

PROSTAT KANSERİNDE MİKRODAMAR YOĞUNLUĞU, KI-67 VE P53 EKSPRESYONU İLE KLİNİKOPATOLOJİK ÖLÇÜTLER VE HASTA PROGNOZU ARASINDAKİ İLİŞKİ

RELATION BETWEEN MICROVESSEL DENSITY, EXPRESSION OF KI-67 AND P53 WITH CLINICOPATHOLOGIC PARAMETERS AND PATIENT PROGNOSIS IN PROSTATE CANCER

Cenk ACAR*, Sinan SÖZEN*, Özlem ERDEM**, Serhat GÜROCAK*, Gürdal YILMAZ**, İbrahim BOZKIRLI*

* Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, ANKARA

** Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, ANKARA

ABSTRACT

Introduction: The aim of the study is to investigate the prognostic value of microvessel density (MVD), Ki-67 staining intensity and existence of p53 mutation together with clinicopathologic parameters in patients who underwent radical retropubic prostatectomy (RRP) due to the localized prostate cancer.

Materials and Methods: In our clinic, pathological specimens of 69 patients who had clinical and pathological data after RRP were retrospectively evaluated. The area with the greatest density of each of CD31, Factor VIII and CD105 positive cell clusters were chosen separately for counting MVD in X200 magnification. Greater than 5% of the tumor cells which demonstrated p53 nuclear reactivity were graded as positive. The percentage of nuclear Ki67 staining was grouped as negative, 1-10% and more than 10%.

Results: Mean follow-up of the patients was 37 (17-106) months. Disease progression was determined in 17 (24.6%) patients during follow-up. Distribution of pathological stage in progressive patients was more advanced than non-progressive counterpart ($p=0.01$). Transitional zone PSA density (TZPSAD) of non-progressive patients was statistically lower than progressive patients ($p=0.01$). Multivariate Cox regression analysis revealed pathologic stage, Gleason score (GS) and TZPSAD as independent predictors of progression free survival. Kaplan Meier analysis revealed that higher pathologic stage and GS significantly shortened the time to progression ($p=0.003$, $p<0.001$, respectively).

Conclusion: MVD, percentage of Ki-67 staining and p53 protein expression do not add any predictive value in regard to progression after RRP compared with prognostic markers such as pathologic stage and GS.

Key words: Prostate Cancer, Prognosis, Microvessel Density, Factor VIII, CD31, CD105, P53, Ki-67

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, organa sınırlı prostat kanseri nedeniyle radikal retropubik prostatektomi (RRP) uygulanan hastalarda, klinikopatolojik ölçütlerle beraber mikrodamar yoğunluğu (MDY), Ki-67 pozitifliği ve p53 mutasyon varlığının prognostik değerini araştırmaktır.

Kliniğimizde, organa sınırlı prostat kanseri nedeniyle sadece RRP uygulanan hastalardan klinik ve patolojik verilerine ulaşılabilen 69 hastanın patoloji örnekleri retrospektif olarak değerlendirildi. x200 büyütmede her bir etken VIII, CD31, CD105 pozitif hücre kümelerinin en yoğun olduğu alan MDY sayımı için seçildi. p53 nükleer aktivitesi gösteren tümör hücreleri %5'den daha fazla ise pozitif olarak kabul edildi. Nükleer Ki-67 boyanma yüzdesi negatif, %1-10 arası ve %10'dan fazla olarak gruplandırıldı.

Hastaların ortalama takip süresi 37 (17-106) aydı. Toplam 17 (%24,6) hastada takipleri sırasında progresyon saptandı. Progresyon gösteren hastaların patolojik evre dağılımı progresyon göstermeyenlere göre daha ileri idi ($p=0,01$). Transizyonel zon PSA dansitesinin (TZPSAD) progresyon göstermeyen hastalarda gösterenlere oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük değerlere sahip olduğu saptandı ($p=0.01$). Çok değişkenli Cox regresyon analizine göre patolojik evre, Gleason skoru ve TZPSAD'nin progresyonsuz sağkalım için bağımsız birer risk faktörü oldukları saptandı. Kaplan-Meier analizinde ise, yüksek patolojik evre (pT3) ve yüksek Gleason skorunun (GS8-10) hastalarda progresyona kadar geçen süreyi istatistiksel olarak anlamlı derecede kısalttığı gözlemlendi ($p=0.003$, $p<0.001$, sırasıyla).

RRP sonrası progresyonun önceden belirlenmesinde MDY, Ki-67 boyanma yüzdesi ve p53 protein ekspresyonun, patolojik evre ve GS gibi prognostik belirteçlerle karşılaştırıldığında ek bir katkı sağlamadığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Prostat kanseri, Prognoz, Mikrodamar yoğunluğu, Etken VIII, CD31, CD105, P53, Ki-67

Dergiye Geliş Tarihi: 19.09.2006

Yayına Kabul Tarihi: 05.12.2006 (Düzeltilmiş hali ile)

