

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

چکیده

سهیلا سرمدی*

نگرس ایزدی‌مود

گروه پاتولوژی

دانشگاه علوم پزشکی تهران

زمینه و هدف: آدنوکارسینوم آندومتریوئید آندومتر از شایع‌ترین بدخیمی‌های دستگاه تناسلی خانم‌ها بوده که به دنبال یکسری تغییرات ژنتیکی به شکل 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 به روش ایمنوهیستوشیمی بر روی بلوک‌های پارافینی صورت گرفت و درصد رنگ‌پذیری به شکل نیمه کمی با دو Cut-point ۱۰٪ و ۵۰٪ بررسی گردید. **یافته‌ها:** با در نظر گرفتن ۱۰٪ cut-point از بین رفتن بروز PTEN ۰٪، ۰٪، ۳۰٪، ۵۱٪ به ترتیب در فاز پرولیفراتیو، هیپرپلازی ساده، هیپرپلازی پیچیده و کارسینوم آندومتریوئید و در ۵۰٪ CUT-POINT ۰٪، ۳/۵٪، ۳۰٪ و ۵۵/۲٪ به ترتیب 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 آتیبی تفاوت معنی‌دار به دست نیامد. علاوه بر این تفاوت معنی‌داری نیز بین هیپرپلازی پیچیده با آتیبی و کارسینوم آندومتریوئید 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 آندومتریوئید و هیپرپلازی پیچیده با آتیبی، ارزیابی بروز PTEN به طریق ایمنوهیستوشیمی می‌تواند یک روش موثر در شناسایی فقدان این پروتئین در ضایعات مختلف باشد.

کلمات کلیدی: PTEN، کارسینوم آندومتریوئید، هیپرپلازی آندومتر، ایمنوهیستوشیمی.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان استاد نجات الهی شمالی، بیمارستان میرزا کوچک‌خان، بخش پاتولوژی، کد پستی: ۱۵۹۷۸۵۶۵۱۱، تلفن: ۸۸۹۰۶۶۶۷، email: ssarmadi@yahoo.com

مقدمه

یائسگی و همزمان با هیپرپلازی آندومتر بروز می‌کند و یا اینکه قبل از پیدایش آن هیپرپلازی آندومتر 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.^۱ هیپرپلازی آندومتر یک علت دیگر خونریزی غیر طبیعی رحمی (AUB) است که به علت 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.^۲ 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 به خصوص در خانم‌های جوان که

کارسینوم آندومتر (Endometrial Carcinoma) از نظر فراوانی چهارمین نئوپلاسم بدخیم در زنان بوده^۱ و شایع‌ترین سرطان دستگاه تناسلی زنان می‌باشد به نحوی که 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.^۱ این سرطان عمدتاً در زنان یائسه و به صورت خونریزی رحمی غیر طبیعی (AUB) ظاهر 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 آندومتر به دو دسته اصلی تقسیم می‌شود. تومورهای تیپ I که اغلب وابسته به استروژن هستند و به طور عموم در خانم‌های حوالی سنین قبل و حول و حوش

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 به سمت 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 مخصوصاً 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 میرزا کوچک خان خارج گردید. پس از بازبینی مجدد کلیه لام‌ها، مواردی که همراه پولیپ، آندومتریوت 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 PTEN zymed's polyclonal Rabbit anti PTEN صورت گرفت. بافت پروستات به‌عنوان کنترل مثبت و یک‌مورد بدون اضافه کردن آنتی‌بادی به‌عنوان کنترل منفی در هر ران (run) کاری گذاشته شد. ایمنوراکتیویته

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 KRAS، PTEN 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 کروموزوم 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 تنظیم‌کننده 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.^{۸،۹} فعال بودن این ژن منجر به تولید محصولی به‌شکل dual-specificity phosphatase گردیده که به‌طور کاملاً بارز در استروما و غدد اپی‌تلیالی آندومتر دیده می‌شود.

