

Gestasyonel Trofoblastik Hastalıkların Ayrılcı Tanısında İmmünohistokimyasal p57 Ekspresyonunun Rolü

The Role of Immunohistochemical p57 Expression in the Differential Diagnosis of Gestational Trophoblastic Diseases

İbrahim GÜLHAN,^a
Güliden DİNİZ,^b
Dudu SOLAKOĞLU KAHRAMAN,^b
Tuğba KARADENİZ,^b
Mehmet GÖKÇÜ,^a
Ulaş SOLMAZ,^a
Mustafa KOCAER,^a
Muzaffer SANCI^a

^aJinekolojik Onkoloji Kliniği,
^bPatoloji Kliniği,
İzmir Tepecik Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
İzmir

Geliş Tarihi/Received: 20.03.2017
Kabul Tarihi/Accepted: 11.05.2017

Yazışma Adresi/Correspondence:
İbrahim GÜLHAN
İzmir Tepecik Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
Jinekolojik Onkoloji Kliniği, İzmir,
TÜRKİYE/TURKEY
drigulhan@yahoo.com

ÖZET Amaç: Gestasyonel trofoblastik hastalıkların (GTH) ayrılcı tanısında, immünohistokimyasal p57 ekspresyonunun komplet molü parsiyel molde, parsiyel molü hidropik abortus ve normal gebelikten ayırmadaki rolünü incelemektir. **Gereç ve Yöntemler:** Hastanemizde 2010-2016 yılları arasında, başlangıçta GTH şüphesiyle değerlendirilmiş, sonrasında ise klinik, patolojik ve laboratuvar bulgularıyla kesin tanısı konulmuş komplet mol, parsiyel mol, normal gebelik kalıntısı veya hidropik abortus hastalarının parafin bloklarından yeni kesitler alınarak immünohistokimyasal p57 boyaması yapılmıştır. Hidropik abortus ve normal gebelik kalıntısı olanlar kontrol grubunu oluşturmuştur. Kesitleri inceleyen patoloğlar, hastaların kesin tanıları bilmeden değerlendirme yapmıştır. **Bulgular:** Kesin tanıları konulmuş toplam 87 hastanın boyanma paternleri şu şekilde saptanmıştır: Komplet mol olan 26 hastada 22 negatif, 4 pozitif boyanma (%84,6 negatif boyanma, %15,4 pozitif boyanma); parsiyel mol olan 14 hastada 12 pozitif, 2 negatif boyanma (%85,7 pozitif boyanma, %14,3 negatif boyanma); hidropik abortus veya gebelik kalıntısı olan 47 hastada 35 pozitif, 12 negatif boyanma (%74,4 pozitif boyanma, %25,6 negatif boyanma) görülmüştür. **Sonuç:** Gestasyonel trofoblastik hastalıkların ayrılcı tanısında immünohistokimyasal p57 boyama yöntemi, komplet molü parsiyel molde ayırmada oldukça duyarlı bir yöntemdir. Ancak, bu yöntemin parsiyel molü hidropik abortus ve normal gebelikten ayırmada kullanılabilmesi için yeni çalışma ve deneyimlere ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gestasyonel trofoblastik hastalık; hidatiform mol;
siklin-bağımlı kinaz inhibitör p57; tanı, ayrılcı

ABSTRACT Objective: To investigate the role of immunohistochemical p57 expression to distinguish complete mole from partial mole and partial mole from hydropic abortion and normal pregnancy remnant in the differential diagnosis of gestational trophoblastic diseases (GTH). **Material and Methods:** p57 immunohistochemical staining was performed with new slides provided from paraffin blocks of the cases of complete mole, partial mole, normal pregnancy remnant and hydropic abortions whose were evaluated for GTD in the beginning but definitive diagnosis were later made by clinical, laboratory and pathological findings in our hospital between the years 2010-2016. The cases of hydropic abortion and normal pregnancy remnants were also used as control group. The pathologists performed investigations without knowing the diagnosis of the cases. **Results:** The staining patterns of overall 87 cases with definitive diagnosis are as follows. Of the 26 complete mole cases, 22 cases revealed negative staining and 4 cases revealed positive staining (84,6% negative staining, 15,4% positive staining). Of the 14 partial mole cases, 12 cases revealed positive staining and 2 cases revealed negative staining (85,7% positive staining, 14,3% negative staining). Of the 47 hydropic abortion or pregnancy remnant cases, 35 revealed positive staining and 12 revealed negative staining (74,4% positive staining, 25,6% negative staining). **Conclusion:** In the differential diagnosis of gestational trophoblastic diseases, immunohistochemical p57 staining is a quite sensitive method to distinguish complete mole from partial mole. However in our opinion, in order to use this method to distinguish partial mole from hydropic abortion and normal pregnancy, further studies and experience are needed.