GİRİŞ

Gelişmiş ülkelerin verilerine göre, prostat kanseri tüm erkek kanserlerinin %11'ini ve kansere bağlı erkek ölümlerinin %9'unu oluşturmaktadır^{1,2}. Artan insidansı ve klinik seyri nedeniyle prostat kanserinin tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesinde bazı prognostik bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır. Klinik ve biyopsi bulgularını temel alarak hazırlanmış modellerde progresyon için düşük risk sınıfına giren hastalar radikal prostatektomi (RRP) için aday olmakla beraber RRP tedavisi sonrasında progresyon için yüksek riskli olduğu ön görülen hastalara cerrahi sonrası erken dönemde androjen blokajı veya diğer ikincil tedavi seçenekleri uygulanabilmektedir. İlk olarak Partin ve ark. tarafından, klinik evre, parmakla rektal inceleme (PRİ), prostat spesifik antijen (PSA) ve biyopsiden elde edilen Gleason skorunun (GS) değerlendirilmesi ile prognostik bir algoritma oluşturulmuştur³. Kattan ve ark. da cerrahi öncesi benzer veriler ile oluşturdukları nomogramları mevcuttur⁴. Daha sonra bu verilere patolojik evre ve cerrahi örneğin GS'nin eklenmesi ile RRP sonrası hastalığın klinik progresyonunun önceden belirlenmesine çalışılmıştır⁵. Her iki algoritmada da sadece GS'nin prostat kanserinin biyolojik potansiyelini doğrudan belirlediği belirtilmektedir. Ancak bu nomogramlarda ekstraprostatik yayılımın varlığı son derece düşük duyarlılığa sahip olan PRİ ile değerlendirilmektedir^{3,4}. Son yıllarda, erken tanı ve evrelemedeki radyolojik gelişmelere karşın, organa sınırlı prostat kanseri nedeniyle RRP uygulanan hastaların %30-45'inde patolojik olarak ekstraprostatik yayılım (pT₃) gözlenmektedir⁶. Bu nedenle prostat kanserinde cerrahi tedavi sonrası hastalık seyrinin belirlenebilmesi için yeni prognostik belirteçlere gereksinim vardır.

Onkogenler ve tümör baskılayıcı gen mutasyonları gibi genetik değişikliklerin neden olduğu tümör anjiyogenezi ve proliferasyonunun belirlenmesi bir tümörün progresyon gösterip göstermeyeceğinin önceden bilinmesi için oldukça önemlidir. Tümör anjiyogenezinin sayısal olarak hesaplanan değeri mikrodamar yoğunluğu (MDY) olarak tanımlanmaktadır. MDY, damar endoteline spesifik CD24, CD31, CD34, CD105 ve von Willebrand etken (etken VIII) gibi antikorlar kullanılarak immünohistokimyasal boyama yöntemleri ile tümörün oluşturduğu küçük ve kıvrıntılı damarların sayılması ile hesaplanmaktadır. Son yıllarda yapılan

çalışmalarda, MDY'nin meme, akciğer, kolon, mide, malin melanom, prostat ve mesane kanserlerinde ileri patolojik evre ve kötü hastalık seyriyle ilişkili olduğu belirtilmektedir⁷. Prostat kanserinde MDY'nin prognostik bir belirteç olarak araştırıldığı çalışmalarda kullanılan farklı antikorlar ve ölçüm yöntemleri nedeniyle bu konuda kesin bir sonuca varabilmek mümkün değildir. Ancak, özellikle Etken VIII ve CD105'in diğerlerine göre daha güçlü birer belirteç olabileceği belirtilmektedir⁸.

Bilinen en önemli tümör baskılayıcı genlerden biri olan p53'ün mutasyonu ve/veya delesyonu ile tümör dokusundaki anjiyogenezi ve buna bağlı neovaskülarizasyon artmaktadır. Yapılan çalışmalarda, p53 gen mutasyonunun özellikle düşük klinik evre prostat kanserinde az görülmesine karşın hastalığın progresyonunda önemli bir aşama olduğu belirtilmektedir⁹.

Bu çalışmanın amacı, RRP uygulanan hastalarda prognostik belirteç olarak bilinen klinikopatolojik parametrelerle beraber CD31, CD105 ve etken VIII antikorları kullanılarak ölçülen MDY, proliferatif indeksi gösteren Ki-67 ve p53 mutasyon varlığının hastalık seyrine olan katkılarını araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

1996-2004 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda prostat kanseri nedeniyle neoadjuvant ve/veya adjuvant ek bir tedavi verilmeden sadece RRP uygulanan hastalardan klinik ve patolojik verilerine ulaşılabilen 69 hastanın patoloji örnekleri retrospektif olarak değerlendirildi. Tüm hastaların yaş, tanı sırasındaki TPSA, sPSA, s/T PSA oranı, PSAD, TZPSAD, prostat hacmi ve klinik evresi gibi RRP öncesi verilerinin yanı sıra GS, patolojik evre, izlem süresi ve progresyon süresi gibi verileri kaydedildi. Hastaların klinik ve patolojik evrelemesi için TNM evreleme sistemi (1992) kullanıldı¹⁰. Hastalarda progresyon, ölçülebilen PSA değerinin (ender PSA) 0.2 ng/ml ve üzerinde saptanması olarak tanımlandı. Hastaların dermografik özellikleri ve tümör karakteristikleri, Tablo 1'de gösterilmektedir.

