بررسی بروز PTEN به‌روش ایمنوهیستوشیمی در آندومتر پرولیفراتیو نرمال، هیپرپلاستیک و کارسینوم آندومتریوئید

سهیلا سرمدی*
نرگس ایزدی‌مود

گروه پاتولوژی

دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه و هدف: آدنوکارسینوم اندومتریوئید آندومتر از شایع‌ترین بدخیمی‌های دستگاه تناسلی خانم‌ها بوده که به‌دنبال یک‌سری تغییرات ژنتیکی به‌شکل فعال شدن انکوژن‌ها و از بین رفتن فعالیت ژن‌های ساپرس‌کننده تومور ایجاد می‌شود. در حال حاضر شایع‌ترین تغییر ژنتیکی در این کارسینوم موتاسیون در ژن PTEN بوده که در ۸۳-۵۰٪ از موارد دیده می‌شود. ***روش بررسی:*** تعداد ۹۰ نمونه کورتاژ آندومتر شامل ۳۰ آندومتر پرولیفراتیو، ۳۰ نمونه انواع آندومتر هیپرپلاستیک و ۳۰ کارسینوم آندومتریوئید انتخاب و رنگ‌آمیزی PTEN به‌روش ایمنو هیستوشیمی بر روی بلوک‌های پارافینی صورت گرفت و درصد رنگ‌پذیری به‌شکل نیمه کمی با دو Cut- point ۱۰٪ و ۵۰٪ بررسی گردید. ***یافته‌ها:*** با در نظر گرفتن cut-point ۱۰٪ از بین رفتن بروز PTEN ۰٪، ۰٪، ۳۰٪، ۵۱/۷٪ به‌ترتیب در فاز پرولیفراتیو، هیپرپلازی ساده، هیپرپلازی پیچیده و کارسینوم آندومتریوئید و در ۵۰٪ CUT-POINT ۰٪، ۳/۵٪، ۳۰٪ و ۵۵/۲٪ به‌ترتیب در فاز پرولیفراتیو، هیپرپلازی ساده، هیپرپلازی پیچیده و کارسینوم آندومتریوئید دیده شد. همچنین با مقایسه عدم بروز PTEN در هیپرپلازی ساده و هیپرپلازی پیچیده بدون آتیپی تفاوت معنی‌دار به‌دست نیامد. علاوه بر این تفاوت معنی‌داری نیز بین هیپرپلازی پیچیده با آتیپی و کارسینوم آندومترئید دیده نشد. اما تفاوت آماری معنی‌داری بین عدم بروز PTEN در فاز پرولیفراتیو و کارسینوم آندومتر دیده شد. ***نتیجه‌گیری:*** بر اساس نتایج با عدم بروز ژن PTEN در کارسینوم اندومترئید و هیپرپلازی پیچیده با آتیپی، ارزیابی بروز PTEN به‌طریق ایمنوهیستوشیمی می‌تواند یک روش موثر در شناسایی فقدان این پروتئین در ضایعات مختلف باشد.

کلمات کلیدی: PTEN، کارسینوم اندومتریوئید، هیپرپلازی اندومتر، ایمنوهیستوشیمی.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان استاد نجات الهی شمالی، بیمارستان میرزاکوچک‌خان، بخش پاتولوژی، کد پستی: ۱۵۹۷۸۵۶۵۱۱ تلفن: ۸۸۹۰۶۷۶۷
email: ssarmadi@yahoo.com

مقدمه

کارسینوم آندومتر (Endometrial Carcinoma) از نظر فراوانی چهارمین نئوپلاسم بدخیم در زنان بوده[1] و شایع‌ترین سرطان دستگاه تناسلی زنان می‌باشد به‌نحوی‌که سالانه بالای ۴۱۰۰۰ مورد در آمریکا شناسایی و در سال ۲۰۰۶، ۷۳۵۰ مورد مرگ ناشی از این سرطان در خانم‌ها در آمریکا گزارش شده است.[1] این سرطان عمدتاً در زنان یائسه و به‌صورت خونریزی رحمی غیر طبیعی (AUB) تظاهر می‌کند ولیکن در سال‌های اخیر محدوده سنی آن کاهش یافته و در سنین پایین‌تر و بیشتر در خانم‌هایی که مشکل نازایی دارند، مشاهده می‌شود. از نظر کلینیکوپاتولوژیک کارسینوم اندومتر به دو دسته اصلی تقسیم می‌شود. تومورهای تیپ I که اغلب وابسته به استروژن هستند و به‌طور عموم در خانم‌های حوالی سنین قبل و حول و حوش یائسگی و همزمان با هیپرپلازی آندومتر بروز می‌کند و یا اینکه قبل از پیدایش آن هیپرپلازی اندومتر دیده می‌شود. بر خلاف آن کارسینوم‌های تیپ II که غیر وابسته به استروژن بوده و در آندومتر آتروفیک و اغلب در سنین بالاتر اتفاق می‌افتند.[2] هیپرپلازی آندومتر یک علت دیگر خونریزی غیر طبیعی رحمی (AUB) است که به‌علت ارتباط آن با کارسینوم آندومتر مستلزم توجه خاصی است. بیش از ۵۰ سال قبل Sommers, Hertig فرضیه پیشرفت تغییرات آندومتر از هیپرپلازی، در میان طیفی از تغییرات آتی پیک که در نهایت در بعضی موارد به کارسینوم آندومتر منجر می‌شود را ارائه دادند.[3] در اکثر نمونه‌های کورتاژ آندومتر افتراق آدنوکارسینوم آندومتریوئید از هیپرپلازی راحت است ولیکن در برخی موارد افتراق آنها از یکدیگر مشکل ساز بوده و این مسئله به‌خصوص در خانم‌های جوان که