Keywords: Gestational trophoblastic disease; hydatidiform mole;
cyclin-dependent kinase inhibitor p57; diagnosis, differential

Günümüzde gestasyonel trofoblastik (GTH) hastalıklarının tedavisi, doğru tanı ve uygun izleme %100'e yakın bir oranda yapılabilir. GTH tanımlaması; komplet ve parsiyel mol hidatiform (KMH, PMH), invaziv mol hidatiform, koryokarsinom ve plasental site trofoblastik tümör olmak üzere başlıca dört klinikopatolojik durumu ifade etmektedir.¹ Bunların birbirinden ve diğer normal gebelik ile ilgili durumlardan doğru olarak ayrılması, bu hastalıkların izlem ve tedavisinde yaşamsal önem arz etmektedir. GTH'nin tanısında; geleneksel olarak ultrasonografi (USG), "human chorionic gonadotropin (HCG)" ve doku elde edilebildiği durumlarda patolojik inceleme kullanılmaktadır.

Ancak hidropik abortus, erken KMH gibi değişik durumlar patolojik tanıda güçlükler neden olabilmektedir. Morfolojik değerlendirmedeki olası tanı güçlüklerini önlemenin yollarından biri de immünohistokimyasal yöntemle p57 ekspresyonunun değerlendirilmesidir.^{2,3} Nükleer boyanma özelliği gösteren p57, maternal olarak eksprese ve paternal olarak imprinte olan *CDKN1C* geninin ürünüdür. *CDKN1C*, 11. kromozomda lokalize olan siklinbağımlı kinaz inhibitörüdür.⁴ KMH hastaları, erken formları da dâhil olmak üzere androjenetik diploidi özelliği gösterdiğinden ve dolayısıyla maternal katkı olmadığından p57 ekspresyonu negatif ya da çok sınırlıdır. Oysa diandrik triploidi özelliği gösteren PMH ve biparental diploidi özelliği gösteren nonmolar gebelik materyallerinde p57 ekspresyonu görülmektedir.

Boyanma özelliği ve paternine göre p57 immün boyamanın sadece KMH'yi PMH'den değil, PMH ile hidropik abortus ve normal gebeliği de birbirinden ayırabildiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.⁵ Bu durumda, daha çok zaman alan ve nispeten pahalı olan genetik yöntemlere gerek kalmadan ayırıcı tanı mümkün olabilmektedir.

Bu çalışmada, hastanemizde molar gebelik tanısı almış hastalar ile başlangıçta molar gebelikten şüphelenilmiş, ancak sonrasında gebelik kalıntısı ya da hidropik abortus tanısı almış hastaların parafin bloklarında p57 çalışılarak bu yöntemin GTH

ayırıcı tanısında kullanılabilirliğinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Hastanemizde 2010-2016 yılları arasında izlenen; klinik ve patolojik olarak molar gebelik tanısı almış 40 hasta ile molar gebelik ön tanısı alan, ancak sonrasında klinik ve histopatolojik incelemesi hidropik abortus ya da gebelik kalıntısı olarak değerlendirilen ve parafin bloklarına ulaşılabilen 47 hasta çalışmaya dâhil edildi. Bu bağlamda, hidropik abortus ya da gebelik kalıntısı olarak değerlendirilen hastalar kontrol grubunu oluşturdu. Çalışma için hastane etik kurulundan onay alınmıştır.

İmmünohistokimyasal değerlendirmede streptavidin biotin peroksidaz yöntemi (Invitrogen, Camarillo, 85-9043) kullanıldı. Poly-L-lizin ile kaplı lamlar üzerine bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler ksilen ve etanol ile deparafinize ve rehidrate edildi. pH 6 sitrat solüsyonunda 20 dk kaynatılarak antijenlerin belirginleştirilmesi işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra deiyonize su ile yıkandı ve nonspesifik zemin boyanmasını önlemek için "tris buffered saline (TBS)" içerisinde %5 oranında dilüe edilmiş at serumu ile oda sıcaklığında 10 dk protein blokajı yapıldı ve primer antikor uygulamasına geçildi. p57 antikor (Novocastra, NCL, p57) 1:75 dilüsyonda kullanıldı. Pozitif kontrol için normal plasenta dokuları kullanıldı.

