

Lokalize Mide Kanseri Nedeniyle Adjuvan Kemoradyoterapi Uygulanan Hastalarda p53 Ekspresyonun Prognostik Önemi

Prognostic Importance of p53 Expression in Patients with Localized Gastric Cancer Who Had Adjuvant Chemoradiotherapy

Duriye ÖZTÜRK¹, Mustafa YILDIRIM², Evrim DUMAN¹, Arsenal Sezgin ALİKANOĞLU³,

Ayşe YILDIRIM⁴, Mustafa YILDIZ², Cem SEZER³

¹Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Radyoloji Kliniği, Antalya

²Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Kliniği, Antalya

³Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, Antalya

⁴Özel Sante Onkoloji Merkezi, Radyasyon Onkolojisi, Antalya

Geliş Tarihi / Received: 28.06.2012

Kabul Tarihi / Accepted: 11.07.2012

ÖZET

Amaç: Günümüzde mide kanserinde postoperatif yaklaşımda standart tedavi 5FU bazlı kemoterapi ve eş zamanlı 45 Gy eksternal radyoterapidir. Bu tedavinin yüksek toksisite oranları hastaların büyük çoğunluğunun tedavisinde kesintiye sebep olmaktadır. Tanı sırasında saptanabilen bazı klinik ve laboratuvar parametreleri kullanılarak; tedaviye yanıtının tahmin edilmesi ile bu yan etkilerden kaçınılabilir. Çalışmamızda mide kanseri nedeniyle adjuvan kemoradyoterapi uyguladığımız hastalarda p53 ekspresyonunun prognostik ve varsa prediktif rolü araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: 2008-2011 yılları arasında Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Onkoloji ve yerel Radyasyon Onkolojisi kliniklerinde postoperatif histopatolojik olarak tanısı doğrulanmış adjuvan kemoradyoterapi almış olan hastalar çalışmaya dahil edildi. p53 ekspresyonu immünohistokimya ile araştırıldı.

Bulgular: Çalışmaya 11'i (%52,4) erkek, 9'u (%42,9) kadın olmak üzere toplam 20 hasta alındı. p53 ekspresyonu 13 hastada (%61,9) hastada pozitif olarak saptanırken 7 hastada (%33,3) negatif olarak saptandı. Hastaların medyan yaşam süresi p53 negatiflerde 12.2 ay, p53 pozitif olanlarda 11 ay olarak saptandı. p53 ekspresyonu ile sağkalım arasında ilişki tespit edilemedi (P:0,781).

Sonuç: Çalışmamızda p53 ekspresyonunun bu hasta grubunda prediktif rolünü gösterememize rağmen hasta serum örneklerinde p53'ün tespit edilmesini de içeren yeni çalışmaların bu konudaki bilinmeyenleri aydınlatcağını düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Mide kanseri; kemoradyoterapi; p53.

Yazışma ve tıpkı basım için iletişim: Dr.Mustafa Yıldırım
Adres: Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Onkoloji Kliniği
Varlık mahallesi Kazım Karabekir cad. Soğuksu, 07050 Antalya
Fax: +90242 2494402
e-mail: mustafayildirim7@yahoo.com

ABSTRACT

Objective: The postoperative standard therapy in gastric cancer is 5FU based chemotherapy and concurrent 45 Gy external radiotherapy, nowadays. The high rates of toxicity of this therapy causes discontinuity in majority of the patients. These side effects can be prevented by predicting the response to therapy by the help of some specific clinical and laboratory parameters determined at the time of diagnosis. In our study the prognostic and -if there is - the predictive role of p53 expression in patients with gastric cancer who had adjuvant chemotherapy has been searched.

Material and Methods: Patients with a postoperative histopathologic diagnosis and who had adjuvant chemoradiotherapy in Medical Oncology and local Radiation Oncology Departments of Antalya Education and Research Hospital between 2008-2011 were enrolled in this study. p53 expression was searched by immunohistochemical method.