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-05]

مشکل نازایی داشته و حفظ رحم در آنها از اهمیت خاصی برخوردار است، پاتولوژیست‌ها را در وضعیت دشواری قرار می‌دهد. مطالعات متعددی برای شناسایی ویژگی‌های بافت شناسی کمک‌کننده به افتراق هیپرپلازی بدون آتیپی، هیپرپلازی با آتیپی و کارسینوم آندومتریوئید انجام گرفته اما در مطالعات فوق کمتر به بررسی دقت، تکرارپذیری و حساسیت این تشخیص‌ها توجه شده است. کارسینوم آندومتر در حقیقت به‌دنبال یک‌سری تغییرات ژنتیکی به‌صورت فعال شدن انکوژن‌ها و از بین رفتن فعالیت ژن‌های ساپرس کننده تومور ایجاد می‌شود. چهار تغییر ژنتیکی مولکولار در کارسینوم آندومتریوئید تیپ I شناسایی شده است که شامل Microsatellite instability (MI)، موتاسیون ژن‌های PTEN، KRAS و β- catenin می‌باشند. این تغییرات مولکولار در هیپرپلازی با آتیپی آندومتر نیز شناسایی شده است.[۲] در حال حاضر شایع‌ترین تغییر ژنتیکی در کارسینوم آندومتریوئید موتاسیون در ژن PTEN بوده که در ۸۳-۳۰٪ از موارد کارسینوم آندومتریوئید این تغییرات ژنتیکی به‌صورت از دست رفتن فعالیت ژن PTEN دیده می‌شود. در هیپرپلازی آندومتر که پیش‌زمینه (پرکورسور) کارسینوم آندومتر است از بین رفتن بروز ژن PTEN در ۶۳-۳۰٪ موارد شناسایی شده است.[۳-۵] PTEN یک ژن سرکوب‌کننده تومور می‌باشد که بر روی کروموزم 10q23 قرار گرفته است. از بین رفتن بروز PTEN در تومورهای آندومتریال، پروستات، سینه و مغز نیز شناسایی شده است. در حقیقت موتاسیون PTEN در ابتدایی‌ترین فاز ایجاد کانسر آندومتر اتفاق افتاده، در حالی‌که این موتاسیون به‌عنوان وقایع انتهایی در پیشرفت تومورژنیک در بافت‌های پروستات و مغز دیده می‌شود.[۳] PTEN نه تنها یک نقش قابل توجه در توقف چرخه سلولی و آپوپتوز برنامه‌ریزی شده داشته، بلکه همچنین در دیگر جنبه‌های فیزیولوژی سلول شامل تنظیم چسبندگی، مهاجرت و تمایز سلولی نیز دخیل می‌باشد.[۳] PTEN به توسط مهار کردن سطوح PIP3 به‌عنوان یک تنظیم کننده در جهت کاهش پرولیفراسیون سلولی عمل می‌نماید[۶] و از آنجایی‌که یک ژن سرکوب‌کننده تومور است غیر فعال شدن هر دو آلل PTEN توسط موتاسیون یا deletion لازم است.[۷] موتاسیون سوماتیک ژن PTEN در ۴۰٪ و deletion در ۷۰-۴۰٪ از آدنوکارسینوم‌های آندومتر دیده شده است.[۵و۸] فعال بودن این ژن منجر به تولید محصولی به‌شکل dual-specifity phosphatase گردیده که به‌طور کاملاً بارز در استروما و غدد اپی‌تلیالی آندومتر دیده می‌شود.