İmmünohistokimyasal inceleme: 69 hastanın %10'luk formol ile tespit edilen dokularından hazırlanan parafin bloklarından yapılan kesitler hematoxilen-eozin ile boyanarak Gleason derecelendirme sistemine göre değerlendirildi. Bu hastaların

patoloji örneklerinde p53, Ki-67 ekspresyonları ve anjiyogenezin belirlenmesi için kullanılan MDY (CD31, CD105 ve Etken VIII ile) immünohistokimyasal yöntemle araştırıldı. Boyamada streptavidin-biotin indirek üçlü yöntemi kullanıldı. Tümöre ait parafin bloktan 4 mikron kalınlığında kesitler polilizinli camlara alındıktan sonra etüvde deparafinize edildi. Ksilol ve alkolle muamele edildikten sonra endojen peroksidazı bloke etmek için %3'lük hidrojen peroksit kullanıldı. Non-immünprotein blok-lama solüsyonunda bekletilen kesitlere daha sonra primer antikor damlatılarak (p53; BP53-12, Novo-Castra, Ki-67, Ab-2 Clone MB67 NeoMarkers; CD31/PECAM Ab-1, NeoMarkers, CD105/Endoglin/TGF-beta1/3 Receptor Ab-2 Clone 105Co2, NeoMarkers, Factor VIII Related antigen Clone F8/86, NeoMarkers) oda sıcaklığında 2 saat bekletildi. Avidin-biotin kompleksi uygulanmasını takiben renk vererek görüntüyü sağlamak amacı ile AEC kullanıldı. Pozitif kontrol olarak p53 için meme kanseri, CD 105, Etken VIII ve CD 31 için piyojenik granülom ve Ki-67 için tonsil kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak primer antikor yerine PBS uygulandı. Tümör kesitlerinde immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilen Etken VIII, CD31, CD105 ile pozitif boyanan damar yapıları, p53 ve Ki-67 ekspresyonları Şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Mikrodamar yoğunluğu, Weidner ve ark. tarafından tanımlanan ışık mikroskobu ile sayım yöntemine göre hesaplandı^{11,12}. Bu yöntemle göre, küçük büyütme (x40-x100 büyütme) ile tespit edilen en fazla mikrodamar sayısının bulunduğu tümör alanındaki (hot spot) mikrodamar sayısının x200 büyütmede sayılması ile hesaplandı.

Her olguda p53 ve Ki-67 immünreaktivite yüzdesi 100 hücrede pozitif boyanmış hücre sayısı olarak hesaplandı. p53 nükleer aktivitesi gösteren

tümör hücreleri %5'den daha fazla ise pozitif olarak kabul edildi. Nükleer Ki-67 boyanma yüzdesi negatif, %1-10 arası ve %10'dan fazla olarak gruplandırıldı. Gözlem içi farkı ortadan kaldırmak için her bir olgu önceki sonuçlar bilinmeden ikinci kez aynı patoloji uzmanı tarafından değerlendirildi.

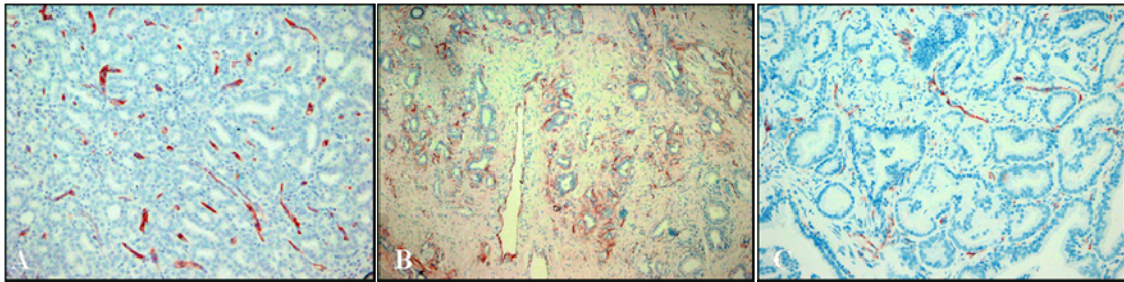
Tablo 1. Hastaların dermografik özellikleri ve tümör özellikleri	
Dermografik Özellikler	Ortalama±SD
Yaş	62,5±7,5
PSA	10,5±12,9
Hacim	40,9±15,9
FPSA	1,5±1,9
s/T PSA (%)	15,2±7,7
TZ Hacim	17,6±9,1
PSAD	0,3±0,3
TZPSAD	0,7±0,7
İzlem Süresi (ay)	37,1±16,7

