

## Kolorektal Karsinomlarda p53 İmmunoreaktivitesinin Klinik ve Histopatolojik Parametreler ile ilişkisi

Nermin Karahan<sup>1</sup>, Özden Çandır<sup>2</sup>, Recep Çetin<sup>3</sup>

1 Uzm.Dr.S.Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Isparta

2 Doç.Dr.S.Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Isparta

3 Yrd.Doç.Dr.S.Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Isparta

### Özet

Kolorektal karsinomlar tümör süpresör genlerde mutasyonel inaktivasyonlar ve onkojenlerde mutasyonlar sonucu ortaya çıkarlar. Kolorektal karsinoma etyoloji ve patogenezinde bütün genetik değişikliklerin içinde en önemlilerinden birisi p53 gen değişikliğidir. Çalışmamızda >32 kolorektal adenokarsinomda p53 gen mutasyonları çalışıldı. Bunların %78 inde immunohistokimya ile p53 mutasyonu bulundu. p53 mutasyonu ile yaş, cinsiyet, tümör lokalizasyonu, evre, diferansiyasyon, lenf nodu metastazı ve uzak organ metastazı arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ancak tümör çapı ile p53 gen ekspresyonu arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** p53, kolorektal karsinoma

### The Relationship Between p53 Immunoreactivity and Clinical and Histopathological Parameters in Colorectal Carcinoma

#### Abstract

Colorectal carcinoma occurs by oncogene mutations and mutational inactivations of tumor suppressor genes. In colorectal carcinoma etiology and pathogenesis, p53 gene alteration is one of the most important of all genetic alterations. In our study, p53 gene mutations have been investigated in 32 colorectal adenocarcinomas. We found p53 mutations in 78% of them by immunohistochemistry. The relationship of mutation of p53 between age, sex, tumor localization, stage, differentiation, metastasis of lymph node and metastasis of distinct organ are not meaningful statistically. However, diameter of tumor was related to p53 gene expression statistically.

**Key Words:** p53 colorectal carcinoma

### Giriş

Kolorektal kanserler en sık rastlanan kanserler içerisinde ilk beş sıraya girerler. Kolon kanserlerinin nedeni ve patogenezinde çevresel ve genetik faktörler rol oynar. Kolorektal kanserlerin % 98 ini adenokarsinomlar oluşturur. Bütün kolorektal kanserler genetik değişiklikler göstermektedir (1,2,3). Kolon karsinogenezinde oluşan genetik değişiklik birden çok basamaktır. Genomdaki

değişikliklerin tamamının birikimi ile neoplazi oluşur (4,5). Ölümcül olmayan genetik hasarlar karsinogenezin temelini oluşturur. Tümör kitlesi genetik hataya sahip tek bir hücreden meydana gelir, Kolorektal karsinom etyopatogenezinde genetik değişiklikler içerisinde en önemli yeri p53 gen değişiklikleri oluşturur (2,4).

P53 geni, hücre proliferasyonu regülasyonunda yer alan, 17, kromo-

zoomun kısa kolunda bulunan bir tümör süpresör genidir.p53 geninin wild tipi normal fonksiyonel tiptir. Normal hücrelerde bazal seviyede yapılr.Kısa ömürlü olup, ömrü 6-20 dakikadır. Mutant tipin ömrü 3-6 saat olup immimhistokimyasal olarak dokularda saptanabilir(4,6).

Bu çalışmada, 32 primer kolorektal kanserli olguda p53 immunreaktivitesini ortaya koyarak yaş, cins, tümörün diferansiyasyon derecesi, çapı, lenf nodu metastazı, tümörün evresi, yerleşim yeri ile p53 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi göstermeyi amaçladık.