شناسایی PTEN به‌طریقه IHC در آندومتر سیکلیک نشان داده است که سطوح بالای این پروتئین در تمامی سلول‌های غدد اندومتریال در طی فاز پرولیفراتیو وجود داشته در حالی‌که با شروع فاز ترشحی و پیشرفت به‌سمت وسط این فاز و نهایتاً انتهای آن با کاهش و فقدان این پروتئین مواجه هستیم[۹] مطالعات مختلف مطرح کرده‌اند که ارزیابی بروز PTEN به‌طریقه ایمنوهیستوشیمی (IHC) می‌تواند یک روش اسکرین موثر در شناسایی فقدان این پروتئین در ضایعات مختلف باشد. بنابراین رنگ‌آمیزی PTEN به‌طریقه ایمنوهیستوشیمی Immunohistochemistry در برش‌های پارافینی روش جدیدی است که می‌تواند آندومتر در فازهای غیر طبیعی غیر نئوپلاستیک (نظیر سیکل‌های بدون تخمک‌گذاری، هیپرپلازی ساده و پیچیده) را از نئوپلازی آندومتر مخصوصا Early neoplasia نظیر هیپرپلازی پیچیده با آتیپی، carcinoma in situ و superficial carcinoma with focal invasion افتراق دهد.[۱۰] آنتی‌بادی‌های تجاری Anti- PTEN به‌شکل رنگ‌های اختصاصی برای شناسایی نئوپلاسم‌های اندومتریوئید (تیپ I) وجود دارد. بنابراین تلفیق رنگ‌آمیزی PTEN با متد IHC و روش معمول H&E جهت نمونه‌های کورتاژ آندومتر می‌تواند یک روش آموزشی مفید برای پاتولوژیست به‌جهت توصیف‌کردن وسعت و شکل کلون‌های موتاسیون یافته باشد.

روش بررسی

تعداد ۳۰ عدد نمونه آندومتر در فاز پرولیفراتیو، ۳۰ عدد نمونه آندومتر هیپرپلازی (۲۰ عدد هیپرپلازی ساده، هشت عدد هیپرپلازی پیچیده با آتیپی و دو عدد هیپرپلازی پیچیده بدون آتیپی) و ۳۰ عدد نمونه کارسینوم آندومتر از نوع اندومتریوئید انتخاب شد. تمامی نمونه‌ها به‌طریقه کورتاژ به‌دست آمده و از آرشیو بخش پاتولوژی بیمارستان میرزاکوچک خان خارج گردید. پس از بازبینی مجدد کلیه لام‌ها، مواردی‌که همراه پولیپ، آندومتریت و یا اثرات پروژسترونی بود، حذف گردید. سپس از هر نمونه یک بلوک پارافینی انتخاب و با ضخامت دو میکرون برش‌خورده و رنگ‌آمیزی IHC با استفاده از کیت Histostain-Plus مربوط به کمپانی zymed آمریکا و آنتی‌بادی zymed's polyclonal Rabbit anti PTEN صورت گرفت. بافت پروستات به‌عنوان کنترل مثبت و یک‌مورد بدون اضافه کردن آنتی‌بادی به‌عنوان کنترل‌منفی در هر ران (run) کاری گذاشته شد. ایمنوراکتیویته

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-05]

مثبت زمانی در نظر گرفته شد که رنگ قهوه‌ای به‌صورت لوکالیزه در سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیالی غددی نرمال یا تومورال دیده شد. برای بررسی شدت رنگ‌پذیری سلول‌های اپی‌تلیال براساس اطلاعات موجود در بروشور کیت و مقالات مختلف کار شده در این زمینه به‌شکل کیفی و نیمه کمّی در نظر گرفته شد.[۱۲و۱۱و۷و۴] در شکل کیفی بر اساس وجود هر گونه تغییر رنگ قهوه‌ای در سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیال غددی و در نوع نیمه کمّی به دو صورت بررسی شد. در یک حالت با در نظر گرفتن cut-point ۱۰٪ به نحوی‌که حداقل ۱۰٪ سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیالی غدد رنگ‌گرفته باشد و در حالت دیگر با cut- point ۵۰٪ به نحوی‌که حداقل ۵۰٪ سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیال غدد رنگ‌گرفته باشد. نتایج حاصله توسط نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۵ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. لازم به ذکر است که از مجموع ۹۰ مورد بررسی شده، سه مورد به‌ترتیب مربوط به فاز پرولیفراتیو، هیپرپلازی ساده و کارسینوم آندومتر به‌علت ریختن بافت هنگام رنگ‌آمیزی IHC از مطالعه حذف گردید.

