

# İLERİ EVRE PROSTAT KANSERLİ HASTALARDA DNA FLOW SİTOMETRİ SONUÇLARININ, EVRELENDİRME, GLEASON SKORU İLE KARŞILAŞTIRMASI VE HASTALARIN TAKİBİNDEKİ ÖNEMİ

## *THE COMPARISON OF DNA CYTOMETRY RESULTS BETWEEN STAGE AND GLEASON SCORE IN PATIENTS WITH END STAGE PROSTATIC CARCINOMA AND ITS IMPORTANCE IN FOLLOWING UP THESE PATIENTS*

BAYKAL M., CULHA M., MERDER E., MUTLU N., ÖZEL S., CANBAZOĞLU N.

### **ÖZET**

Prostat kanserli hastaların o anda ne durumda olduğu ve prognozu, bilinen bazı parametreler yardımıyla saptanabilir. Bu çalışmada DNA içerik analizinin bu parametrelerle ne kadar uyumlu olduğu ve hastalığın izlemindeki önemi araştırıldı. C evresinde 7 ve D evresinde 15 olmak üzere toplam 22 hastanın DNA flow sitometri sonuçları, evre, Gleason skoru, PSA değeri ve uzak metastaz oluşumu ile karşılaştırıldı. DNA analiz sonuçlarına göre anaploid hücre oranları arttıkça, evre, Gleason skoru, PSA değeri ve uzak metastazlarda da artış olduğunu gözlemlendi. Ayrıca anaploid hücrelerin DNA indeksinin artışı ile birlikte prognozunda kötüye gittiği saptandı. Sonuç olarak DNA içerik analizinin bu diğer parametreler ile uyumlu, objektif bir tetkik olduğu ve hastanın izleminde kullanılabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Flow sitometri, prostat kanseri, gleason skor

### **SUMMARY**

There are some parameters which determine the present behavior and the prognosis of the disease in patients with prostatic carcinoma. We have investigated the importance of DNA ploidy in follow up patients with prostatic carcinoma and the correlation of DNA flow cytometry results with other parameters. For this reason we compared DNA flow cytometry results with stage, Gleason score, PSA level, and distant metastases. 7 of our 22 patients were in stage C and 15 patients in stage D. We concluded that aneuploid cell rates increased parallel to, stage, Gleason score, PSA level and distant metastases increased too. We also found a positive correlation between DNA index of aneuploid cells and shorter survival. As a result DNA flow cytometry was considered to be an objective analysis, which was in positive correlation with these other important parameters and could be useful in following up patients with prostatic carcinoma.

### **GİRİŞ**

Prostat kanserinin doğası oldukça değişiktir. Hastalığın gidişi birçok parametre ile değerlendirilebilir. Bunlar arasında histopatolojik, sitolojik çalışmalar ve evreleme sayılabilir (1). Son zamanlarda tümör hücrelerinin DNA içerik analizi

de bu alanda kullanılan parametrelerden biri olmuştur. Değişik evrelerdeki hastalarda hem radikal prostatektomi piyeslerinden hem de biyopsilerden ve prostat metastatik lenf nodüllerinden çalışmalar yapılmıştır (2,3,4,5,6). DNA içerik analizi taze dokudan ve biopsilerden yapılabildiği