SD: Standart Sapma

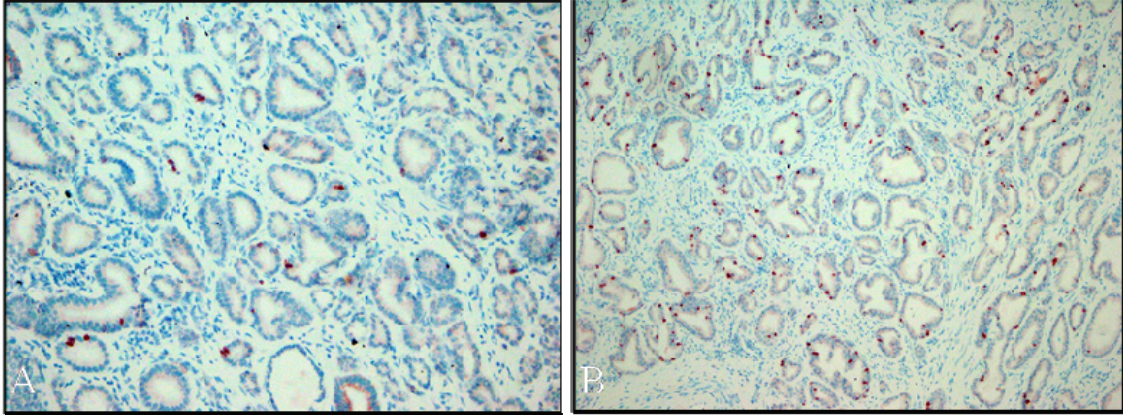
İstatistik: Hastalık progresyonuna göre verilerin analizinde Student's t test ve ki-kare testleri kullanılırken, hastalık progresyonuna etki eden etkenlerin değerlendirilmesi için çok değişkenli Cox regresyon analizi ve progresyonsuz sağkalıma etki eden etkenlerin analizi için Kaplan-Meier sağkalım analizi uygulandı. Veriler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi için Pearson ve Spearman korelasyon katsayıları kullanıldı. Anlamlılık düzeyi olarak p<0.05 kabul edildi.

BULGULAR

Ortalama takip süreleri 37 (17-106) ay olan 69 hastanın 17 (%24,6)'sinde takipleri sırasında progresyon saptandı. Progresyon gösteren hastalarda ortalama progresyona kadar geçen süre 11 (1-42) aydı. Hastaların 41 (%59,4)'i T1c klinik evre-



Şekil 1.



Şekil 2.

sine sahipti. Hastaların patolojik evreleri değerlendirildiğinde; 34 (%49.2)'ünün pT2N0M0, 35 (%50.8)'inin ise pT3N0M0 evresine sahip olduğu gözlemlendi. Ayrıca, hastaların 53 (%76.8)'ü GS2-6, 10 (14.5)'u GS7 ve 6 (%8.7)'sı GS8-10'du. Hastaların 4 (%5.7)'ünde cerrahi sınırdaki tümör tespit edildi. Bu hastaların 2 (%50)'unda takipleri sırasında progresyon gözlemlendi.

Tablo 2. Hastaların prognostik belirteç değerleri				
		Ortanca	En az	En çok
MDY	FVIII	13	2	42
	CD31	30	10	80
	CD105	18	6	80
Ki67	Boyanma Yüzdesi	(-)	%1-10	>%10
	Hasta Sayısı (%)	10 (14,5)	44 (63,8)	15 (21,7)
P53		Yok	Var	
	Hasta Sayısı (%)	66 (95,7)	3 (4,3)	

Prostat kanseri prognostik etkenlerinden MDY'nin Etken VIII, CD31 ve CD105 ile ölçülen ortanca değerleri, Ki67 boyanma yüzdesi ve p53'ün hastalara göre dağılımları Tablo 2'de görülmektedir.

Progresyon gösteren hastaların patolojik evre dağılımı progresyon göstermeyenlere göre daha ileriydi ($p<0,001$). Progresyon gösteren hastaların, 15 (%88.3)'nin pT3N0M0 tümör evresine sahip olduğu ve GS'lerine göre 9 (%53)'ünün GS 7 ve üzerinde, 8 (%47)'sinin ise GS 2-6'ya sahip oldu-

ğu gözlemlendi. Progresyon göstermeyen hastalarla gösterenlerin tüm verileri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı tek ölçütün TZPSAD olduğu saptandı ($p=0.01$).

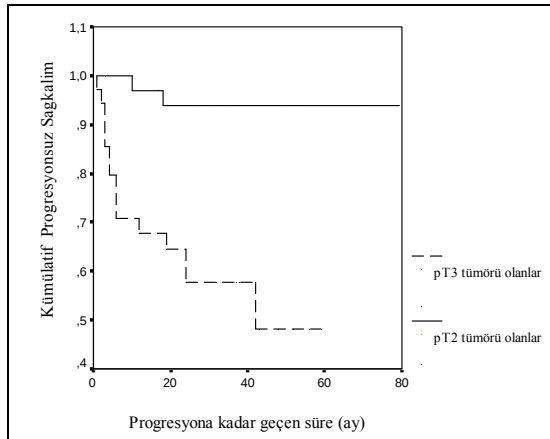
Tablo 3. Hastalık progresyonuna göre prognostik belirteçlerin kestirim değerleri kullanılarak karşılaştırılması				
	Kestirim değerleri	Progresyon Göstermeyen Hastalar n (%)	Progresyon Gösteren Hastalar n (%)	p
FVIII	<13	27 (51.9)	6 (35.3)	0.23
	≥13	25 (48.1)	11 (64.7)	
CD31	<30	25 (48.1)	7 (41.2)	0.62
	≥30	27 (51.9)	10 (58.8)	
CD105	<18	24 (46.2)	10 (58.8)	0.36
	≥18	28 (53.8)	7 (41.2)	
Ki67	Negatif	7 (13.5)	3 (17.6)	0.87
	%1-10	34 (65.4)	10 (58.8)	
	>%10	11 (21.2)	4 (23.5)	
P53	Negatif	50 (96.2)	16 (94.1)	0.72
	Pozitif	2 (3.8)	1 (5.9)	