یافته‌ها

نتایج رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی PTEN به‌صورت کیفی در جدول ۱ و نیمه کمّی با cut-point ۱۰ و ۵۰٪ در جداول ۲ و ۳ آمده است. ۲۹ مورد آندومتر پرولیفراتیو، تماماً رنگ گرفته (۱۰۰٪)، در هیپر-پلازی از ۲۹ مورد، ۲۷ مورد رنگ گرفته (۹۳٪) و در کارسینوم آندومتر از ۲۹ مورد، ۱۸ مورد رنگ گرفت (۶۲/۱٪) که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین عدم رنگ‌پذیری در نمونه‌های کارسینوم با نمونه‌های هیپرپلازی و آندومتر پرولیفراتیو وجود دارد. (p<۰/۰۰۰۱) در حالت نیمه کمّی با cut-point ۱۰٪: در آندومتر پرولیفراتیو ۲۹ مورد رنگ‌گرفته (۱۰۰٪) در هیپرپلازی ۲۶ مورد (۸۹/۷٪) رنگ گرفته و در کارسینوم آندومتر ۱۴ مورد (۴۸/۳٪) رنگ گرفته بود که در اینجا نیز تفاوت معنی‌دار بین کارسینوم آندومتر، هیپرپلازی و آندومترپرولیفراتیو وجود دارد (p<۰/۰۰۰۱). در cut-point ۵۰٪: ۲۹ مورد اندومتر پرولیفراتیو رنگ‌گرفته (۱۰۰٪). در هیپرپلازی ۲۵ مورد رنگ‌گرفته (۸۹/۲٪) و در کارسینوم آندومتر ۱۳ مورد رنگ گرفته بود (۴۴/۸٪) که در اینجا نیز تفاوت معنی‌دار بین کارسینوم آندومتر، هیپرپلازی و آندومتر پرولیفراتیو دیده می‌شود (p<۰/۰۰۰). جدول ۴ نیز مقایسهٔ دو به دو گروه‌های مختلف را با یکدیگر بر اساس تست Post Hoc Dunnette T3 نشان می‌دهد، که با ۹۵٪ Confidence Interval تفاوت معنی‌داری بین فاز پرولیفراتیو و هیپرپلازی وجود نداشته در حالی‌که تفاوت معنی‌دار بین آندومتر پرولیفراتیو و کارسینوم آندومتر و همین‌طور بین هیپرپلازی و کارسینوم آندومتر دیده می‌شود. جدول ۵ همین‌مقایسه را بین حالات مختلف هیپرپلازی

جدول-۱: میزان بروز PTEN به‌شکل کیفی (+ و - بودن)

آندومتر	مثبت	منفی	مجموع
پرولیفراتیو	۲۹	۰	۲۹
	٪۱۰۰	٪۰	٪۱۰۰
هیپرپلازی	۲۷	۲	۲۹
	٪۹۳/۱	٪۶/۹	٪۱۰۰
کارسینوم	۱۸	۱۱	۲۹
	٪۶۲/۱	٪۳۷/۹	٪۱۰۰
مجموع	۷۴	۱۳	۸۷
	٪۸۵/۱	٪۱۴/۹	٪۱۰۰

p< ۰/۰۰۱

جدول- ۲: میزان بروز PTEN با ۱۰٪ cut- point

آندومتر	٪۱۰>	٪۱۰<	مجموع
پرولیفراتیو	۲۹	۰	۲۹
	٪۱۰۰	٪۰	٪۱۰۰
هیپرپلازی	۲۶	۳	۲۹
	٪۸۹/۷	٪۱۰/۳	٪۱۰۰
کارسینوم	۱۴	۱۵	۲۹
	٪۴۸/۳	٪۵۱/۷	٪۱۰۰
مجموع	۶۹	۱۸	۸۷
	٪۷۹/۳	٪۲۰/۷	٪۱۰۰

p< ۰/۰۰۱

جدول- ۳: میزان بروز PTEN با ۵۰٪ cut-point

آندومتر	٪۵۰>	٪۵۰<	مجموع
پرولیفراتیو	۲۹	۰	۲۹
	٪۱۰۰	٪۰	٪۱۰۰
هیپرپلازی	۲۵	۴	۲۹
	٪۸۶/۲	٪۱۳/۸	٪۱۰۰
کارسینوم	۱۳	۱۶	۲۹
	٪۴۴/۸	٪۵۵/۲	٪۱۰۰
مجموع	۶۹	۱۸	۸۷
	٪۷۹/۳	٪۲۰/۷	٪۱۰۰

p< ۰/۰۰۱

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-05]

جدول- ۴: مقایسه بروز PTEN در گروه‌های مختلف با یکدیگر

(I)	(J)	Mean difference (I-J)	Sig.	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
آندومتر پرولیفراتیو	هیپرپلازی	۴۰/۱۷۲۴۱	۰/۵۹	-۱/۱۷۴۶	۸۱/۵۹۴
آندومتر پرولیفراتیو	کارسینوم آندومتر	۱۴۵/۱۷۲۴۱ *	<۰/۰۰۱	۱۰۲/۵۶۳۵	۱۸۷/۷۸۱۳
هیپرپلازی	کارسینوم آندومتر	۱۰۵/۰۰۰۰۰ *	<۰/۰۰۱	۵۳/۴۹۶۳	۱۵۶/۵۰۳۷