**ANAHTAR KELİMELEER:** Flow Sitometri, prostat kanseri, gleason skor.

**KEY WORDS:** Flow cytometry, prostatic carcinoma, gleason score.

(\*) Haseki Hastanesi Üroloji Kliniği

gibi, parafin bloklarından da yapılabilir (7). Bu konuda yapılan bütün çalışmalarda DNA flow sitometri sonuçlarının hastalığın prognozu ile ilişkisi araştırılmıştır (7,8,9). Değişik tedavi seçenekleri uygulanan hastalarda, yapılan tedavinin, prognoza olan etkisinin araştırılmasında özellikle önemlidir. Bu konuda Meyers ve arkadaşları erken ve gecikmiş endokrin tedavi ile takip ettikleri hasta gruplarında DNA flow sitometri sonuçlarına göre, prognozun farklı gelişimlerini incelemişlerdir (3). Biz bu çalışmada hastaların flow sitometri sonuçlarını, tümör evreleri, Gleason skoru, uzak metastazlar ve PSA değeri ile karşılaştırdık. DNA flow sitometri sonuçlarının bu değerler ile ne kadar uyumlu olduğu araştırıldı. ayrıca bu hastalarda tedaviye verilen yanıt ve hastalığın gelişimi de izlem süresi içinde değerlendirildi. Bu çalışmaya alınan C ve D evresindeki bu hastalara endokrin tedavi uygulanmıştır. Carpentier ve arkadaşları endokrin tedavi verdikleri hasta gruplarında 24 aylık gözlemlerinde primer tümörde meydana gelen gerilemeden çok, uzak metastazların verdikleri yanıtların ayrı ayrı karşılaştırılması EORTC genitouriner grup protokolünde de gösterilmiştir (11). Bizim çalışmamızda endokrin tedaviye verilen yanıt ve uzak metastazlardaki gelişimde izlenerek bildirilmiştir.

## MATERYAL VE METOD

Çalışmaya Haseki Hastanesi Üroloji Kliniği'nde prostat kanseri tanısı konulmuş ve endokrin tedavi uygulanmakta olan 24 hasta alındı. 60-81 yaşları arasında, ortalama yaşları 66.2 olan bu hastaların ortalama takip süresi 22 aydır. Bu hastaların biopsilerinden, operasyon materyallerinden ve eski biopsilerin parafin bloklarından flow sitometrik tetkik yapıldı. Aynı örneklerde patolojik inceleme ve Gleason skorlaması da yapılmıştır. Uzak metastazlar yapılan radyolojik incelemeler ile rutin olarak takip edilmiştir. Hastaların kan PSA değerleri de belirli aralıklarla izlenmiştir.

Hasta grubuna dahil olan olgular, tanı konduktan sonra ilk 2 yıl içerisinde 3'er ay aralıklarla ve daha sonra da 6 ay aralıklarla rutin tetkiklerle kontrolden geçirilmiştir. Bu rutin kontrollerde fizik muayene, tuşe rektal, TRUS, serum alkali fosfataz, prostatik asit fosfataz ve PSA ölçümleri

yapılmıştır. Rutin tetkiklerinde farklılık olan hastalara tüm batın tomografisi yapılmıştır. Bütün hastalara tanı konulduktan sonra kemik sintigrafisi de yapılmış, metastaz saptanan hastalar ayrıca belli aralıklarla sintigrafi ile takip edilmiştir.

Hastalardan alınan biopsi materyalleri, formol içerisinde tesbit edilip, parafinlenmiştir. Patolojik tetkiki ve Gleason skorlaması yapılmıştır. Transurethral rezeksiyon materyalleri de histolojik olarak incelenip flow sitometrik çalışmaları tamamlanmıştır. Çalışmaya dahil edilen hastalardan 22 tanesinde DNA flow sitometri sonuçları değerlendirilebilmiştir. Tümörün en belirgin olarak saptandığı yerden DNA çalışması yapmaya özen gösterilmiştir.

22 hastanın 7 tanesine (2, 4, 7, 10, 14, 19, 20 nolu hastalar Tablo 1) rezidüel idrar hacminin fazlalığı nedeniyle transüretral rezeksiyon yapılmıştır. Bu hastaların patolojik tetkiki sonucu, tümör hücrelerin yoğun bulunduğu rezeksiyon materyallerinden DNA içerik analizi yapılmıştır. Çalışmaya başlandığı tarihten evvel opere olan (4 ve 14 nolu hastalar Tablo 1) eski parafin blokları incelenip tümör hücrelerinin yoğun bulunduğu flowsitometrik tetkik yapılmıştır. Bu hastaların opere oldukları andaki PSA değerleri, gleason skorları ve evreleri çalışmaya yansıtılmıştır. DNA içerik analizi iki özel laboratuvar tarafından, Backson Diconson marka cihazın Pachsen modeli ile yapılmıştır.

## BULGULAR

DNA içerik analizi sonuçlarında, Diploid ve Anaploid, hücre toplulukları yüzde olarak belirtilmiştir. Diğer fazlardaki hücrelerin yüzdesi ayrıca gösterilmemiştir. Bu hastalarda Gleason skorları, varsa uzak metastazlar, PSA değerleri ve hastalığın gelişimi hakkında bilgiler Tablo 1'de özetlenmiştir. Ayrıca Anaploid hücre topluluklarının DNA indeksi belirlenerek bunun da prognozadaki önemi araştırılmıştır (Tablo 1).