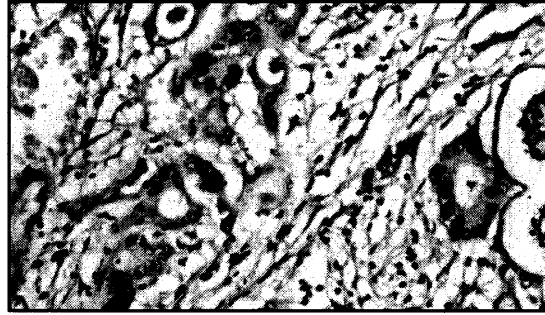
### Materyal ve Metod

1998-2001 yılları arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda primer kolo rektal karsinom tanısı almış 32 olguya ait rezeksiyon materyali çalışmaya alındı. Tüm örneklerin parafine gömülmüş ve HE ile boyanmış arşiv materyalleri tekrar incelenerek Astler-Coller sınıflamasına göre evre Her olgudan tümörü iyi temsil eden bir blok seçilerek streptavidin-biotin peroksidaz tekniği ile monoklonal anti-human p53 proteini ( Nbva castra-UK) kullanılarak immunhistokimyasal boyama yapıldı. Işık mikroskopunda p53 ekspresyonu 10 HPF de; % 0 (-X %1-9 (+X %10-50 (++X %51 in üzeri (+++) olarak kabul edildi. Ki-kare,Spearman korelasyon, Kruskal — Wallis ve Mann Whitney U testi ile değerlendirilir.

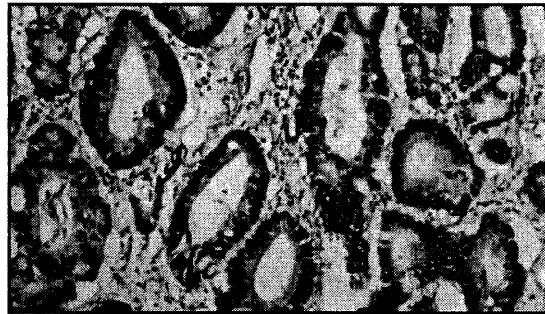
### Bulgular

32 kolorektal adenokarsinomlu olgunun 25 inde (% 78 ) p53 İmmunhistokimyasal olarak pozitif 7 sinde (%22) negatif bulundu. P53 pozitif olguların 8 inde p53 (+), 5 inde p53 (++), 12 sinde p53 (+++) idi. P53 pozitif olguların yaş

ortalamarı  $56.2 \pm 13.3$  iken, negatif olguların yaş ortalamaları  $63.86 \pm 16.18$  idi. 65 yaş altıda 21 olgunun (% 65.6) 18 inde p53 pozitif 65 yaş üzerindeki 11 olgunun 7 sinde p53 pozitif izlendi. Yaş ile p53 pozitifliği arasında anlamlı istatistiksel ilişki bulunmadı.( t: 1.503, sd:30,  $p<0.05$



Resim: Kolon adenokarsinomunda (+) nükleer p53 ekspresyonu gösteren tümör hücreleri HEx200.



Resim 2: Kolon adenokarsinomunda (+++) nükleer p53 ekspresyonu gösteren tümör hücreleri HEx400.

Olguların 20 si erkek, 12 si kadın olup yaş ortalaması 57.9, kadınların yaş ortalaması 56.5 idi. Erkeklerin 14 ünde (%43.7), kadınların 11 in de (% 34.4) p53 pozitifliği görüldü. P53 pozitifliği ile olguların cinsiyeti ve yaş ortalamaları arasında istatistiksel korelasyon saptanmadı.(r:0.25 Spearman korelasyon testi).

Tümörün lokalizasyonu ile p53 pozitifliği araştırıldığında, 25 olguda (%78.1) tümör sol kolonda, 7 olguda (% 21.9) sağ kolonda lokalize idi. Sağ kolonda lokalize

7 olgunun 2 sinde (% 28.57) p53 negatif 5 inde (% 71.43) p53 pozitif saptandı. Sol kolonda lokalize 25 tfenörlü olgunun 5 inde (% 20) p53 negatif 20 sinde (% 80) p53 pozitif bulundu. P53 pozitifliği ile tümörün lokalizasyonu arasında istatistiksel ilişki saptanmadı.(p< 0.05)

Tümörün büyük çapı 5 cm den küçük olan 13 olgudan 6 smda (% 46.15) p53 negatif 7 sinde (% 53.85) p53 reaktivitesi izlendi. Tümör çapı 5 cm den büyük 19 olgudan 1 inde (% 5.26) p53 negatif; 18 inde (% 94.74) p53 pozitif bulundu. İstatistiksel olarak bu değerler anlamlı bulundu.(p: 0.006) Buna göre; p53 pozitif olguların 5 on den büyük tümörler olduğu görüldü (Tablo 1).