* Post Hoc Dunnette T3

جدول- ۵: مقایسه بروز PTEN در حالات مختلف هیپرپلازی با یکدیگر

(I) V3	(J) V3	Mean difference (I-J)	Std Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
هیپرپلازی ساده	هیپرپلازی پیچیده بدون آتیپی	۸۱/۱۸۴۲۱	۱۱۸/۱۳۸۳۳	۰/۸۶۸	۰۲۲۸۴/۳۶۹۶	۲۴۴۶/۷۳۸۰
هیپرپلازی ساده	هیپرپلازی پیچیده با آتیپی	۹۳/۶۸۴۲۱ *	۲۸/۶۶۷۸۲	۰/۰۲۳	۱۲/۹۸۵۶	۱۷۴/۳۸۲۹
هیپرپلازی پیچیده بدون آتیپی	هیپرپلازی پیچیده با آتیپی	۱۲/۵۰۰۰۰	۱۲۰/۳۲۳۲۳	۰/۹۹۹	-۲۰۱۳/۰۲۳۳	۲۰۳۸/۰۲۲۳

* Post Hoc Dunnette T3

با یکدیگر نشان می‌دهد. در بررسی ما تفاوت معنی‌داری بین هیپرپلازی ساده و هیپرپلازی پیچیده بدون آتیپی دیده نشد. علاوه بر این تفاوت معنی‌داری نیز بین هیپرپلازی پیچیده با و بدون آتیپی به‌دست نیامد. ولیکن تفاوت معنی‌داری بین هیپرپلازی ساده و هیپرپلازی پیچیده با آتیپی دیده شد. در ۱۰٪ cut-point تمامی ۱۹ مورد هیپرپلازی ساده (۱۰۰٪)، از دو مورد هیپرپلازی پیچیده بدون آتیپی یک مورد (۵۰٪)، از هشت مورد هیپرپلازی ساده با آتیپی شش مورد (۷۵٪) و از ۲۹ مورد کارسینوم آندومتر ۱۴ مورد (۴۸/۳٪) رنگ گرفتند (p=۰/۰۰۵). در ۵۰٪ cut-point از ۱۹ مورد هیپرپلازی ساده، ۱۸ مورد (۹۴/۷٪)، از دو مورد هیپرپلازی پیچیده بدون آتیپی، یک مورد (۵۰٪)، از هشت مورد هیپرپلازی پیچیده با آتیپی، شش مورد (۷۵٪) و از ۲۹ مورد کارسینوم آندومتر ۱۳ مورد (۴۴/۸٪) رنگ گرفتند که p=۰/۰۰۱ بود. بروز ایمنوراکتیویته PTEN در لام‌ها به‌شکل هموژن و هتروژن (ناهمگون) بود. به نحوی‌که در برخی موارد سیتوپلاسم تمامی سلول‌های یک غده رنگ گرفته (هموژن) و در کانون‌هایی دیگر رنگ‌پذیری در سیتوپلاسم برخی از سلول‌های یک غده دیده می‌شد و البته به این نکته در مقالات نیز اشاره شده است.[۲] علاوه بر این رنگ‌پذیری مثبت در هسته و سیتوپلاسم سلول‌های استروما نیز دیده شد که خود به‌عنوان کنترل مثبت نیز در نظر گرفته شد. همچنین پایین‌ترین شدت رنگ‌پذیری در کارسینوم اندومتریوئید و بالاترین شدت رنگ‌پذیری در فاز پرولیفراتیو اولیه شناسایی شد. بروز شدت رنگ‌پذیری PTEN در آندومتر پرولیفراتیو و هیپرپلازی ساده به نحو قابل توجهی بیش‌از کارسینوم اندومتریوئید بود.