İmmünohistokimyasal boyalı preparatlar üç patoloj tarafından klinik tanıları bilinmeksizin (kör olarak) değerlendirildi. Pozitif ekspresyonun, literatürdeki çalışmalarda belirtildiği gibi, bazı sitotrofoblastlarda ve desidualize dokularda nükleer olduğu görüldü. Ancak, boyanma şiddeti ve yoğunluğunun semikantitatif değerlendirme yapılacak düzeyde olmadığı görülerek, dereceleme yapılmadan ekspresyon yok ve var, şeklinde belirtildi (Resim 1, 2).

BULGULAR

Klinik, patolojik ve laboratuvar değerlendirmeleriyle kesin tanısı konulmuş 87 hastanın boyanma paternleri aşağıdaki gibi saptandı.

KMH tanısıyla değerlendirilen 26 hastanın 22'sinde negatif, dördünde pozitif boyanma saptandı (%84,6 negatif, %15,4 pozitif boyanma).

PMH tanısıyla değerlendirilen 14 hastanın 12'sinde pozitif, ikisinde negatif boyanma (%85,7 pozitif, %14,3 negatif) saptandı.

Hidropik abortus veya gebelik kalıntısı olarak değerlendirilen 47 hastanın 35'inde pozitif, 12'sinde negatif boyanma (%74,4 pozitif, %25,6 negatif boyanma) saptandı.

Hastaların p57 immünboyanma özelliklerine göre dağılımı Tablo 1'de görülmektedir.

p57 pozitifliğinin PMH tanısındaki sensitivite ve spesifitesi ile pozitif ve negatif prediktif değerleri şu şekilde bulunmuştur: Sensitivite

TABLO 1: Hastaların p57 immünboyanma özelliklerine göre dağılımı.

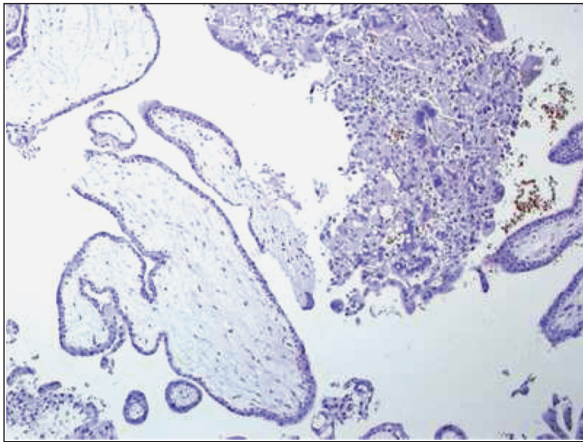
	Pozitif n (%)	Negatif n (%)	Toplam n (%)
KMH	4 (15,4)	22 (84,6)	26 (100)
PMH	12 (85,7)	2 (14,3)	14 (100)
Hidropik abortus ve gebelik kalıntısı	35 (74,4)	12 (25,6)	47 (100)

KMH: Komplet mol hidatiform; PMH: Parsiyel mol hidatiform.

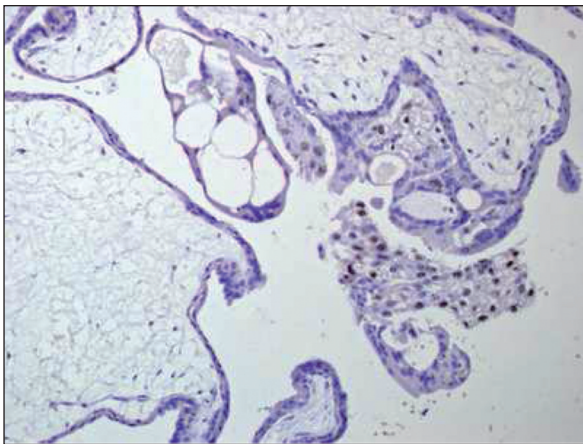
TABLO 2: p57 pozitifliğinin PMH tanısındaki sensitivite ve spesifitesi ile pozitif ve negatif prediktif değerleri.