Etken VIII, CD31 ve CD105 değerlerinin, Ki-67 boyanma yüzdesi ve p53 protein ekspresyon pozitifliğinin klinik ve patolojik evreye göre dağılımları incelendiğinde evrenin artması ile bu etkenlerin artmadığı görülmektedir ($p>0.05$). Ayrıca, mikrodamar yoğunluğu değerlerinin ortancalarının alınması ile belirlenen kestirim değerleri, Ki-67 boyanma yüzdesi ve p53 protein ekspresyon pozitifliği karşılaştırıldığında progresyon gösteren hastalar ile göstermeyenler arasında istatistiksel olarak

anlamlı fark görülmemektedir (Tablo 3). Bu ölçütler ile klinikopatolojik verilerin birlikte progresyona olan etkilerinin değerlendirildiği çok değişkenli cox regresyon analizinde ise, sadece patolojik evre, GS ve TZPSAD'nin bağımsız birer risk etkeni oldukları saptandı (Tablo 4).

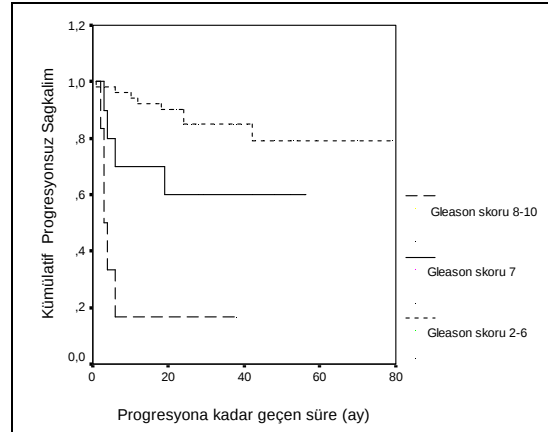
Tablo 4. Klinikopatolojik ölçütlerin çok değişkenli cox regresyon analizi ile progresyonsuz sağ kalıma olan etkilerinin değerlendirilmesi

Klinikopatolojik Ölçütler	Progresyonsuz Sağkalım	
	p değeri	OR (%95 C.I.)
PSA	0.850	0.96 (0.67-1.3)
s/TPSA (%)	0.727	0.96 (0.8-1.2)
PSAD	0.380	0.1 (0.1-6)
TZPSAD	0.01	2.1 (1.2-3.8)
Klinik evre	0.976	1 (0.3-3.5)
Patolojik evre	0.003	11.6 (2.3-59)
Gleason skoru	0.001	6 (2-17.7)
FVIII	0.289	1 (0.95-1.1)
CD31	0.121	0.9 (0.9-1)
CD105	0.390	1 (0.97-1)
Ki67	0.528	0.97 (0.88-1)
P53	0.678	0.86 (0.75-1.4)



Şekil 3. Tümör patolojik evrelerine göre progresyona kadar geçen sürenin Kaplan Meier analizi

Kaplan-Meier analizinde ise, yüksek patolojik evre (pT3 hastalar) ve yüksek Gleason skorunun (GS8-10) hastalarda progresyona kadar geçen süreyi istatistiksel olarak anlamlı derecede kısalttığı gözlemlendi ($p=0.003$, $p<0.001$, sırasıyla) (Şekil 3 ve 4).



Şekil 4. Gleason skorlarına göre progresyona kadar geçen sürenin Kaplan Meier analizi

TARTIŞMA

Son yıllarda, erken tanı ve evrelemedeki radyolojik gelişmelere karşın, organa sınırlı prostat kanseri nedeniyle RRP uygulanan hastaların %30-45'inde patolojik olarak ekstraprostatik yayılım (pT₃) gözlenmektedir⁶. Bu nedenle, kısa sürede progresyon gösterecek yüksek riskli hasta gruplarının önceden belirlenmesi ve uygun takip protokolünün oluşturulması önemlidir. Bu hastalarda cerrahi sonrası izlem politikası ve sonrasında seçilecek ikincil tedavi seçenekleri hala tartışmalıdır. Bu amaçla, Partin ve Kattan nomogramları kullanılmakta olup, sınırlı sayıdaki klinikopatolojik veri ile prostat kanserinin hastalık seyri belirlenmeye çalışılmaktadır³⁻⁵. Yapılan çalışmalarda, bu prognostik belirteçlere ilave olarak DNA ploidi, MDY, Ki-67 indeksi ve p53 geni mutasyonu gibi tümöre ait histopatolojik özelliklerin de hastalık progresyonunun önceden belirlenmesinde faydalı olabileceği belirtilmektedir¹³⁻¹⁵. Son yıllarda, MDY'nin prostat kanseri için potansiyel bir prognostik belirteç olduğu görüşü benimsenmekle birlikte, tümörün heterojenitesi, değerlendirmenin objektif olmaması, ölçümler arası güvenilirliğin oldukça düşük olması, farklı antikor ve immunohistokimyasal yöntemlerin kullanılması gibi nedenlere bağlı olarak çok farklı sonuçlar elde edilmektedir¹⁶⁻²⁰.