بحث

نئوپلازی اغلب به‌عنوان پدیده‌ای ناشی از بروز وقایعی که بر روی کنترل پرولیفراسیون سلولی تاثیر می‌گذارند، در نظر گرفته می‌شود و لیکن در واقع توانایی سلول جهت سرباز زدن از مرگ برنامه‌ریزی شده نیز یک نقش مهم در سرطان‌زایی دارد.[۳] موتاسیون ژن PTEN شایع‌ترین تغییر ژنتیکی در کارسینوم و هیپرپلازی آندومتر (به‌عنوان یک ضایعه پیش سرطانی) می‌باشد.[۳و۵] PTEN نه تنها دارای یک نقش مهم در توقف چرخه سلولی و آپوپتوز برنامه‌ریزی شده بوده، بلکه همچنین در دیگر جنبه‌های فیزیولوژی سلولی شامل تنظیم چسبندگی، مهاجرت و تمایز سلول نقش دارد. در هیپرپلازی آندومتر که یک ضایعه پیش سرطانی می‌باشد، از بین رفتن بروز PTEN در ۶۳-۳۰٪ موارد دیده می‌شود.[۵] در مطالعهٔ Orbo ۶۸ نمونه هیستروکتومی و D&C بیماران با تشخیص هیپرپلازی آندومتر مورد بررسی قرار گرفت که ۱۸ مورد همزمان دارای کارسینوم آندومتر نیز بودند. از ۱۸ مورد دارای کارسینوم آندومتر همزمان، ۵۵٪ از بین رفتن بروز PTEN را نشان داده در حالی‌که در ۵۰ مورد باقیمانده با تشخیص هیپرپلازی تنها ۸٪ از بین رفتن بروز PTEN را نشان دادند.[۱۲] در همین مطالعه کارسینوم آندومتر در ۴۴٪، ۱۰٪ و ۰٪ بیماران با تشخیص به‌ترتیب هیپرپلازی پیچیده با آتیپی، هیپرپلازی پیچیده بدون آتیپی و هیپرپلازی ساده دیده شد. در مطالعه ما با روش نیمه کمّی در ۱۰٪ cut-point از بین رفتن بروز PTEN ۰٪، ۰٪، ۳۰٪، و ۵۱/۷٪ در فاز پرولیفراتیو، هیپرپلازی ساده، هیپرپلازی پیچیده و کارسینوم اندومتر-

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-05]