	PMH	KMH	Toplam
Pozitif	12	4	16
Negatif	2	22	24
Toplam	14	26	40

KMH: Komplet mol hidatiform; PMH: Parsiyel mol hidatiform.



RESİM 1: p57 negatif komplet mol gebeliği (DAB x200).



RESİM 2: p57 pozitif hidropik gebelik (DAB x200).

%85,7; spesifite %84,6; pozitif prediktif değer (PPD) %75; negatif prediktif değer (NPD) %91,6 (Tablo 2).

TARTIŞMA

Bildiğimiz kadarıyla ülkemizde ilk kez yapılan ve GTH tanısında p57 immünboyanmanın rolünü araştıran bu çalışmada; p57 immünboyanma yönteminin GTH ayırıcı tanısında çok duyarlı bir yardımcı yöntem olduğu saptanmıştır. GTH tanısında en çok kullanılan klasik tanı yöntemleri HCG, USG ve patolojik değerlendirmedir. Patolojik değerlendirmenin, birçok durumda deneyimli patoloğlar açısından bile zorlukları bulunabilmektedir. Oysa tanının doğru olarak konulması daha sonraki izlem açısından son derece önemlidir. Zira KMH'den sonra %15-20, PMH'den sonra %0,2-4 oranında persistan GTH görülme olasılığı bulunmaktadır. Bunların çok büyük kısmı invaziv mol olup, %3-5 kadarı ise koryokarsinom hastalarıdır.¹

Morfolojik özelliklerin iyi geliştiği ve belirgin olduğu hastalarda mol tanısı genellikle patolojik olarak konulabilmektedir. Ancak, günümüzde hastaların hastaneye çok daha erken başvurması nedeni ile, klasik molar gebelik bulguları gelişmeden patolojik inceleme yapmak zorunluluğu bulun-

maktadır. Ayrıca molar gebeliği düşündürülen bazı nonmolar hastalarda da hidatiform molün ayırıcı tanısının yapılması gerekmektedir. Anormal villüs morfolojisinin olduğu gebelik materyali, bariz trofoblastik hiperplazinin bulunduğu erken abortuslar, hidropik abortuslar ve mozaik/kimerik gebelikler bunlar arasındadır.⁶

p57 immünohistokimyasal boyanma gebelik endometriyumundaki desidual hücrelerde pozitif, ancak sekretuar glandlarda negatiftir; normal plasentada sitotrofoblastlar, villöz mezenşim ve intervillöz trofoblastların en az %30'unda pozitif, sinsityotrofoblastlarda ise negatiftir; komplet molde tamamen negatiftir; parsiyel molde ise ekstravillöz trofoblastlarda pozitif ve negatif olabildiği gösterilmiştir, sinsityotrofoblastlarda ise negatiftir.⁴

KMH diandrik ve %100 paternal kökenli genetik materyal taşıdığı için p57 immünboyama negatiftir, ancak PMH triploid ve %66 paternal ve %33 maternal genetik materyal taşıdığı için pozitifdir. Son yıllarda bu boyanma paternini gösteren pek çok çalışma yapılmış olup, p57 immünboyama yönteminin molar gebelikleri ayırıcı tanıda kullanımını giderek yaygınlık kazanmaktadır.⁷⁻¹¹ Kalsoom ve ark.nın 2015 yılında yaptığı bir çalışmada, morfolojik kriterlere göre tanısı konulan 15 KMH ve 35 PMH hastası değerlendirilmiştir. Çalışmada, p57 immünboyama ile 50 hastanın, ilk patolojik tanıdan farklı olarak 17'sinin KMH ve 33'ünün de PMH olduğu gösterilmiştir.⁷ Sasaki ve ark.nın 2014 yılında yaptığı küçük bir seride ise 14 hastanın KMH olan dördünde, bariz olarak negatif boyanma, PMH olan 10'unda ise pozitif boyanma olduğu gösterilmiştir.⁸ Abbas ve ark. ise 2014 yılında toplam 70 hastayla yaptıkları bir çalışmada, PMH'de %83,3 pozitif boyanma ve KMH'de %86,7 negatif boyanma saptamışlardır.⁹ Aynı çalışmada p57 pozitifliğinin PMH tanısındaki sensitivitesi %93,9, spesifitesi %76,4, PPD'si %88,5 ve NPD'si de %86,6 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda PMH'de %85,7 oranında pozitif boyanma, KMH'de ise %84,6 oranında negatif boyanma görülmüştür. Çalışmamızda p57 pozitifliğinin PMH tanısındaki sensitivitesi %85,7, spesifitesi %84,6, PPD'si %75 ve NPD'si %91,6 olarak bulunmuştur. Bu bağlamda, literatürdeki çalışmalar gibi çalışmamızda