Tümörün evresi ile p53 immunreaktivitesini araştırdığımızda; evre Bı 4 olgunun tümünde (% 100) p53 poitifliği görüldü. Evre 62 15 olgunun 3 ünde (% 20) p53 negatif 12 sinde (% 80) p53 pozitif bulundu. Evre Q 5 olgudan 3 ünde (% 60) p53 n^ati^ 2 sinde (% 40) p53 pozitif izlendi Evre Q 8 olgudan 1 inde (%12.50) p53 negatif 7 sinde (%87.50) p53 pozitif bulundu. İstatistiksel olarak tümörün evresi ile p53 pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı. (X2F:0.018, p<0.05).

Tablo 1:Tümör çapı ile p53 ekspresyonu arasındaki ilişki

Tümörün büyük çapı	p53		Toplam
	negatif	pozitif	
< 5 cm	6	7	13
> 5 cm	1	18	19

olgunun 4 ünde (% 16) p53 negatif inde (%84) p53 pozitif orta derecede diferansiye 4 olgunun ikisinde (%50) p53 pozitif 2 sinde (%50) negatif bulundu. Kötü

diferansiye 3 olgunun 1 inde (%33.3) p53 negatif 2 sinde (% 66.6) p53 pozitif bulundu. Tümör diferansiyasyonu ile p53 pozitifliği arasında ilişki saptanmadı.(X2F: 0.180, p< 0.05)

Lenf nodu metastazı olan 13 olgunun 4 ünde p53 negatif 9 unda p53 pozitif bulundu. Lenf nodu metastazı olmayan 19 olgunun 3 ünde p53 negatif 16 anda p53 pozitif bulundu. Bulgular istatistiksel olarak anlamlı depdi.(X2F:0.291, p<0.05).

### Tartışma

P53 proteini normalde, hücrelerin hücre suçlusuna girmesinin düzenlenmesinde, DNA sentezi ile onarımında ve programlı hücre ölümünde rol oynar.Fizyolojik şartlarda bazal seviyede inaktif halde bulunan p53, çeşitli stress koşullarında hızla aktive olur. Hücre siklusunu GI aşamasında bloke ederek büyümeyi durdurur ve DNA tamir genlerini akdve eder. Böylece yaratılan zamanda meydana gelen hasarın tamirini sağlar ve siklusu kaldığı aşamadan devam ettirir.zara görmüş DNA sı olan ve bunu tamir edemeyen hücre p53 tarafından apoptoza gönderilir.Bu aktivitesinden dolayı p53 e genom gardiyanı denir(2,5,6,7,8,9). P53 genindeki değişiklikler insan tümörlerinde en sık rastlanan genetik değişikliktir (2,18). Normal fonksiyon gören p53 geni tümör oluşumunu baskılar (6, 7, 8). Ancak p53 geninin mutasyona uğramış tümör baskılayıcı gen olma özelliğini kaybetmiş olan formu anormal hücre büyümesi ve sonuçta tümöral olsuma yol açar.Kolorektal karsinom etyopatogenezinde en önemli yeri p53 gen d e ğ i ş i k l i k l e r i tutmaktadır(2,3,10,11,13,21,22).

Kolon, akciğer, mesane, meme, karaciğer, özoagus, deri, över karsinom-

lannda yumuşak doku ve osteojenik sarkomlarda ayrıca lenfoma ve lösemilerde p53 gen mutasyonu sık görülmektedir(18). Baş boyun bölgesindeki mukoza! skuamöz hücreli karsinomlarda %34, mide karsinomlarında % 66, meme karsinom lannda % 23-46, mesane karsinomlannda % 24-87 gibi yüksek oranlarda p53 immunreaktivitesi bildirilmektedir(8,14,15,16,18).

Solid tümörlerde p53 gen mutasyonu en sık kolorektal kanserlerde görülmektedir.Kolorektal karsinomlarda p53 gen mutasyonu hastalığın prognozunu yansıtmada önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir(17,18,20,25).