یوئید دیده شد و در ۵۰٪ cut-point ۰٪، ۵/۳٪، ۳۰٪ و ۵۵٪ در فاز پرولیفراتیو، هیپرپلازی ساده، هیپرپلازی پیچیده و کارسینوم اندومتر–یوئید دیده شد. ایمنوراکتیویته PTEN در فاز پرولیفراتیو و هیپرپلازی ساده عمدتا به‌صورت هموژن بود به نحوی‌که سیتوپلاسم تمامی سلول‌های اپی‌تلیال با شدت بالا و بالای ۵۰٪ (به‌جز یک مورد در هیپرپلازی ساده) رنگ گرفته بودند. در حالی‌که ایمنوراکتیویته در هیپرپلازی پیچیده با آتیپی بیشتر به‌صورت هتروژن بود. سیتوپلاسم برخی از غدد به‌طور کامل رنگ‌پذیری را نشان داده ولی در غدد دیگر عدم رنگ‌پذیری در سیتوپلاسم تعدادی از سلول‌های آن غدد دیده می‌شد و این نتیجه با گزارشات سایر مقالات دیگر نیز هم‌خوانی داشت.[۳] Mutter از بین رفتن بروز PTEN را در ۵۵٪ و۶۳٪ تشخیص Endometrioid Intraepithelial Neoplasia (EIN) در دو مطالعه مختلف گزارش کرد.[۱۳و۵] لازم به ذکر است که در رفرانس‌های جدید EIN مشابه هیپرپلازی پیچیده با آتیپی در نظر گرفته شده و در بسیاری از موارد EIN با هیپرپلازی پیچیده با آتیپی هم‌پوشانی دارد.[۱۴] بر اساس WHO بیشتر ضایعات EIN به‌عنوان هیپرپلازی پیچیده با آتیپی در نظر گرفته می‌شوند.[۱۵] علاوه بر این بر اساس جدول ۵ در بررسی ما با مقایسه بروز PTEN در هیپرپلازی ساده و هیپرپلازی پیچیده بدون آتیپی و همچنین هیپرپلازی پیچیده با آتیپی با هیپرپلازی پیچیده بدون آتیپی و مقایسه هیپرپلازی پیچیده با آتیپی با کارسینوم اندومتریوئید این تفاوت معنی‌دار نبوده در حالی‌که با مقایسه هیپرپلازی ساده و هیپرپلازی پیچیده با آتیپی این تفاوت به نحو قابل ملاحظه‌ای معنی‌دار می‌باشد. (confidence interval 95%) به‌هرحال تنها در سه مورد هیپرپلازی پیچیده که دو مورد آن با آتیپی همراه بود، PTEN به‌طور کامل بروز پیدا نکرده بود و در بقیه موارد بروز آن به‌شکل هتروژن بود که شاید یکی از دلایل آن ریزش غدد در طی سیکل ماهیانه باشد. عدم بروز PTEN در ۸۳–۴۵/۸٪ موارد کارسینوم آندومتر گزارش شده است.[۱۳و۵و۴] عدم بروز PTEN در مطالعه ما در بررسی کیفی: ۳۷/۹٪، نیمه کمّی با ۱۰٪ cut-point: ۵۱/۷٪ و ۵۰٪ cut-point: ۵۵/۲٪ بود. علاوه بر این با مقایسه بروز PTEN در فاز پرولیفراتیو و هیپرپلازی این تفاوت معنی‌دار نبوده ولیکن با مقایسه فاز پرولیفراتیو و کارسینوم آندومتریوئید و همچنین هیپرپلازی با کارسینوم آندومتریوئید تفاوت معنی‌دار به‌دست آمد (جدول ۴). تشخیص افتراقی هیستوپاتولوژیک بین کارسینوم آندومتر و هیپرپلازی پیچیده با آتیپی می‌تواند بسیار مشکل باشد[۱۶] و تکرارپذیری طبقه‌بندی WHO برای تشخیص هیپرپلازی ناامید کننده است.[۱۶] یافته‌های به‌دست آمده در مطالعه ما قابل مقایسه با یافته‌های مقالات دیگر می‌باشد که تفاوت معنی‌دار آماری قابل ملاحظه‌ایی بین کارسینوم آندومتر و هیپرپلازی پیچیده با آتیپی به‌دست نیامد[۳] و این می‌تواند مطابق با هیپوتزی که بیان‌گر پیش‌ساز بودن هیپرپلازی پیچیده با آتیپی در کارسینوم آندومتر است، باشد. علاوه بر این کم بودن تعداد نمونه‌های هیپرپلازی پیچیده بدون آتیپی نیز از مواردی است که می‌تواند بر روی نتایج ما تأثیر داشته باشد و شاید اگر این تعداد بیشتر می‌بود نتایج قابل اعتماد بودند (پایین‌تر از ۵۰٪) و همچنین ما از آنتی بادی پلی کلونال استفاده کردیم در حالی‌که بر اساس یک مطالعه جدید[۷] آنتی بادی مونوکلونال 6.H2.1 دارای نتایج قابل قبول‌تری با تغییرات غیر فعال شدن PTEN در حالات تومورال می‌باشد. تفاوت آماری معنی‌داری در بروز PTEN بین هیپرپلازی بدون آتیپی و کارسینوم اندومتریوئید پیدا کردیم ولی تفاوت معنی‌داری بین هیپرپلازی پیچیده با آتیپی و کارسینوم اندومتریوئید پیدا نشد و از آنجایی‌که تصور می‌شود هیپرپلازی پیچیده با آتیپی پیش‌ساز کارسینوم اندومتریوئید باشد،[۱۷] ممکن است این جهش ژنی در اولین مراحل تومورزایی اتفاق افتاده باشد. علاوه بر این به‌نظر می‌آید بین روش‌های کیفی و نیمه کمّی با cut-point ۱۰٪ و ۵۰٪، روش نیمه کمّی با ۱۰٪ cut-point دارای نتایج بهتری در مقایسه با دو روش دیگر باشد. بر این اساس در مطالعه ما فاز پرولیفراتیو به‌طور کامل بروز PTEN را نشان داده و عدم بروز PTEN در هیپرپلازی ساده ۰٪ در هیپرپلازی پیچیده ۳۰٪ و در کارسینوم اندومتریوئید ۵۱/۷٪ دیده شد.

References

1. Hayes MP, Wang H, Espinal-Witter R, Douglas W, Solomon GJ, Baker SJ, et al. PIK3CA and PTEN mutations in uterine endometrioid carcinoma and complex atypical hyperplasia. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 5932-5.
2. Kapucuoglu N, Aktepe F, Kaya H, Bircan S, Karahan N, Ciriş M. Immunohistochemical expression of PTEN in normal, hyperplastic and malignant endometrium and its correlation with hormone receptors, bcl-2, bax, and apoptotic index. *Pathol Res Pract* 2007; 203: 153-62.
3. An HJ, Lee YH, Cho NH, Shim JY, Kim JY, Lee C, et al. Alteration of PTEN expression in endometrial carcinoma is associated with