Confidence Interval Post Hoc Dunnett T3 نشان می‌دهد، که با ۹۵٪ وجود نداشته در حالی که تفاوت معنی‌داری بین فاز پرولیفراتیو و هیپرپلازی وجود نداشتند. جدول ۵ همین‌طور بین هیپرپلازی و کارسینوم آندومتر دیده می‌شود. جدول ۵ همین‌مقایسه را بین حالات مختلف هیپرپلازی

جدول-۱: میزان بروز PTEN به شکل 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

مثبت زمانی در نظر گرفته شد که رنگ قهوه‌ای به صورت 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 به شکل کیفی و نیمه کمی در نظر گرفته شد.^{۱۱،۱۲،۱۳} در شکل کیفی بر اساس وجود هر گونه تغییر رنگ قهوه‌ای در سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیال غددی و در نوع نیمه کمی به دو صورت بررسی شد. در یک حالت با در نظر گرفتن ۱۰٪ cut-point به نحوی که حداقل ۱۰٪ سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیالی غدد رنگ‌گرفته باشد و در حالت دیگر با ۵۰٪ cut-point به نحوی که 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 به ترتیب مربوط به فاز پرولیفراتیو، هیپرپلازی ساده و کارسینوم آندومتر به علت ریختن بافت هنگام رنگ‌آمیزی IHC از مطالعه حذف گردید.

یافته‌ها

نتایج رنگ‌آمیزی ایمنو هیستوشیمی PTEN به صورت کیفی در جدول ۱ و نیمه کمی با cut-point ۱۰ و ۵۰٪ در جداول ۲ و ۳ آمده است. ۲۹ مورد آندومتر پرولیفراتیو، تماماً رنگ‌گرفته (۱۰۰٪)، در هیپرپلازی از ۲۹ مورد، ۲۷ مورد رنگ‌گرفته (۹۳٪) و در کارسینوم آندومتر از ۲۹ مورد، ۱۸ مورد رنگ‌گرفت (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 کمی با ۱۰٪ cut-point: در آندومتر پرولیفراتیو ۲۹ مورد رنگ‌گرفته (۱۰۰٪) در هیپرپلازی ۲۶ مورد (۸۹/۷٪) رنگ‌گرفته و در کارسینوم آندومتر ۱۴ مورد (۴۸/۳٪) رنگ‌گرفته بود که در اینجا نیز تفاوت معنی‌دار بین کارسینوم آندومتر، هیپرپلازی و آندومتر پرولیفراتیو وجود دارد (p < ۰/۰۰۰۱). در ۵۰٪ cut-point: ۲۹ مورد آندومتر پرولیفراتیو رنگ‌گرفته (۱۰۰٪)، در هیپرپلازی ۲۵ مورد (۸۶/۲٪) رنگ‌گرفته (۱۰۰٪)، در کارسینوم آندومتر ۱۳ مورد (۴۴/۸٪) رنگ‌گرفته (۱۰۰٪) که در اینجا نیز تفاوت معنی‌دار بین کارسینوم آندومتر، هیپرپلازی و آندومتر پرولیفراتیو دیده می‌شود (p < ۰/۰۰۰). جدول ۴ نیز مقایسه دو به دو گروه‌های مختلف را با یکدیگر بر اساس تست

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 Dunnett 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	۲۰۳۸/۰۲۳۳

* Post Hoc Dunnett T3

بحث

نئوپلازی اغلب به‌عنوان پدیده‌ای ناشی از بروز وقایعی که بر روی کنترل پرولیفراسیون سلولی تاثیر می‌گذراند، 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.^۳ 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 مطالعه Orbo ۶۸ نمونه هیستریکتومی و D&C بیمارانی 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 حالی که 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 کمی در ۱۰٪ cut-point از بین رفتن بروز PTEN، ۰٪، ۳۰٪، و ۵۱/۷٪ در فاز پرولیفراتیو، هیپرپلازی ساده، هیپرپلازی پیچیده و کارسینوم آندومتر-

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 ایمونواکتیویته PTEN در لام‌ها به‌شکل هموزن و هتروژن (ناهمگون) بود. به نحوی که در برخی موارد سیتوپلاسم تمامی سلول‌های یک غده رنگ گرفته (هموزن) 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 آندومتریوئید و بالاترین شدت رنگ‌پذیری در فاز پرولیفراتیو اولیه شناسایی شد. بروز شدت رنگ‌پذیری PTEN در آندومتر پرولیفراتیو و هیپرپلازی ساده به نحو قابل توجهی بیش از کارسینوم آندومتریوئید بود.

