farklılıklar olması nedeniyle tanı koymada histopatolojik değerlendirme dışında birçok farklı tekniklere başvurmuşlardır. Bunların arasında; HPV DNA tiplendirmesi, DNA ploidi analizi, immunohistokimyasal ve histokimyasal çalışmalar yer alır. HSIL lezyonlarının büyük bir çoğunluğunda anöploidi gösterilmiştir (8, 9). Yüksek riskli HPV'ler HSIL lezyonlarının büyük bir kısmında saptanırken, LSIL lezyonlarında düşük riskli HPV'lerin de etkili olduğu saptanmıştır (5). CIN ve SHK tanısının konulması ve ayırıcı tanısının yapılmasında yardımcı olabileceği düşünülen çeşitli immunohistokimyasal işaretleyiler ile çok sayıda çalışma yapılmıştır (5).

Son yıllarda gelişmiş ülkelerde serviks kanseri insidansı ve mortalitesinde belirgin azalma saptanmıştır. Bu durum etkin sitolojik tarama yöntemlerinin artmasıyla yakından ilişkilidir (5, 10). Kaiser Permanente'nin sağlık planında LSIL olgularında ortalama yaş 15-19 arasındadır. LSIL oranı artan yaş ile birlikte düşmekte ve 25-40 yaş arasındaki kadınların yalnızca %1'inde görülmektedir. HSIL tanısı alan hastalarda pik yaş 25-29 yaş aralığıdır (11). Diğer büyük bir ulusal program çalışmasında histolojik olarak LSIL ve HSIL tanısı alan kadınlar daha çok 30 yaş altında yoğunlaşmaktadır (12). Türkiye'den Ersöz ve arkadaşlarının yayınladığı 3000 kişilik tarama programında LSIL olguları 25-50, HSIL olguları 36-46 yaş aralığındadır ve 2 SHK olgusunun 50 yaşında olduğu bildirilmiştir (13). Bu çalışmada LSIL olgularının ortalama yaşı 40, HSIL olgularının ortalama yaşı 41, SHK olgularında ise bu değer 59' dur.

Bu çalışmadaki ortalama görülme yaşları dünya verileri ile uyumlu değildir. Sebepler arasında ülkemizdeki kadınlardaki cinsel aktiviteye başlama yaşının erken olmayışı sayılabilir. Ancak yukarıda belirtilen Türkiye-Trabzon verileri ile uyumludur. SHK'daki ortalama yaşın preinvaziv lezyonlara göre daha yüksek olması ise preinvaziv lezyonların uzun zaman içinde progresyon gösterdikleri görüşünü desteklemektedir.

İki işaretleyicinin SIL ayırıcı tanısında yararlı olabileceği düşünülmektedir. Bunlardan biri olan Ki-67 hücresel proliferasyon işaretleyicisidir. Ki-67 ile normal skuamöz epitelde yalnızca parabazal hücre tabakasına sınırlı olan boyanma, epitelin üst 2/3'üne ulaşırsa SIL olgularının yardımcı bir işaretleyicisi olabilir. Bununla birlikte Ki-67, skuamöz metaplazi ve reaktif-reperatif değişikliklerde de boyanabileceğinden, bu durum SIL'larla ayrımda yararlılığını azaltmaktadır (5). Çalışmada SHK olgularında Ki-67 ile ortalama boyanma oranları % 40, HSIL olgularında % 35 ve LSIL olgularında %20'dir. Buna göre SHK ve HSIL'da Ki-67 ile boyanma oranı LSIL olgularına oranla biraz daha fazladır. Negri ve arkadaşlarının (14) çalışmasında Ki-67'nin, HSIL tanısı almış olgularda daha önemli bir belirteç olduğu kabul edilmiş ve LSIL tanısı almış olgularda daha az hassas olduğu vurgulanmıştır.

P16 hemen hemen tüm HSIL ve invaziv SHK'larda aşırı eksprese olan siklin bağımlı protein kinaz inhibitörüdür. Özellikle HPV ile ilişkili SIL'larda güçlü bir şekilde boyandığından sıklıkla kullanılmaktadır. Yüksek riskli HPV tiplerinin neden olduğu lezyonlarda aşırı ekspresyonundan bahsedilmektedir. Çalışmalarda normal skuamöz epitelde ve benign inflamatuar durumlarda; P16 INK4a ile boyanma olmadığı vurgulanmaktadır. Bu nedenle immatür skuamöz metaplazi veya reaktif- reperatif durumlar ve yüksek riskli HPV ile birlikte olan SIL arasındaki ayrımda p16'nın yararlı olduğu belirtilmektedir. İmmatür skuamöz metaplazi ve reaktif reperatif durumlar yüksek riskli HPV ile ilişkilidir. SIL lezyonlarından ayırmak için patologlar tarafından kullanılır. LSIL'ların yaklaşık 2/3'ü yüksek riskli HPV tipleri ile ilişkilidir ve yaklaşık 1/3-1/2'sinde epitel bazal tabakasında güçlü diffüz p16 boyanması saptanır. Geri kalan 1/3 LSIL olgusunda fokal P16 boyanması görülmektedir (5).