DNA flow sitometri sonuçları ayrı ayrı, Gleason skorları evrelendirme, uzak metastazlar ve PSA değerleri ile karşılaştırılmıştır. Bütün bu karşılaştırmalar grafik olarak şekil 1,2,3,4'de ifade edilmiştir. Grafikler ortalama değerler esas alınarak hazırlanmıştır.

Diploid hücre topluluğunun DNA indeksi 1

Hasta	Yaş	DNA Kontent Analizi		Evre	Gleason Skoru	Uzak Metastaz	PSA	Klinik Gidiş	DNA İndeksi
		Diploid %	Aneploid %						
1	61	56	11	D1	6	LN	27.3	Özellik Yok	1.193
2	68	46	13	D2	8	K	15.8	Özellik Yok	1.32
3	67	60	30	D2	10	LN + K + AC	41.6	Pat. fraktür	1.83
4	73	54.3	35.4	D2	8	K + LN	29.1	Özellik Yok	1.21
5	81	80.8		C1	7		17.5	Özellik Yok	
6	63	68		C1	6		8	Özellik Yok	
7	71	85		C1	5		12.3	Özellik Yok	
8	60	52	13	D1	8	LN	18.8	Özellik Yok	1.34
9	62	63	29	D2	9	K + LN	22.0	Kilo kaybı, GDB *	1.55
10	61	78		D2	7	LN + K	10.3	Özellik Yok	1.28
11	64	66	38	D2	8	LN + K	33.5	Özellik Yok	1.21
12	70	83		C2	6		12.4	Özellik Yok	
13	69	71	19	C2	7		17	Özellik Yok	1.33
14	71	62	28	D1	8	LN	8.8	Özellik Yok	1.21
15	66	42	58	D2	9	K + LN	31.3	Tekrarlayan hematüri	1.73
16	61	90		C2	4		7	Özellik Yok	
17	63	72	21	D2	8	K + LN	30.2	Özellik Yok	1.44
18	65	80		D2	6	K	19	Özellik Yok	
19	69	47	35	D2	10	K + LN	23.4	Kan tablosunda bzk.	1.89
20	68	43	17	D1	7	LN	10.1	Özellik Yok	1.35
21	63	75	21	D2	6	K	22	Özellik Yok	1.14
22	61	68		C1	4		8.3	Özellik Yok	

Metastazlar : K = Kemik ; LN = Lenf Nodu ; AC = Akciğer

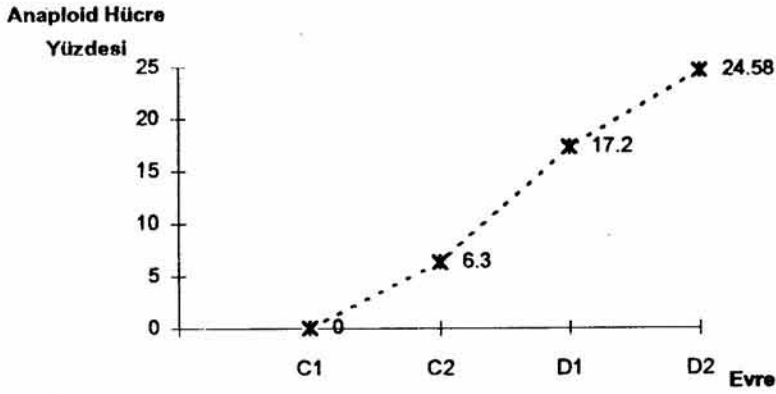
\* (GDB) Genel Durum Bozukluğu

olarak kabul edildiğinde, aneploid hücre topluluklarının farklı DNA içeriklerinin ölçümü DNA indeksi olarak flowsitometri verilerinde belirtilmiştir. Ayrıca yine flowsitometri verilerinde aneploid, yani normalden daha yüksek DNA içerikli hücreler topluluğunun incelenen tüm dokulardaki hücre oranı verilmiştir.