da p57 immünboyama, PMH'yi KMH'den ayırmada, patolojik değerlendirmeyle oldukça yüksek düzeyde korelasyon göstermiştir. Aynı şekilde kontrol olarak kullanılan hidropik abortus ya da normal gebelik kalıntısı olan hastalarda da %74,4 oranında p57 pozitif bulunmuş, yani patolojik tanıyla p57 immünboyama pozitifliği arasında yüksek bir korelasyon görülmüştür.

Yukarıda da belirttiğimiz gibi, çalışmamızda p57 immünboyama yönteminin KMH'yi PMH'den ayırmada oldukça duyarlı olduğu saptanmışken, boyanma paternlerine göre yapılan değerlendirmeyle PMH ile hidropik abortus ve gebelik kalıntısı arasında bir ayırım yapılamamıştır. Bize göre bunun temel sebeplerinden biri bu yöntemi ilk kez kullanıyor olmamız, bir diğer sebep de ulaşabildiğimiz parafin bloklarda, geçen zamana bağlı olarak yeterli kalitede kesit elde etme imkânının kalmamış olmasıdır. Yaptığımız çalışmada kesitler arasında boyanma paternlerine göre çeşitli farklar görülmekle birlikte, bu farklılıklara dayanarak ayırım için kullanılacak düzey ve kalitede bir gruplama yapmak mümkün olamamıştır. Bu bağlamda, pek çok diğer çalışmada olduğu gibi kesitlerimiz, boyanma özelliğine göre sadece pozitif ve negatif olarak ayrılmıştır.

Oysa Romaguera ve ark.nın 86 hastayla yaptıkları bir çalışmaya göre, p57 immünohistokimyasal boyanma paterni sadece KMH'yi PMH'den değil, hidropik abortus ve PMH'yi de birbirinden ayırabilir.⁵ Romaguera ve ark.nın çalışmalarında öngörülen temel boyanma paternlerine göre, komplet molde hem mezenşim hem de sitotrofoblastlarda boyanma negatif olacak; parsiyel molde hem mezenşim ve hem de sitotrofoblastlarda boyanma ve/veya boyanmama olabilecek; hidropik abortus ya da normal gebelik kalıntısında ise bütün villüslerde hem mezenşimde hem de sitotrofoblastlarda pozitif boyanma görülecektir (Tablo 3). Buna göre, 86 hastanın değerlendirildiği çalışmada başlangıçta 42 hasta hidropik abortus, 44 (23 KMH, 21 PMH) hasta molar gebelik olarak değerlendirilmişken, p57 immünboyama sonrasında 45 hasta hidropik abortus, 15 hasta PMH ve 26 hasta da KMH olarak saptanmış ve hastaların sonraki klinik izlemleri de bu bulgularla uyumlu olarak seyretmiştir. Daha

TABLO 3: Romaguera ve ark.na göre p57 immün boyanma paternleri.

	Mezenşim	Sitotrofoblast
KMH	Negatif	Negatif
PMH	Negatif/Pozitif	Negatif/Pozitif
Hidropik abortus, normal gebelik	Pozitif	Pozitif

KMH: Komplet mol hidatiform; PMH: Parsiyel mol hidatiform.

önce de belirttiğimiz gibi, bu çalışmada gösterilen boyanma paternlerine göre parsiyel mol ile hidropik abortus arasındaki ayırım, kendi çalışmamızda yapılamamıştır. Ancak, bu yöntemde belirli bir deneyim kazanıldıktan sonra ve kaliteli kesitlerle bunun mümkün olabileceği düşünülmektedir.