Results: A total of 20 patients, (11 (%52,4) male and 9 (%42,9) female) were enrolled in the study. p53 expression was found positive in 13 (%61,9) patients and negative in 7 (%33,3) patients. Median survival time was found 12.2 months in p53 negative patients and 11 months in p53 positive patients. A significant relationship was not found between p53 expression and survival. (P:0,781).

Conclusion: Although we were not able to show the predictive role of p53 expression in this patient group in this study, we think that new studies including determining p53 in blood samples will be helpful in explaining some unknown things about this issue.

Keywords: Gastric cancer; chemoradiotherapy; p53.

Bu çalışma 10. Ulusal Radyasyon Onkolojisi Kongresinde poster bildirisi olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Mide kanseri dünya genelinde sık görülen kanserlerden birisidir (1). Yeni kanser olgularının yaklaşık %9.9'unu oluşturur ve kanser nedenli ölümlerde ikinci sırada yer almaktadır (2). Mide kanseri hastalığın tespit edilmesiyle birlikte hızlı ilerleyen bir hastalıktır. Japonyada ileri evre mide kanseri; peritoneal, karaciğer veya yaygın lenf nodu metastazında 5 yıllık sağkalım %10'un altındadır (3). Diğer taraftan erken evre, serozaya kadar invazyonu olan T3 tümörlerde 5 yıllık sağkalım oranı %30-60 arasındadır(4).

Mide kanserinde küratif tedavi cerrahidir. Standart tedavi, rezektable gastrik adenokarsinomali hastalarda cerrahi sınır negatif olarak en az 15 lenf nodu çıkararak D1 diseksiyon yapılmasıdır (5).

Günümüzde mide kanserinde postoperatif yaklaşımda standart tedavi 5FU bazlı kemoterapi ve eş zamanlı 45 Gy radyoterapidir (6). Bu tedavinin yüksek toksisite oranları sebebiyle hastaların büyük çoğunluğunun tedavisinde kesintiye sebep olmaktadır (7). Tanı sırasında saptanabilen belirli klinik ve laboratuvar parametreleri ile hastaların bu tedaviye yanıtının tahmin edilmesi ile bu yan etkilerden kaçınılabilmektedir. p53 bir tümör süpresör genidir. Malignitelerin çoğunda mutasyonu gösterilmiştir ve genom bekçisi olarak da adlandırılmaktadır. Yapılan birkaç çalışmada mide kanserli hastalarda p53 proteinin fazla salınımının kötü prognostik bir faktör olduğu gösterilmiştir (8).

Çalışmamızda mide kanseri nedeniyle adjuvan kemoradyoterapi uyguladığımız hastalarda p53 ekspresyonunun prognostik ve varsa prediktif rolü araştırıldı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hasta Grubu

2008-2011 yılları arasında Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Onkoloji ve yerel Radyasyon Onkolojisi kliniklerinde postoperatif histopatolojik olarak tanısı doğrulanmış lokalize mide kanseri tanısıyla başvuran, performans durumu ECOG 0-2 olan, objektif olarak ölçülebilir hastalığı olan, yeteri kadar kemik iliği rezervi bulunan, normal hepatik ve renal fonksiyonu olan hastalar dahil edildi. Hasta dosyalarından geriye dönük taranarak hastalığın evresi ve almış olduğu tedavi bilgileri elde edildi.

İmmünohistokimyasal İncelemeler

Cerrahi veya endoskopi sonrası elde edilen tümör örnekleri işlemde hemen sonra %10 formaldehit içinde fiske edildi. Fiksasyon sonrası tümör örnekleri parafine gömüldü. Parafin bloklar 4 µm kalınlığında kesildi ve ilk olarak hemotoksilen ve eozin ile boyanarak değerlendirildi.