İstatiksel olarak aneploid hücre oranları ile Evre, Gleason skorları ve PSA değerleri arasında pozitif bir korelasyon görülmüştür. Aneploid hücre oranı ve evre arasında daha zayıf bir kore-

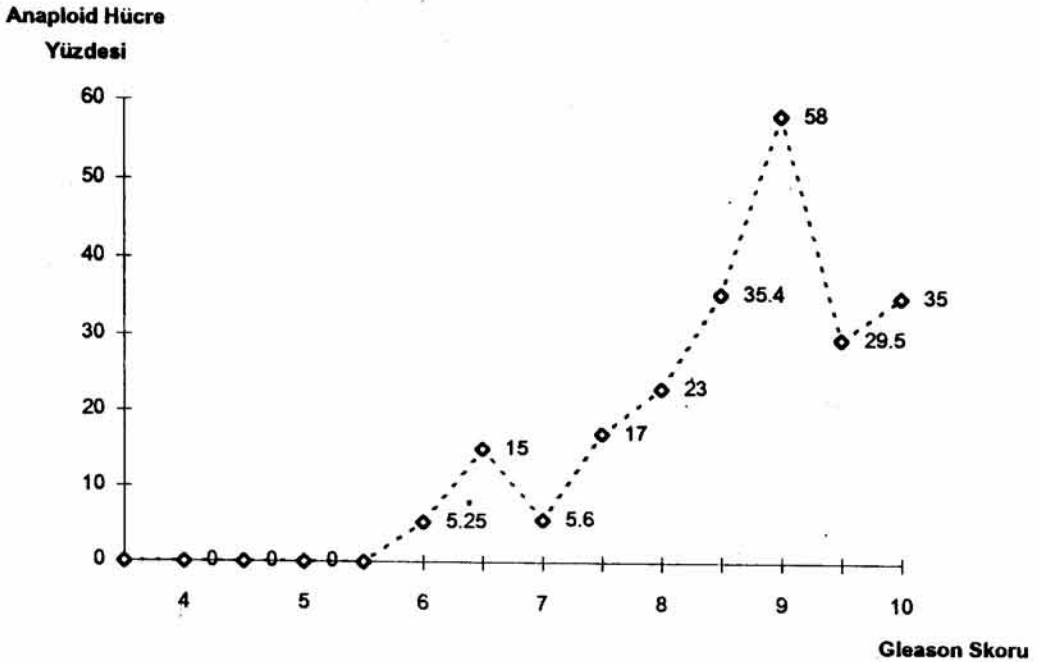
lasyon olmakla birlikte ( $r=0,59$ ) Gleason skoru ve PSA ile, Aneploid hücre oranı arasında güçlü bir korelasyon saptanmıştır ( $r=0.78$  ve  $r=0.811$ ). Ayrıca aneploid hücrelerin DNA indeksleri ve evre arasında da orta derecede bir korelasyon saptanmıştır ( $r=0.52$ ).

Grafiklerde de görüldüğü gibi, bu çalışmada, aneploid hücre topluluklarının varlığında ve oranları ile DNA indekslerinin arttığı durumlarda, Gleason skorları ve PSA değerleri yüksek çıkmaktadır. Yine aneploidi ile birlikte hastanın



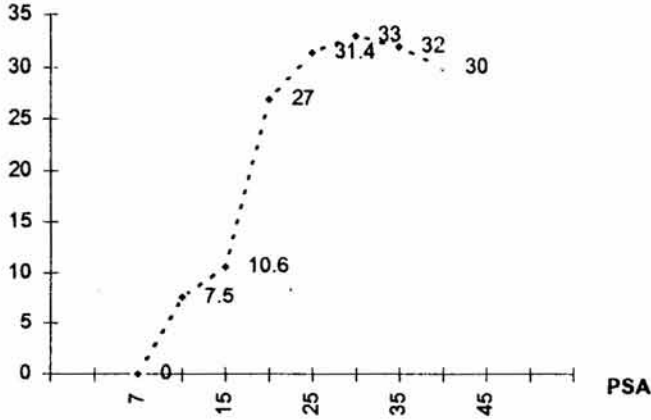
evreside yükselmektedir. DNA indeksleri ve evre arasındaki ilişkiyi göstermek için yapılan grafikte anaploidi hücrelerin DNA indekslerinin hastanın evresi ile doğru orantılı olarak arttığı gözlemlendi. Uzak metastaz saptanan olgularda yük-

sek oranda anaploid hücre toplulukları izlendi. İzlem süresi içerisinde patolojik kemik fraktürleri görülen bir hastada ve kan tablosu ileri derecede bozulan diğer bir hastada, anaploid hücre topluluklarının DNA indeksleri ileri derecede yüksek