SONUÇ

Molar gebeliği düşündüren, ancak morfolojik bulgularla kesin tanının konulamadığı durumlarda ayırıcı tanı için p57 immünboyama yöntemi oldukça duyarlı ve tanıya yardımcı bir tekniktir. Bu nedenle özellikle jinekolojik materyal değerlendiril-

dirme oranının fazla olduğu hastanelerin patoloji laboratuvarlarında anti-p57 antikörünün de immünohistokimyasal çalışma paneline katılması şarttır. Ancak, p57 immünboyama yönteminin PMH'yi hidropik abortustan ayırmada kullanılabilmesi açısından, yeni çalışma ve deneyimlere ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.

Yazar Katkıları

Fikir/kavram: İbrahim Gülhan, Gülden Diniz; **Tasarım:** İbrahim Gülhan, Gülden Diniz; **Denetleme/danışmanlık:** İbrahim Gülhan, Gülden Diniz, Muzaffer Sancı; **Veri toplama ve/veya işleme:** Mustafa Kocaer, İbrahim Gülhan; **Analiz ve/veya yorum:** İbrahim Gülhan, Gülden Diniz; **Kaynak taraması:** İbrahim Gülhan, Mustafa Kocaer, Mehmet Gökçü, Ulaş Solmaz; **Makalenin yazımı:** İbrahim Gülhan, Gülden Diniz; **Eleştirel inceleme:** İbrahim Gülhan, Gülden Diniz, Mehmet Gökçü, Ulaş Solmaz, Gülden Diniz; **Kaynaklar ve fon sağlama:** İbrahim Gülhan, Gülden Diniz; **Malzemeler:** Gülden Diniz, Dudu Solakoğlu Kahraman, Tuğba Karadeniz; **Patolojik inceleme:** Gülden Diniz, Dudu Solakoğlu Kahraman, Tuğba Karadeniz.

KAYNAKLAR

- Seckl MJ, Sebire NJ, Fisher RA, Golfier F, Massuger L, Sessa C; ESMO_Guidelines Working Group. Gestational trophoblastic disease: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2013;24(Suppl 6):39-50.
- LeGallo RD, Stelow EB, Ramirez NC, Atkins KA. Diagnosis of hydatidiform moles using p57 immunohistochemistry and HER2 fluorescent in situ hybridization. Am J Clin Pathol 2008;129(5):749-55.
- McConnell TG, Murphy KM, Hafez M, Vang R, Ronnett BM. Diagnosis and subclassification of hydatidiform moles using p57 immunohistochemistry and molecular genotyping: validation and prospective analysis in routine and consultation practice settings with development of an algorithmic approach. Am J Surg Pathol 2009;33(6): 805-17.
- Castrillon DH, Sun D, Weremowicz S, Fisher RA, Crum CP, Genest DR. Discrimination of complete hydatidiform mole from its mimics by immunohistochemistry of the paternally imprinted gene product p57KIP2. Am J Surg Pathol 2001;25(10):1225-30.
- Romaguera RL, Rodriguez MM, Bruce JH, Zuluaga T, Viciano A, Penalver MA, et al. Molar gestations and hydropic abortions differentiated by p57 immunostaining. Fetal Pediatr Pathol 2004;23(2-3):181-90.
- Sebire NJ, Makrydimas G, Agnantis NJ, Zogorianakou N, Rees H, Fisher RA. Updated diagnostic criteria for partial and complete hydatidiform moles in early pregnancy. Anticancer Res 2003;23(2C):1723-8.
- Kaloom R, Jaffar R, Qureshi N, Aziz FA. A study of p57kip2 expression and morphological findings of complete and partial hydatidiform moles. Biomedica 2015;31(1):11-4.
- Sasaki S, Sasaki Y, Kunimura T, Sekizawa A, Kojima Y, Iino K. Clinical usefulness of immunohistochemical staining of p57kip2 for the differential diagnosis of complete mole. Bio-Med Research International 2015;2015: 905648.
- Abbas RK, Al-Khafaji KR. Expression of p57 immunohistochemical marker in complete and partial hydatidiform mole by using tissue microarray technique. IOSR Journal of Applied Chemistry 2014;7(5):90-5.
- Fukunaga M, Katabuchi H, Nagasaka T, Mikami Y, Minamiguchi S, Lage JM. Interobserver and intraobserver variability in the diagnosis of hydatidiform mole. Am J Surg Pathol 2005;29(7):942-7.
- Jun SY, Ro JY, Kim KR. P57kip2 is useful in classification and differential diagnosis of complete and partial hydatidiform moles. Histopathology 2003;43(1):17-25.