Kolorektal tümörlerde p53 gen mutasyonu % 12.5 - 100 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (17,18,19,20,22,23,25,26). Biz bu çalışmamızda p53 immunreaktivitesini % 78 oranında bulduk. Hamelin ve arkadaşları 85 hastayı kapsayan bir çalışmada p53 gen mutasyonunu % 52 oranında saptarken, Ayhan ve arkadaşları % 47 oranında mutant p53 protein varlığı tespit etmişlerdir(23, 26). Kolorektal karsinomlu olgularda en düşük p53 gen mutasyon oranını Lin ve arkadaşları % 14.3 olarak tespit etmişlerdir (12,26).

Literatürde p53 gen değişiklikleri ile cinsiyet ve yaş arasındaki ilişki oldukça ilâzla araştırılmıştır(76,77,81). Olgularımızda cinsiyet ile p53 pozitifliği arasında istatistiksel bir ilişki saptanmadı. Bu bulgumuz literatürle uyum göstermekte ve cinsiyetin p53 gen değişikliğini etkilemediğini düşünmekteyiz.

Yaş kolorektal karsinom prognozunda etkili aktörlerden birisidir.özellikle 60 yaş üstündeki olgularda prognoz daha kötüdür. Araştırmamız da 65 yaş üstü ve altındaki hastalarda p53 pozitifliği açısından istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı. Bu bulgumuz literatürle uyumlu olup yaş faktörünün p53 gen

değişikliği üzerinde etkisi olmadığını düşündürmektedir (76,77,78).

Tümörün diferansiyasyon derecesi ile p53 gen mutasyonu arasındaki ilişkinin araştırıldığı yayınlarda p53 gen mutasyonunun iyi diferansiye tümörlerde kötü diferansiye olanlara göre daha sık görüldüğü bildirilmektedir (23,24,25). Fakat Hamelin ve Ayhan yaptıkları iki ayrı çalışmada tümör diferansiyasyonu ile p53 gen mutasyonu arasında ilişki bulamadıklarını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da iyi ve kötü diferansiye tümörler arasında p53 pozitifliği açısından anlamlı bir farklılık yoktu (23,26).

Tümörün büyüklüğü ile p53 pozitifliği arasındaki ilişkiyi araştırdığımızda 5 cm den küçük olgularda p53 pozitifliğini % 53.85 oranında bulduk.5 cm den büyük tümörlerde ise P53 pozitifliği % 94.74 idi. Tümör büyüklüğü ile p53 immunreaktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptadık (p>0.05).

Tümörün yerleşim yeri ile p53 arasındaki ilişki bir çok araştırmaya konu olmuştur.

Remvikas ve arkadaşları, Manuel Diaz ve arkadaşları Hamelin ve arkadaşları yaptıkları araştırmalarda distal kolon tümörlerinde, proksimal kolon tümörlerine göre daha yüksek oranda p53 pozitifliği saptamışlardır (12,17,23). Biz çalışmamızda anlamlı bir farklılık görmedik.

Bu çalışmada kolorektal adenokarsinomlu olgularda, p53 gen ekspresyonunun hastanın yaşı, cinsiyeti, tümörün yerleşim yeri, tümörün evresi, tümörün diferansiyasyonu, lenf nodu metastazı, uzak organ metastazı ile ilgili olmadığı, tümörün çapı ile olan ilişkinin ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı.

**Yazışma Adresi:**

Dr Nermin Karahan  
SDÜ Tıp Fakültesi Patoloji AD  
Isparta

**Kaynaklar**

1. Bekar E. Kolorektal tümörlerde prognostik faktörlerin yaşam süreleriyle ilişkisi *Türkiye Ekopatoloji Dergisi* 2000;6:5-11
2. Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. 6<sup>th</sup>

*Ed, Philadelphia, 1999.*

3. Rosai J. *Ackerman's Surgical Pathology*. 4<sup>th</sup> Ed, New York 1996.

4. Ören M. Regulation of the p53 tumor suppressor protein. *The Journal of Biological Chemistry* 1999;51:36031-4.

5. Kaelin WG. The Emerging p53 gene-family. *Journal of National Cancer Institute* 1999;

6. Levine JA. P53, the cellular gatekeeper for growth and division