Kesitler etüvde 60°C de 1 saat deparafinize edildi. Daha sonra ksilende 10 dakika, %100'lük alkolde 5 dakika bekletildi ve su ile yıkandı. Lamlar %10'luk sitratla tamponlanmış solüsyon içinde mikrodalgada maksimum güçte (800 watt) 15 dakika bekletildi. Daha sonra güç yarıya düşürülerek 20 dakika daha mikrodalgada bekletildi. Mikrodalgadan çıkarılan lamlar oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Endojen peroksidaz aktivitesi %3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika bekletilerek giderildi. Distile su ile yıkanan lamlar 3x5 PBS ile muamele edildikten sonra üzerlerine protein blokajı damlatıldı. Beş dakika sonra blokaj yıkanmadan lamların üzerine p53, bcl-2 antikoru damlatıldı. Primer antikorda 30 dakika bekletildikten sonra PBS'e alınarak 5 dakika yıkandı. Daha sonra biyotinlenmiş sekonder antikor ile 20 dakika muamele edildi ve PBS'te 5 dakika yıkandı. Peroksidaz konjuge antikor ile 20 dakika bekletildi. Daha sonra 5 dakika PBS'te yıkandı. Kromojende (DAB) 5 dakika bekletildi. Musluk suyu altında yıkanan lamlar hematoksilen ile karşıt boyama yapıldı. Dehidrate edildi, kurutuldu ve entellan ile kapatıldı.

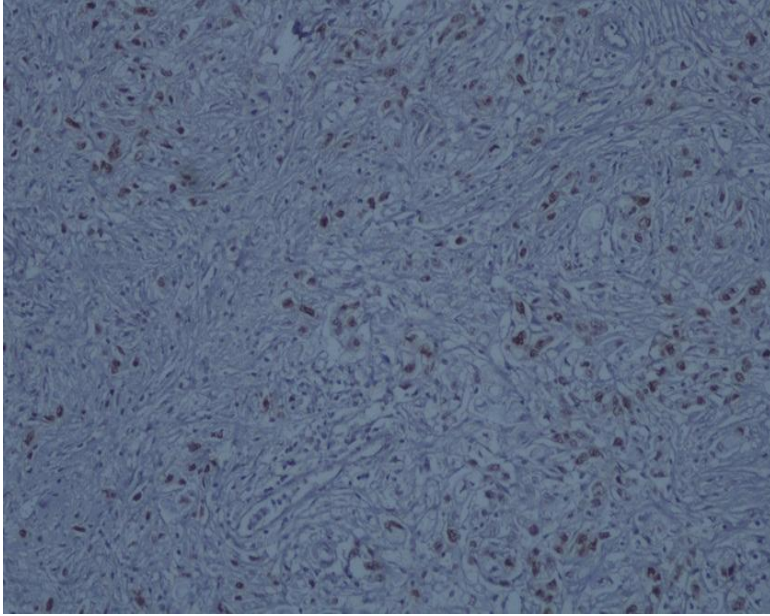
Örneklerin boyanmasında p53 proteini, liyofilize fare monoklonal antikoru (clone BP53;12, 1:100, İnvitrogen, Carmennillo, Kanada) kullanıldı.