c-erb-B2 epidermal büyüme faktör reseptörüne bağlanan tirozin kinaz aktivitesinde bir proteindir. Uyarılmış hücre proliferasyonunda rol oynar (5). Literatüre bakıldığında, c-erb-B2'nin serviks SHK'da boyanma yüzdesi ile evre arasındaki ilişkiyi araştıran çok az çalışma vardır. Califano ve ark. (15) tarafından yapılan bir çalışmada 65 servikal karsinom olgusunda c-erb-B2 ekspresyonu incelenmiştir. Yaş, greyd ve histoloji ile ilişki saptanamamıştır. Ancak hastalığın evresi ile c-erb-B2 immunreaktivitesinin korele olduğu belirlenmiştir (15). Primer servikal kanserlerde c-erb-B2'nin boyanma oranı literatürde büyük değişkenlik göstermektedir. İmmunhistokimya ile değerlendirilen c-erb-B2 ekspresyonu vakaların %9-42'sinde görülmektedir (16, 17). Califano ve ark. (15) Evre 1 ve 2 olgularda c-erb-B2 ekspresyonunun daha sık olduğunu saptamıştır. Kersemaekers ve ark. (18) 113 SHK olgusunda c-erb B2 pozitif boyanma oranlarını ve evre ile ilişkisini araştırmıştır. Boyanma oranı %7 olarak saptanmıştır. Ayrıca pozitif c-erb-B2 ekspresyonu ile evre arasında bir ilişki bulunmuştur. Buna göre evre 2 ve 3 olgularda c-erb-B2 ekspresyonu evre 1 olgularla karşılaştırıldığında yüksektir (18). Bu çalışmada 40 olguluk SHK'da c-erb-B2 boyanma oranı %10'dur. Ayrıca yalnızca evre 4 olgularda c-erb-B2 ekspresyonunun saptanması, Kersemaekers ve ark. nın çalışması ile benzer niteliktedir.

LSIL olgularında c-erb-B2 ekspresyonunun düşük olduğunu saptayan çalışmalar mevcuttur (19). Bir çalışmada SHK'larda kötü prognoz, agresif gidiş ve lenf nodu metastazı ile korele olduğu görülmüştür (6). LSIL olgularında c-erb-B2 az sayıda olguda fokal boyanma göstermektedir. c-erb-B2 ekspresyonu lezyonun şiddeti arttıkça artmaktadır ve bu da ayırıcı tanıda yardımcı bulgu olabilir. Ki-67 ve c-erb-B2 ekspresyonu arasında ilişki görülmüştür. Çalışmada c-erb-B2 artışı servikal karsinogenezde geç olay olarak değerlendirildi. CIN 1 vakalarında c-erb-B2 ekspresyonu düşük, SHK vakalarında c-erb-B2 ekspresyonu artmıştır. Lenf nodu metastazı olduğunda agresif seyirde ve kötü prognozda c-erb-B2 ekspresyonu artar (6).

Yaptığımız çalışmada c-erb B2' nin LSIL, HSIL ve SHK lezyonlarının ayırımında yararlı olmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak SHK'larda ileri evrelerde ve HSIL olgularında ekspresyonunun arttığı görülmüştür. Carreras ve ark. (6)'nın çalışmasında siklin D1 nükleer ekspresyonunun lezyonun şiddeti arttıkça azaldığı belirtilmektedir. SHK'da siklin D1 nükleer ekspresyonunun yerini sitoplazmik boyanmanın aldığı tespit edilmiştir. Nükleer siklin D1 ekspresyonu CIN I'de 11 vakanın 9'unda, CIN III'de 9 vakanın 1'inde, SHK'de 10 vakanın 3'ünde saptanmıştır. Carreras ve ark. (6) sitoplazmik siklin D1 ekspresyonu ile ilgili bilgilerin az olduğunu ve bu konudaki çalışmaların arttırılması gerektiğini vurgulamıştır . Bu çalışmada siklin D1'in sitoplazmik boyanmasının lezyonun şiddeti ile birlikte arttığı saptanmıştır. Siklin D1'in sitoplazmik boyanması CIN I olgularının 7' sinde, CIN III ve SHK olgularının tümünde mevcuttu (6).