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-05]

down-regulation of cyclin-dependent kinase inhibitor, p27. *Histopathology* 2002; 41: 437-45.
4. Erkanli S, Kayaselcuk F, Kuscu E, Bagis T, Bolat F, Haberal A, et al. Expression of survivin, PTEN and p27 in normal, hyperplastic, and carcinomatous endometrium. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16: 1412-8.
5. Mutter GL. Diagnosis of premalignant endometrial disease. *J Clin Pathol* 2002; 55: 326-31.
6. Pallares J, Bussaglia E, Martínez-Guitarte JL, Dolcet X, Llobet D, Rue M, et al. Immunohistochemical analysis of PTEN in endometrial carcinoma: a tissue microarray study with a comparison of four commercial antibodies in correlation with molecular abnormalities. *Mod Pathol* 2005; 18: 719-27.
7. Mutter GL, Lin MC, Fitzgerald JT, Kum JB, Baak JP, Lees JA, et al. Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 924-30.
8. Haines S, Fax H, Welles M. Haines & Taylor's Gynecological and Obstetrical Pathology. 5th ed. Spine: Churchill Livingstone: 2003.
9. Zaino RJ, Kauderer J, Trimble CL, Silverberg SG, Curtin JP, Lim PC, et al. Reproducibility of the diagnosis of atypical endometrial hyperplasia: a Gynecologic Oncology Group study. *Cancer* 2006; 106: 804-11.
10. Mutter GL, Duska LR, Crum CP. Endometrial intraepithelial neoplasia. In: Crum C, Lee KR, editors. Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology. Philadelphia, Pa: Elsevier Saunders; 2006. p. 494.
11. Tringler B, Gup CJ, Singh M, Groshong S, Shroyer AL, Heinz DE, et al. Evaluation of p16INK4a and pRb expression in cervical squamous and glandular neoplasia. *Hum Pathol* 2004; 35: 689-96.
12. Mutter GL, Ince TA, Baak JP, Kust GA, Zhou XP, Eng C. Molecular identification of latent precancers in histologically normal endometrium. *Cancer Res* 2001; 61: 4311-4.
13. Orbo A, Nilsen MN, Arnes MS, Pettersen I, Larsen K. Loss of expression of MLH1, MSH2, MSH6, and PTEN related to endometrial cancer in 68 patients with endometrial hyperplasia. *Int J Gynecol Pathol* 2003; 22: 141-8.
14. Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbin's pathologic basis of disease. 6th ed. Philadelphia: Saunders: 1999.
15. George L. Available from: [http://www.endometrium.org]. October 29: 2002.
16. Taranger-Charpin C, Carpentier S, Dales JP, Garcia S, Djemli A, Andrac L, et al. Immunohistochemical expression of PTEN antigen: a new tool for diagnosis of early endometrial neoplasia. *Bull Acad Natl Med* 2004; 188: 415-27.
17. Brigitte M, Kurman RJ, Kurman R. Perecursor lesions of endometrial carcinoma in: Kurman RJ, Blaustein A. Blaustein's pathology of the female Genital tract. 5th ed. New York: Springer-Verlag: 2002.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-05]

Tehran University Medical Journal; Vol. 66, No. 5, Aug 2008: 321-327

Immunohistochemical expression of PTEN in normal, hyperplastic and endometrial carcinoma of endometrium

Sarmadi S.*
IzadiMood N.

Department of Pathology

Tehran University of Medical Sciences

Abstract

Background: Endometrial carcinoma is the most common malignancy of the female genital tract. Different molecular alterations have been described in endometrioid endometrial carcinoma that, the most frequently altered gene is mutations of PTEN. Up to 50-83% of endometrioid carcinoma reveal altered PTEN characterized by loss of expression. In endometrial hyperplasia, which are precursors of endometrioid carcinoma, loss of PTEN expression is 30-63%.

Methods: Immunohistochemical staining was performed on 90 cases of endometrial curettage including: 30 proliferative endometrium, 30 hyperplastic endometrium and 30 endometroid carcinoma.

Immunohistochemical specimens were graded semiquatitatively by considering the percentage of staining with two cut-point 10% & 50% on the whole section for each specimen.

Results: loss of PTEN expression was observed 0%, 0%, 30% of 51.7% in proliferative, simple hyperplasia, complex hyperplasia and endometrioid carcinoma respectively with cut-point 10% and 0%, 5.3%, 30%, 52.2% in endometrioid carcinoma respectively with cut-point 50%. Also there was no difference in PTEN expression between atypical complex hyperplasia and endometrioid carcinoma but there was significant difference between simple hyperplasia and proliferative with endometrioid carcinoma & atypical complex hyperplasia.

Conclusion: These results show loss of PTEN expression in endmetrioid carcinoma and no differences between endometrioid carcinoma and atypical complex hyperplasia. Therefore, assessment of PTEN expression by negative immunostaining and matched with routine hematoxylin and eosin stained can be a new tool for diagnosis of endometrioid carcinoma.

Keywords: PTEN, Endometrioid carcinoma, Endometrial hyperplasia, Immunohistochemistry.

* Corresponding author: Dept. of Pathology, Mirza Koochak Khan Hospital, Nejatollahi St., Karim Khan Zand Ave., Tehran, IRAN
Tel: +98-21-88906767
email: ssarmadi@yahoo.com

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-05]