MDY'nin hesaplanmasında kullanılan antikorlardan hangisinin en iyi prognostik belirteç olduğu konusu tartışmalıdır. Wikström ve ark., TUR prostatektomi sonrası prostat kanseri saptanan ve dikkatli izlem protokolü uygulanan 72 hastanın tümör dokularında Etken VIII ve CD105 antikorları

ile ölçülen MDY değerlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, Etken VIII ile boyanan damar sayısını 113 (85-160) saptarken CD105 ile 28 (19-57) olarak bulmuştur. Ayrıca, hastaların sadece %34'ünde tümör dokularının her iki antikor ile boyandığı gözlenmiştir. Bunun nedeni CD105'in sadece yeni oluşan, perisiti bulunmayan ve anjiyogenezi devam eden küçük damarları boyaması ile açıklanabilir. Klinikopatolojik verilerle her iki antikor ile hesaplanan MDY değerleri karşılaştırıldığında, CD 105'in ileri GS, lokal tümör evresi ve tanıda metastaz varlığı ile, Etken 8'in ise sadece ileri GS ile ilişkili olduğu saptanmıştır. CD 105 ile hesaplanan MDY'nin özellikle GS 5-7 olan hasta grubunda progresyonsuz sağkalım için prognostik bir etken olduğu vurgulanmıştır²⁰.

Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda, genel de RRP sonrası progresyonun önceden belirlenmesi için kullanılan bu prognostik belirteçlerin, ilk tanı biyopsi materyalleri de kullanılarak progresyon üzerine olan etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Rogatsch ve ark., RRP yapılan 36 hastanın tanı biyopsileri ve RRP örnek patolojilerinde CD31 antikorunu kullanılarak ölçülen MDY'lerini karşılaştırdıklarında, hem biyopsi hem de prostatektomi materyallerindeki MDY'lerin birbirleri ile uyumlu olduğunu ve bu sayede ilk tanı biyopsisi kullanılarak patolojik evrenin öngörülebileceğini belirtmişlerdir²¹. Bunun dışında, MDY'nin tümör patolojileri dışında daha non-invaziv yöntemlerle belirlenmesini amaçlayan çalışmalar da mevcuttur. Bunlardan en ilgi çekici olanı Schlemmer ve ark., RRP yapılan 28 hastada dinamik kontrast manyetik rezonans (MR) inceleme ile MDY'yi belirlemeyi amaçladıkları ve bu değerleri CD31 ile boyanmış MDY ile karşılaştırdıkları çalışmalarıdır. Bu çalışmanın sonucunda, dinamik kontrast MR inceleme ile mikroskobik ölçümün birbiriyle korele olduğu, MR inceleme ile edinilecek verilerin alınacak biyopsiyi yönlendirebileceği ve hastaların seyri hakkında bilgi verebileceği vurgulanmaktadır²².

Bizim çalışmamızda, progresyon gösteren ve göstermeyen hastaların Etken VIII, CD31 ve CD105 antikorları kullanılarak hesaplanan MDY değerleri karşılaştırıldığında herhangi bir istatistiksel farkın bulunmadığı gözlemlendi. Bu prognostik belirteçlerin progresyon için bağımsız değişken olarak saptanamamasının sebebi muhtemelen progresyon gösteren hasta sayımızın azlığı, tümör dokusu-

nun heterojenitesi ve ölçümler arası güvenilirliğin düşük olması ile ilişkili olabilir.

p53 tümör baskılayıcı gen mutasyonları ürolojik kanserler de dahil olmak üzere bir çok kanserde en sık karşılaşılan genetik defektir. Bu mutasyon ve/veya delesyonlar, tek sarmal polimorfizm analizi, DNA dizin analizleri ve çalışmaların büyük bir kısmında uygulanabilirliği nedeni ile sık kullanılan inaktif/mutant p53 proteinlerinin immünohistokimyasal boyaması gibi çok çeşitli yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Kuczyk ve ark. yaptıkları bir çalışmada, prostat kanseri nedeni ile RRP yapılan 76 hastada immünohistokimyasal yöntem ile saptanan p53 gen mutasyonunun progresyonsuz sağkalıma olan etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, p53 boyanma yüzdesi %20'nin üzerinde olan hastalar p53 aşırı ekspresyonu pozitif olarak kabul edilmiş ve p53 aşırı ekspresyonu olan hastaların diğerlerine göre tümör progresyonu nedeni ile daha erken öldükleri saptanmıştır. Tümör histolojik derecesi, tümör evresi ve p53 aşırı ekspresyonu progresyon gösterenler ile göstermeyenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmakla beraber çok değişkenli analiz de progresyonsuz sağkalımda sadece p53 aşırı ekspresyonu bağımsız risk faktörü olarak belirtilmektedir²³. Bauer ve ark. yaptıkları çalışmalarında ise, 159 RRP olgusu p53 ekspresyonu yönünden incelendiğinde tümör patolojik evresi ve GS arttıkça p53 ekspresyonunun arttığını ve yine hastalık seyri için tek bağımsız risk etkeni olduğu belirtilmiştir²⁴. Fonseca ve ark. yaptıkları bir çalışmada, p53 ekspresyonunun düşük evre hastalarda daha az bulunduğu ve kanser gelişiminin erken dönemlerinde sekonder görev yaptığı gösterilmiştir. Bu nedenle, p53 ekspresyonunun ilerlemiş evre hastalarda saptandığı ve bu hastalarda tümör progresyonu için önemli bir risk etkeni olduğu vurgulanmıştır²⁵. Ancak, bizim çalışmamızda ise patolojik evreye göre hastaların yaklaşık yarısı ileri evre (pT3) tümöre sahip olmalarına karşın, sadece 3 (%4.3) hastada p53 protein ekspresyonunun gösterilmesi, hastaların %77'sinin iyi diferansiye (GS 2-6) tümörünün olması ile açıklanabilir.