### Anaploid Hücre

Yüzdesi



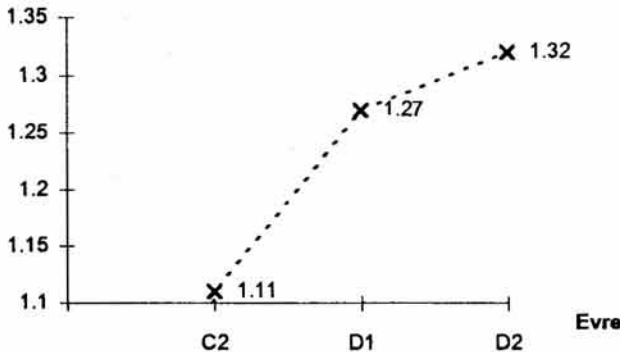
bulundu.

### TARTIŞMA

Bu çalışmada DNA içerik analizinin prostat kansinomunun prognozu hakkında bizi yönlendirebilecek bir inceleme olup olmadığını ve prognozu gösterebilecek diğer parametreler ile uyumluluğunu araştırdık. Bunun gibi prostat biopsile-

rinden ve operasyon piyeslerinden alınan materyallerle yapılan DNA çalışmalarında sonuçların hastalığın prognozu ile ilgili olarak hekimleri yönlendirebileceği düşünülmüştür (3,4,12,13,14,15). Tümör evrelendirilmesi ve derecelendirilmesinin hücrelerin DNA içeriği ile belirlenmesi ilişkili olduğu değişik evre ve derecelerde yapılan DNA çalışmalarında gösterilmiştir (7). Bu çalışmada da değişik evrelerde çok farklı

### DNA Indexi



## EDİTORYAL YORUM

Tümör davranışının incelenmesi ve bununla prognoz arasında ilişki kurulmaya çalışılması onkolojinin hiç şüphesiz en ilginç uğraş alanını oluşturmaktadır. Akım sitometrisi de bu amaçla kullanılan tekniklerden biridir ve ülkemizde de uygulanıyor olması çok sevindiricidir. Bununla birlikte böyle bir araştırmanın teknik ve klinik uygulama sınırlarının iyi bilinmesi gereklidir.

Özellikle prostat kanserinde birden fazla tümör örneğinin araştırılması, BPH içeren doku yardımı ile o kişiye ait internal diploid standartın oluşturulması, sitometriyi yapan kişinin hastanın tümörüne ait klinik verileri bilmemesi, "single cell image analysis" ya da akım sitometrisi seçiminin dayandırıldığı gerekçeler gibi konular böyle bir çalışmanın metodolojisinde dikkat edilmesi gereken noktalar.

Prostat kanseri için akım sitometrisine ait inisyel öforinin yavaş yavaş dağıldığı görülmektedir. Gerçekten de Gleason grade'i ve lokal evrenin dikkatlice belirlendiği bir olguda

akım sitometrisi prognozla ilgili değerli ilave bilgi sağlamaktadır (1). Özellikle, dünyada belkide en geniş materyale sahip İsveç Karolinska Üniversitesinin konu ile ilgili yayınlarının metaanalizi; "core" biopsilere ait Gleason grade'i bilindiği takdirde DNA içeriğini bilmenin bir avantaj sağlamadığı şeklindedir (2). Günümüzün p 53, angiogenesis vs. gibi yeni ve popüler prognostik faktörlerinin akıbeti de zamanın sınavından geçtikten sonra belli olacak ancak tümör davranışını araştırmak ya da manipüle etmek çabası herhalde hiç bitmeyecektir.

1- Stamey, T.A.: DNA ploidy status. *Urology*, 45: 563-565, 1995.

2- Adolfsson, J.: Prognostic value of deoxyribonucleic acid content in prostate cancer. A review of current results. *Int. J. Cancer* 58: 211-216, 1994.

Doç. Dr. Tarık ESEN  
İstanbul Tıp Fakültesi Üroloji ABD  
Öğretim Üyesi