İmmünohistokimyasal skora

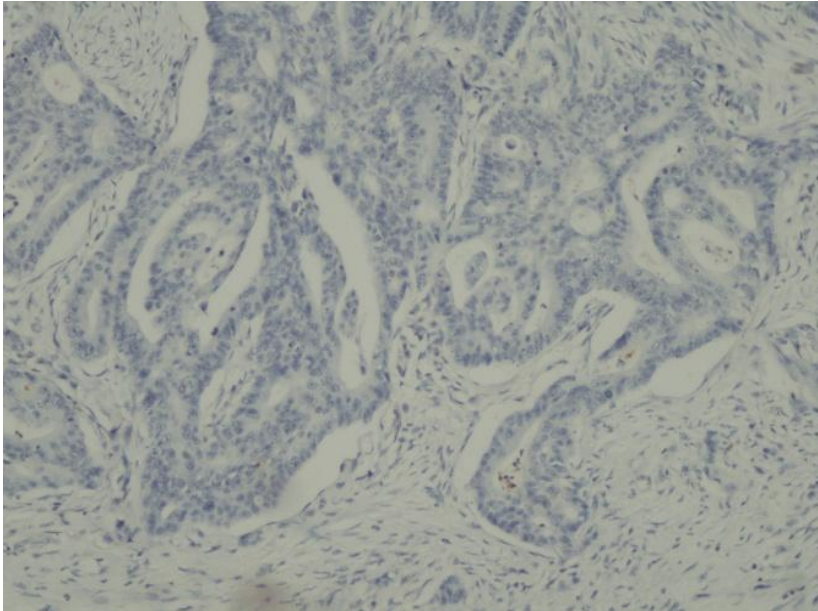
Örneklerde yüksek oranda ekspresyon gösteriyorsa düşük güçteki büyütme ile değerlendirildi. Düşük ekspresyon veya negatif sonuçlar ise yüksek güçteki büyütme ile incelendi. Örneklerdeki pozitif tümör hücrelerinin ekspresyon oranları hastaların klinik özelliklerini bilmeyen iki farklı patalog tarafından değerlendirildi. p53 ekspresyonu hücrelerin nükleer boyanmasına göre değerlendirildi. Örneklerde %10'dan fazla boyanma pozitif olarak değerlendirildi. Örneklerdeki %10 ve daha az boyanma negatif olarak değerlendirildi(Şekill,II).

Mide Kanserinde Kemoradyoterapi
Chemoradiotherapy In Gastric Cancer

Şekil I. p53 pozitif hücreler.



Şekil II. p53 negatif hücreler.



Tedavi

Total veya subtotal gastrektomi uygulanmış T2-4, N0-3 mide kanseri tanılı hastalara adjuvan kemoradyoterapi Intergroup 0116 çalışma protokolüne göre uygulandı. Hastalara 1,2, 3 ve 4. siklularda

Lökovorin 20 mg/m² 1-5. günler ve 5FU 425 mg/m² 1-5. günlerden oluşan kemoterapi kombinasyonu 28 günde bir uygulanırken 2. siklusta RT eş zamanlı Lökovorin 20 mg/m² 1-4 ve 31-33. günlerde ve 5FU 400 mg/m² 1-4 ve 31-33. günlerde uygulandı.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz SPSS 13.0 yazılım programı kullanılarak yapıldı. Kaplan Meier sağkalım analizi ile immünohistokimyasal pozitif ve negatif sonuçların her birinin sağkalımla ilişkisi araştırıldı. İstatistiksel farklar Log-rank testi ile doğrulandı. Anlamlı p değeri <0,05 olarak kabul edildi.