cut-point: ۰/۵۵/۲ 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 آنتی‌بی 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 آنتی‌بی به‌دست نیامد^۳ و این می‌تواند مطابق با هیپوتزی که بیان‌گر پیش‌ساز بودن هیپرپلازی پیچیده با آنتی‌بی در کارسینوم آندومتر است، باشد. علاوه بر این کم بودن تعداد نمونه‌های هیپرپلازی پیچیده بدون آنتی‌بی 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 ۰/۵۰) و همچنین ما از آنتی‌بادی پلی‌کلونال استفاده کردیم در حالی‌که بر اساس یک مطالعه جدید^۷ آنتی‌بادی 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 آنتی‌بی و کارسینوم آندومتریوئید پیدا کردیم ولی تفاوت معنی‌داری بین هیپرپلازی پیچیده با آنتی‌بی و کارسینوم آندومتریوئید پیدا نشد و از آنجایی‌که تصور می‌شود هیپرپلازی پیچیده با آنتی‌بی پیش‌ساز کارسینوم آندومتریوئید باشد،^{۱۷} ممکن است این جهش ژنی در اولین مراحل تومورزایی اتفاق افتاده باشد. علاوه بر این به‌نظر می‌آید بین روش‌های کیفی و نیمه کمی با cut-point ۰/۱۰ و ۰/۵۰، روش نیمه کمی با ۰/۱۰ 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 ۰/۳۰٪ و در کارسینوم آندومتریوئید ۰/۵۱/۷ دیده شد.

یوئید دیده شد و در cut-point ۰/۵۰٪، ۰/۵/۳٪، ۰/۳۰٪ و ۰/۵۵٪ در فاز پرولیفراتیو، هیپرپلازی ساده، هیپرپلازی پیچیده و کارسینوم آندومتر-یوئید دیده شد. ایمنوراکتیویته PTEN در فاز پرولیفراتیو و هیپرپلازی ساده عمدتاً به‌صورت هموزن بود به نحوی‌که سیتوپلاسم تمامی سلول‌های اپی‌تلیال با شدت بالا و بالای ۰/۵۰٪ (به‌جز یک مورد در هیپرپلازی ساده) رنگ گرفته بودند. در حالی‌که ایمنوراکتیویته در هیپرپلازی پیچیده با آنتی‌بی 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 ۰/۵۵٪ و ۰/۶۳٪ تشخیص Endometrioid Intraepithelial Neoplasia (EIN) در دو مطالعه مختلف گزارش کرد.^{۱۳، ۱۵} لازم به ذکر است که در رفرانس‌های جدید EIN مشابه هیپرپلازی پیچیده با آنتی‌بی در نظر گرفته شده و در بسیاری از موارد EIN با هیپرپلازی پیچیده با آنتی‌بی هم‌پوشانی دارد.^{۱۴} بر اساس WHO بیشتر ضایعات EIN به‌عنوان هیپرپلازی پیچیده با آنتی‌بی 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 آنتی‌بی و همچنین هیپرپلازی پیچیده با آنتی‌بی با هیپرپلازی پیچیده بدون آنتی‌بی و مقایسه هیپرپلازی پیچیده با آنتی‌بی با کارسینوم آندومتریوئید این تفاوت معنی‌دار نبوده در حالی‌که با مقایسه هیپرپلازی ساده و هیپرپلازی پیچیده با آنتی‌بی این تفاوت به نحو قابل ملاحظه‌ای معنی‌دار می‌باشد. (confidence interval 95%) به‌هرحال تنها در سه مورد هیپرپلازی پیچیده که دو مورد آن با آنتی‌بی 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 ۰/۴۵/۸-۰/۸۳ موارد کارسینوم آندومتر گزارش شده است.^{۱۳، ۱۵} عدم بروز PTEN در مطالعه ما در بررسی کیفی: ۰/۳۷/۹، نیمه کمی با ۰/۱۰٪ cut-point: ۰/۵۱/۷ و ۰/۵۰٪

References

- 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.
- 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.

- An HJ, Lee YH, Cho NH, Shim JY, Kim JY, Lee C, et al. Alteration of PTEN expression in endometrial carcinoma is associated with

- down-regulation of cyclin-dependent kinase inhibitor, p27. *Histopathology* 2002; 41: 437-45.
- 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.
 - Mutter GL. Diagnosis of premalignant endometrial disease. *J Clin Pathol* 2002; 55: 326-31.
 - 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.
 - 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.
 - Haines S, Fax H, Welles M. Haines & Taylor's Gynecological and Obstetrical Pathology. 5th ed. Spine: Churchill Livingstone: 2003.
 - 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.
 - 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.
 - 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.
 - 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.
 - 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.
 - Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins's pathologic basis of disease. 6th ed. Philadelphia: Saunders: 1999.
 - George L. Available from: [<http://www.endometrium.org>]. October 29: 2002.
 - 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.
 - Brigitte M, Kurman RJ, Kurman R. Precursor lesions of endometrial carcinoma in: Kurman RJ, Blaustein A. Blaustein's pathology of the female Genital tract. 5th ed. New York: Springer-Verlag: 2002.

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 endometrioid carcinoma.

Immunohistochemical specimens were graded semiquantitatively 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 endometrioid 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