Bizim çalışmamızda siklin D1 nükleer boyanması SHK olgularının 14'ünde, HSIL olgularının 13'ünde, LSIL olgularının 21'inde saptanmıştır. Siklin D1'in sitoplazmik ekspresyonu SHK'da 6 olguda, HSIL'da 16 olguda saptanırken, LSIL'da olguların hiçbirinde ekspresyon görülmemiştir. Bu sonuçlara göre siklin D1'in boyanma paterni ile lezyonların şiddeti arasında bir ilişki görülmemiştir.

Sonuç olarak, bizim çalışmamızda, Ki-67 ortalama boyanmasının LSIL olgularında HSIL ve SHK'dan ayrımda kullanılabileceği, LSIL olgularında boyanmanın daha az olduğu görülmüştür. Siklin D1'in ve c-erb-B2 ekspresyonunun bu lezyonların ayrımında faydalı olmadığı, p16 ekspresyonunun ise HSIL

ve LSIL ayrımında yararlı olduğu sonucuna varılmıştır. HSIL olgularında p16 ekspresyonunun diffüz olduğu görülmekte olup, LSIL olgularında ise genelde boyanma izlenmemiştir. SHK olgularında c-erbB2 pozitifliğinin evre yükseldikçe belirginleştiği saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Tavassoli AF, Devilee P: World Health Organization Classification of Tumours Pathology & Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC, 2003: 259-90.

2. Hanhan M, Vardar E, Keleş R, Özbakkaloğlu A, İnal M. Evre I invaziv serviks karsinomları: SSK Ege Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim Hastanesi deneyimi. Ege Tıp Derg 2000;39(1): 51–5.

3. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, GLOBOCAN 2002. International Agency for Research on Cancer;55:2.74

4. Stewart BW, Kleihues P. Word Cancer Report. IACR, Lyon, 2003.

5. Kurman R.J, Ellenson L.H, Ronnelt B.M, Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract. Sixth Ed. New York: Springer, 2011: 194–303.

6. Carreras R, Alameda F, Mancebo G, et al A study of Ki-67, c-erbB2 and cyclin D-1 expression in CIN-I, CIN-III and squamous cell carcinoma of the cervix. Histol Histopathol 2007;22:587-92

7. Parkin MD, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global Cancer Statistics, 2002. CA Cancer J Clin 2005;55:74–108.

8. Seckin S. Servikal intraepitelyal neoplazi ve mikroinvaziv karsinoma. Ank Pat Bult 1993;10(1):20–3.

9. Castle PE, Wacholder S, Sherman ME et al, Absolute risc of a subsequent abnormal pap among oncogenic human papillomavirus DNA- positive,cytologically negative women Cancer 2002;95(10):2145-51.

10. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Seventh ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2005;1072–9.

11. İnsinga RP, Glass AG,Rush BB (2004) Diagnoses and outcomes in cervical cancer screening; a population-based study. Am J Gynecol Pathol 22(1):18-21.

12. Benard VB, Lee NC, Piper M et al (2001) Race-specific results of Papanicolaou testing and the rate of cervical neoplasia in the National Brest and Cervical Cancer Early Detection Program,1991-1998 (United States). Cancer Causes Control 12(1):61-8.

13. Ersöz Ş, Reis A, Baki N.Trabzon ilinde servikal tarama programı.Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi 2010;7;1:35-9.

14. Negri G, Vittadello F, Romano F, Kasal A, Rivasi F, Girlando S, Mian C, Egarter-Vigl E. p16INK4a expression and progression risk of low-grade intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. Virchows Arch 2004;445:616-20.

15. Califano D, Losito S, Pisano C, et al Significance of erb-B2 immunoreactivity in cervical cancer. Frontiers in Bioscience 2006;11:2071-6.

16. Nakano T, Oka K, Ishikawa A. Morita S. Correlation of cervical carcinoma c-erb B-2 oncogene with cell proliferation parameters in patients treated with radiation therapy for cervical carcinoma. Cancer 1997;79(3):513- 20.

17. Mark HF, D. Feldman, S. Das, C.L. Sun, M. Samy, J. Lathrop. HER-2/neu oncogene amplification in cervical cancer studied by fluoresein in situ hybridization. Genet Test 1999;3:237–42.

18. Kersemaekers AMF, Fleuren GJ, Kenter GG, Lambert J. C. M. Van den Broek, Uljee SM, Hermans J, Marc J. Van de Vijver. Oncogene alterations in carcinomas of the uterine cervix: overexpression of the epidermal growth factor receptor is associated with poor prognosis. Clin Cancer Res, 1999;5:577–86.

19. Brumm C, Riviere A, Wilckens C, et al. İmmunohistochemical investigation and northern blot analysis of c-erbB2 expression in normal, premalignant and malignant tissues of the corpus and cervix uteri. Virchows Arch (A) 1990;417:477-84.