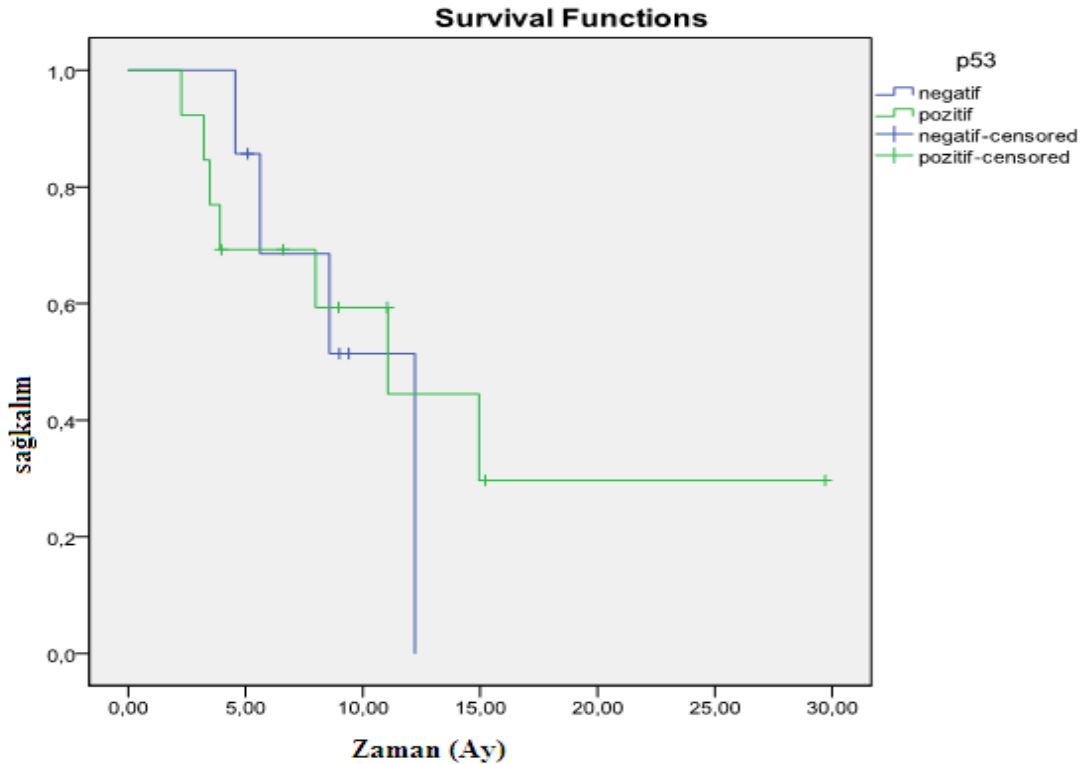
BULGULAR

Çalışmaya 11'i (%52,4) erkek, 9'u (%42,9) kadın olmak üzere toplam 20 hasta alındı. Hastaların ortalama yaşı 59,8 olarak tespit edildi. (Tablo I) Hastaların üçünde komorbid hastalık tespit edildi. Bu hastalarda 2'sinde aterosklerotik kalp hastalığı, 1 hastada ise diyabet ve hipertansiyon birlikteliği mevcuttu. Hastaların en sık başvuru semptomu 8 hastada (%38,1) saptanan karın ağrısı iken bunu 6 hastada saptanan kilo kaybı şikayeti takip ediyordu. Hastaların 4'üne

total gastrektomi, kalan 16 hastaya subtotal gastrektomi uygulandı ve hastaların hepsinde R0 rezeksiyon elde edildi. Hastaların 2'sinde T2, 13'ünde T3 ve 5'inde T4 hastalık tespit edildi. Bölgesel lenf nodu metastazına göre değerlendirildiğinde; 6 hastada N1, 3 hastada N2, 7 hastada N3 hastalık mevcuttu. Bölgesel lenf nodu tutulumu olmayan 4 hasta vardı.

p53 ekspresyonu 13 hastada (%61,9) hastada pozitif, 7 hastada (%33,3) negatif olarak saptandı. p53 ekspresyonu ile T evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmedi (p: 0,409). Hastaların medyan yaşam süresi p53 negatiflerde 12,2 ay, p53 pozitif olanlarda 11 ay olarak saptandı. p53 ekspresyonu ile sağkalım arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilemedi (p:0,781). (Şekil III)

Şekil III. p53 durumuna göre sağkalım grafiği.



Tablo I. Hastaların genel özellikleri

	Ortalama ± Standart Sapma	Medyan
YAŞ	59.8±7.8	61
AST (U/L)	22.9±9.5	18.5
ALT (U/L)	25.5±18.4	19
LDH (U/L)	199.3±65.5	178.5
WBC (10 ³ /mm ³)	8.1±2.7	7.8
HGB (g/dl)	11.1±2.7	12
PLT (10 ³ /mm ³)	317.8±148.7	302
BUN(mg/dl)	17.8±4.7	18.5
CRE (mg/dl)	0.6±0.2	0.7
CEA (ng/ml)	203.6±220.4	131.5
CA 19.9 (U/ml)	931.2±2497	126