Ki-67 bir nükleer protein olup hücre döngüsü sırasında oluşmaktadır. Ki-67 antijenine karşı oluşan monoklonal antikorun immünohistokimyasal olarak boyanması bir çok kanserde biyolojik agresiflik ve hastalık seyri ile ilişkili bulunmuştur²⁶.

Bettencourt ve ark., 180 RRP patolojik örneğinde Ki-67 proliferatif indeksini değerlendirdikleri çalışmalarında, bilinen prognostik belirteçlerden olan patolojik evre ve GS ile beraber Ki-67'nin de progresyonsuz sağkalımda bağımsız risk etkeni olduğu belirtilmektedir²⁷. Sebo ve ark. yaptıkları çalışmada ise; GS, ameliyat öncesi PSA ve klinik evrenin bulunduğu kanser progresyon modeline perinöral invazyon ve Ki-67 proliferasyon indeksinin de eklenmesi ile prostat kanserinde hastalık seyrinin daha güvenilir biçimde öngörülebileceği vurgulanmaktadır²⁸. Bizim çalışmamızda, proliferasyon belirteci olarak Ki-67'nin proliferasyon indeksi değil, boyanma yüzdesi kullanılmıştır ve hastalar boyanma yüzdesine göre negatif, %1-10 ve >%10 olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Progresyon gösteren 10 (%58) hastanın ve pT3 tümör evresi olan 22 (%62.9) hastanın Ki-67 boyanma yüzdesi %1-10 olarak saptanmıştır. Ancak Ki-67'nin hastalığın seyrinin belirlenmesine ek bir katkı sağlamadığı gözlenmiştir.

Son yıllarda bizim çalışmamızda da olduğu gibi prostat kanserinin anjiyogenez, proliferasyon ve genetik özelliklerinin beraber değerlendirildiği çalışmalar planlanarak, bu konu da kesin bir yargıya varılmak istenmektedir^{29,30}. Ancak bu çalışmalarda da farklı sonuçlar elde edilmektedir. Bizim çalışmamızda MDY'nin aynı hasta grubunda farklı antikorlar kullanılarak boyanması ile Etken VIII, CD31 ve CD105'in, Ki-67 boyanma yüzdesinin ve p53 ekspresyonunun hastalık seyrine etkileri karşılaştırılmıştır. Bu prognostik belirteçler birbirleri ile ilişkili olmalarına karşın tümör evresi ve GS dahil hiçbir klinikopatolojik ölçüt ile ilişkileri bulunamamıştır. Ayrıca yapılan çok değişkenli Cox regresyon analizinde patolojik evre, GS ve TZPSAD'nin progresyonun belirlenmesinde bağımsız risk etkeni olduğu ve progresyonsuz sağkalımı belirleyen etkenlerin patolojik evre ve GS olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, Etken VIII, CD 31 ve CD 105 antikorları kullanılarak hesaplanan MDY, Ki-67 boyanma yüzdesi ve p53 protein ekspresyonunun, RRP sonrası progresyonun önceden belirlenmesinde ek bir katkı sağlamadığı görülmüştür. Bu nedenle, patolojik evre ve GS gibi histopatolojik özelliklerin hala en iyi prognostik belirteç oldukları söylenebilir.