TARTIŞMA

p53 geni hücre siklusunun regülasyonunda, DNA tamirinde, apoptoziste rol alır ve mutasyonu birçok malignitede gösterilmiştir. İyi diferansiye mide kanseri hastalarının erken ve ileri evrelerinde %40 oranında p53 mutasyonu gösterilmiştir. Kötü diferansiye mide kanserlerinde ise erken dönemde tespit edilmez iken ileri evre hastalarda iyi diferansiye mide kanserine benzer oranda tespit edilmektedir (9).

p53 ile mide kanserinin biyolojik davranışı arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların sonuçları çelişkilidir (4). Bazı çalışmalarda p53 aşırı salınımı ile lenf nodu metastazı ilişkisi ve sağkalımın düşmesi sonucu gösterilmiş iken, bazı çalışmalarda bunun tam tersi sonuçlara ulaşılmıştır (10-12). Song ve ark. (13) lokal ileri mide

kanserli hastalarda p53 aşırı salınımı olan grupta sağkalımın daha iyi olduğunu göstermişlerdir. Diğer bir apopitotik belirteç olan survivin ile sağkalımın kötü prognozla ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir.

p53 ekspresyonunun tümör hücrelerini kemoterapiye ve radyoterapiye daha hassas hale getirdiği öne sürülmüştür (14). Çalışmamızda ise adjuvan kemoradyoterapi alan hastalarda p53 ekspresyonunun sağkalımla ilişkisiz olduğunu saptadık.

Tsujitani ve ark. (4) 105 T3 gastrik karsinomlu hastada yaptıkları çalışmada postoperatif 1 yıl UFT kullanımıyla p5, p21, Bax, Mcl-1 genlerinin ekspresyonları arasında sağkalım arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. p35, p21, Bax, Mcl-1 sırasıyla %63.8, %52.4, %39, %72.4 oranında eksprese edildiğini tespit etmişlerdir. p53 ve Bax pozitif ve negatif olanlar arasında sağkalım farkı yok iken, Mcl-1 negatif olanlarda sağkalım daha uzun olduğunu göstermişlerdir. UFT'nin postoperatif tedavide sağkalıma avantajı olamamasına rağmen p53(-), p21 (-), Bax (+), Mcl-1 (+) olanlarda sağkalımı uzattığını öne sürmüşlerdir.

Zhang ve ark. (11) neoadjuvan kemoterapi alan mide karsinomlu hastalarda tümör dokusunda immünohistokimya ile ve serumlarında ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ile p53 ekspresyonunu araştırmışlardır. Hastaların %58.7'sinde tümör dokusunda ve %63'ünde ise serumlarında p53 ekspresyonunu tespit etmişlerdir.

Hundahl ve ark. (15) adjuvan kemoradyoterapi uygulanan mide kanserli hastaların sağkalımına etki eden faktörleri araştırdıkları çalışmalarında bölgesel lenf nodu metastazının bağımsız prognostik bir faktör olduğunu göstermişlerdir. Diseksiyon genişliği, T evresi gibi diğer patolojik faktörlerle prognoz arasında ilişki tespit etmemişlerdir. Sirak ve ark. (16) çalışmasında da çalışmamıza preoperatif kemoradyoterapiye yanıtı predikte etmede p53, p21 ve p16 ekspresyonlarının araştırıldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada preoperatif kemoradyoterapi alan hastalarda p53, p21 ve p16 ekspresyonlarının tedaviye yanıtla ilişkisinin olmadığı saptanmıştır. Özofagus kanserinde de eşzamanlı kemoradyoterapiye yanıt ile p53 ekspresyonu arasında ilişki tespit edilmemiştir (17).