KAYNAKLAR

- 1- **Black R, Bray F, Ferlay J, Parkin D:** Cancer incidence and mortality in the European Union: Cancer registry data and estimates of national incidence for 1990. *Eur J Cancer*, 33: 1075-1107, 1997.
- 2- **Bray F, Sankila R, Ferlay J, Parkin D:** Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 1995. *Eur J Cancer*, 38: 99-166, 2002.
- 3- **Partin A, Kattan M, Subong E, et al:** Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathologic stage of localized prostate cancer: A multi-institutional update. *JAMA*. 277: 1445-51, 1997.
- 4- **Kattan M, Eastham J, Stapleton A, et al:** A preoperative nomogram for disease recurrence following radical prostatectomy for prostate cancer. *J Natl Cancer Inst*, 90: 766-771, 1998.
- 5- **Kattan M, Wheller T, Scardino P:** Post-operative nomogram for disease recurrence after radical prostatectomy for prostate cancer. *J Clin Oncol*, 17: 1499-1507, 1999.
- 6- **Noldus JGM, Haese A, Henke RP, Hammerer P, Hurland H:** Stage migration in clinically localized prostate cancer. *Eur Urol*, 38: 74-78, 2000.
- 7- **Craft P, Harris A:** Clinical prognostic significance of tumor angiogenesis. *Ann. Oncol.*, 5: 305, 1994.
- 8- **Brawer M:** Quantitative Microvessel Density A Staging and Prognostic Marker for Human Prostatic Carcinoma. *Cancer*. 78: 345-349, 1996.
- 9- **Shurbaji MS KJ, Thurmond TS:** Immunohistochemical detection of p53 protein as a prognostic indicator in prostate cancer. *Hum Pathol*, 26: 106-109, 1995.
- 10- **Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, Arıkan N:** Prostat kanseri. 1st ed. Ürogenital tümörler. Ankara: Güneş Kitabevi. 726-751, 1998.
- 11- **Weidner N, Semple JP, Welch WR and Folkman J:** Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. *New Engl. J. Med.*, 324: 1, 1991.
- 12- **Weidner N, Carroll P, Flax J, et al:** Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am. J. Pathol*, 143: 401-409, 1993.
- 13- **Deliveliotis C, Skolarikos A, Karayannis A, et al:** The prognostic value of p53 and DNA ploidy following radical prostatectomy. *World J Urol*. 21: 171-176, 2003.
- 14- **Inoue T, Segawa T, Shiraishi T, et al:** Androgen Receptor, Ki67, and P53 Expression in Radical Prostatectomy Specimens Predict Treatment Failure in Japanese Population. *Urology*, 66: 332-337, 2005.
- 15- **Lissbrant I, Stattin P, Damber J, et al:** Vascular Density Is a Predictor of Cancer-Specific Survival in Prostatic Carcinoma. *Prostate*. 33: 38-45, 1997.
- 16- **Gettman M, Pacelli A, Slezak J, et al:** Role of Microvessel Density in Predicting Recurrence in Pathologic Stage T3 Prostatic Adenocarcinoma. *Urology*, 54: 479-485, 1999.
- 17- **Gettman M, Bergstralh E, Blute M, et al:** Prediction of Patient Outcome in Pathologic Stage T2 Adenocarcinoma of The Prostate: Lack Of Significance For Microvessel Density Analysis. *Urology*, 51: 79-85, 1998.
- 18- **Offersen B, Borre M, Overgaard J:** Immunohistochemical determination of tumor angiogenesis measured by the maximal microvessel density in human prostate cancer. *APMIS*, 106: 463-469, 1998.

PROSTAT KANSERİNDE MİKRODAMAR YOĞUNLUĞU
(*Microvessel Density in Prostate Cancer*)

- 19- **Rubin MA, Buyyounouski M, Bagiella E, et al:** Microvessel density in prostate cancer: lack of correlation with tumor grade, pathologic stage, and clinical outcome. *Urology*, 53: 542-547, 1999.
- 20- **Wikstrom P, Lissbrant IF, Stattin P, Egevad L, Bergh A:** Endoglin (CD105) is expressed on immature blood vessels and is a marker for survival in prostate cancer Prostate, 51: 268-275, 2002.
- 21- **Rogatsch H, Hittmair A, Reissigl A, et al:** Microvessel Density in Core Biopsies of Prostatic Adenocarcinoma: A Stage Predictor? *J Pathol*, 182: 205-210, 1997.
- 22- **Schlemmer H, Merkle J, Grobholz R, et al:** Can pre-operative contrast-enhanced dynamic MR imaging for prostate cancer predict microvessel density in prostatectomy specimens? *Eur Radiol*, 14: 309-317, 2004.
- 23- **Kuczyk M, Serth J, Bokemeyer C, et al:** The prognostic value of p53 for long-term and recurrence-free survival following radical prostatectomy. *Eur J Cancer*, 34: 679-686, 1997.
- 24- **Bauer J, Sesterhenn I, Mostofi K:** p53 Nuclear Protein Expression is an Independent Prognostic Marker in Clinically Localized Prostate Cancer Patients Undergoing Radical Prostatectomy. *Clin Cancer Res*, 1: 1295-1300, 1995.
- 25- **Fonseca G, Srougi M, Moreira Leite K, et al:** The role of HER2/neu, BCL2, p53 genes and proliferating cell nuclear protein as molecular prognostic parameters in localized prostate carcinoma. *Sao Paulo Med J*, 122: 124-27, 2004.
- 26- **Brown DC, Gatter KC:** Monoclonal antibody Ki-67: Its use in histopathology. *Histopathology*, 17: 489, 1990.
- 27- **Bettencourt MC, Bauer J, Sesterhenn IA, et al:** Ki-67 Expression is a Prognostic Marker of Prostate Cancer Recurrence after Radical Prostatectomy. *J Urol*, 156: 1064-1068, 1996.
- 28- **Sebo T, Cheville J, Riehle D, et al:** Perineural Invasion and MIB-1 Positivity in Addition to Gleason Score Are Significant Preoperative Predictors of Progression After Radical Retropubic Prostatectomy for Prostate Cancer. *Am J Surg Pathol*, 26: 431-439, 2002.
- 29- **Krupski T, Petroni GR, Frierson HF, et al:** Microvessel density, p53, retinoblastoma, and chromogranin immunohistochemistry as predictors of disease-specific survival following radical prostatectomy for carcinoma of the prostate. *Urology*, 55: 743-749, 2000.
- 30- **Strohmeyer D, Rossing C, Strauss F, et al:** Tumor angiogenesis is associated with progression after radical prostatectomy in pT2/pT3 prostate cancer. *Prostate*, 42: 26-33, 2000.