Mide kanserinde uygulanan adjuvan kemoradyoterapi; hastalığın lokalizasyonu ve risk altındaki kritik organların hassasiyeti nedeniyle yan etkilerle sonuçlanabilecek bir tedavi yöntemidir. Tedavi komplikasyonlarından bir derece de olsa kaçınmak için tedaviye yanıtı predikte eden faktörlerin tespit edilmesi hasta seçiminde önemlidir. Çalışmamızda p53 ekspresyonunun bu hasta grubunda prediktif rolünü gösterememize rağmen hasta serum örneklerinde de p53'ün tespit edilmesini içeren yeni çalışmaların bu konudaki bilinmeyenleri aydınlatacağını düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

1. Catalano V, Labianca R, Bretta GD, et al. Gastric Cancer 2009;71(2):127-64.
2. Parkin D, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global Cancer Statistics 2002. CA Cancer J Clin 2005;55:74-108.
3. Nakamura K, Ueyama T, Xuan ZX, et al. Pathology and Prognosis of Gastric Carcinoma. Findings in 10,000 Patients Who Underwent Primary Gastrectomy. Cancer 1992;70:1030-7.
4. Tsujitani S, Saito H, Wakatsuki T, et al. Relationship Between Expression of Apoptosis-Related Proteins and the Efficacy of Postoperative Chemotherapy in Patients with T3 Gastric Cancer. Surg Today 2012;42(3):225-32.
5. Rajdev L. Treatment Options for Surgically Resectable Gastric Cancer. Current Treatment Options in Oncology 2010;11(1-2):13-23.
6. Macdonald JS, Smalley S, Benedetti J, et al. Chemoradiotherapy After Surgery Compared with Surgery Alone for Adenocarcinoma of the Stomach or Gastroesophageal Junction. N Eng J Med 2001;345(10):725-30.
7. Sakuramoto S, Yamashita K, Watanabe M. Newly Emerging Standard Chemotherapies for Gastric Cancer and Clinical Potential in Elderly Patients. World J Gastrointestinal Oncol 2009;1(1):47-54.
8. Starzynska T, Bromley M, Ghosh A, Stern PL. Prognostic Significance of p53 Overexpression in Gastric and Colorectal Carcinoma. Br J Cancer 1992;66(3):558-62.

Mide kanserinde kemoradyoterapi
Chemoradiotherapy in gastric cancer

9. Kerns BJ, Jordan PA, Moore MB, et al. p53 Overexpression in Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Tissue Detected by Immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 1992;40(7):1047-51.
10. Radovanović D, Knezević M, Canović D, Aćimović L. Correlation between p53 Expression and Clinical-Pathological Characteristics of Gastric Cancer. *Vojnosanit Pregl* 2011;68(10):832-6.
11. Zhang J, He XH, Xie XY, Hu X, He C. The Potential for Serum p53 to Predict the Response to Chemotherapy of Patients with Gastric Cancer. *J Int Med Res* 2010;38(2):423-31.
12. Lim MS, Lee HW, Im H, et al. Predictable Factors for Lymph Node Metastasis in Early Gastric Cancer-Analysis of Single Institutional Experience. *J Gastrointest Surg* 2011;15(10):1783-8.
13. Song KY, Jung CK, Park WS, Park CH. Expression of the Antiapoptosis Gene Survivin Predicts Poor Prognosis of Stage III Gastric Adenocarcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 2009;39(5):290-6.
14. Chen GX, Zheng LH, Liu SY, He XH. rAd-p53 Enhances the Sensitivity of Human Gastric Cancer Cells to Chemotherapy. *World J Gastroenterol* 2011;17(38):4289-97.
15. Hundahl SA, Macdonald JS, Benedetti J, Fitzsimmons T; Southwest Oncology Group and the Gastric Intergroup. Surgical Treatment Variation in a Prospective, Randomized Trial of Chemoradiotherapy in Gastric Cancer: the Effect of Undertreatment. *Ann Surg Oncol* 2002;9(3):278-86.
16. Sirak I, Petera J, Hatlova J, et al. Expression of p53, p21 and p16 Does not Correlate with Response to Preoperative Chemoradiation in Gastric Carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2009;56(93):1213-8.
17. Ito T, Kaneko K, Makino R, et al. Prognostic Value of p53 Mutations in Patients with Locally Advanced Esophageal Carcinoma Treated with Definitive Chemoradiotherapy. *J Gastroenterol* 2001;36(5):303-11.