● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره نهم، شمارهٔ ٤، مهر – آبان ١٣٨٦، صفحه ٧-١٤
دریافت: ٨٥/١١/٢٨، ارسال جهت اصلاح: ٨٦/٢/٢٦، پذیرش: ٨٦/٥/٣

بیان مارکرهای P53، $P27^{kip1}$ و ki-67 در کانسر معده و همراهی آن با شاخص های هیستوپاتولوژیک در نمونه های گاستروکتومی بیماران بیمارستان شهید بهشتی بابل در سال های ۸۵-۷۹

انسیه شفیق [*1]، یاسر عبدالعظیمی[2]، شهریار شفائی[1]، محمود حاجی احمدی[4]

۱- استادیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی بابل ۲- دستیار گروه پاتولوژی ۳- عضو هیات علمی گروه پزشکی اجتماعی دانشگاه علوم پزشکی بابل

سابقه و هدف: در مطالعات مختلف بیان ژنهای کنترل کننده چرخه سلولی (P53, P27) و شاخص تکثیر (Ki-67) در کانسر معده نتایج متفاوتی را با سرانجام بیماری و نیز با بعضی از شاخصه های کلینیکوهیستوپاتولوژیک نشان داده است. این مطالعه با هدف یافتن ارتباط بین بیان این مارکرها و شاخصه های هیستوپاتولوژیک در سرطان معده صورت گرفت.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی (آزمایشگاهی) بلوکهای پارافینی ۵۸ نمونه گاسترکتومی انتخاب و نتایج حاصله پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و ایمونوهیستوشیمی برای مارکرهای Ki-67، P53 و P27، نتایج حاصله با یافته های هیستوپاتولوژیک مقایسه و ارتباط آنها ارزیابی گردید.

یافته ها: در این مطالعه نسبت مرد به زن ۲/۸۶ به ۱، میانگین سنی ۶۰ سال، شایع ترین محل تومور آنتر (۲۷مورد) و شایع ترین شکل ماکروسکوپی نوع زخمی (۲۹ مورد) بود. در طبقه بندی لورن نوع روده ای (٤٠ مورد) و در طبقه بندی مینگ نوع ارتشاحی (٤٨ مورد) فرم غالب بوده و از نظر درجه هیستولوژیک اکثریت با نوع دارای تمایز خوب (گرید ۱، ۲۹ مورد) بود و مراحل T3 + T4 (٤٩مورد) بیشترین موارد بودند. درگیری عقده لنفی و رگ و عصب به ترتیب ٤١، ٤٩ و ٤٧ مورد و میزان بیان P53، $P27^{Kip1}$ و Ki67 به ترتیب ۵۶/۹٪، ۵۶/۹٪ و ۷۵/۹٪ بود. تنها بیان پروتئین های P53 و Ki-67 ارتباط معنی داری با یکدیگر داشتند (r=۰/۳۲۳، p=۰/۰۲۸) و در بقیه موارد ارتباط معنی داری یافت نشد.

بحث و نتیجه گیری: نتیجه مطالعه نشان داد که بررسی مارکرهای P53، $P27^{Kip1}$ و Ki-67 به تنهایی در پیش بینی رفتار بیولوژیک کانسر معده ارزش تشخیصی ندارند.

واژه های کلیدی: *کانسر معده، P53، P27، Ki-67، ایمونوهیستوشیمی.*

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره نهم، شماره ۴، مهر – آبان ۱۳۸۶، صفحه۷-۱۴

مقدمه

با پیشرفت پزشکی و ابداع روشهای جدید تشخیص براساس شناسایی ماده ژنتیکی، Ligase Chain Reaction (LCR)، Southern Blot Hybridization (SBH)، Polymerase Chain Reaction (PCR) و... و همچنین رنگ آمیزیهای ایمونوهیستوشیمی گام های مهم و موثری در تشخیص بیماری ها برداشته شد. IHC روش تشخیصی است که با کمک آنتی بادی علیه اجزاء خاص سیتوپلاسمی یا هسته ای، نوع تومور و وجود یا فقدان یک آنتی ژن خاص را امکان پذیر می نماید. P53 یک ژن سرکوب کننده تومور است که به نام پلیس سلولی نیز مشهور است و بر روی کروموزوم ۱۷ قرار دارد. فعالیت های عمده پروتئین P53 توقف چرخه سلولی و

▣ هزینه انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۱۹۰۲۰٤٤۵ از اعتبارات دانشگاه علوم پزشکی بابل تامین شده است.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.4.1.8]

آغاز آپوپتوز در پاسخ به آسیب DNA می باشد. بیش از ۵۰٪ تومورهای انسانی جهش این ژن را دارند. از دست رفتن هر دو آلل P53 تقریباً در تمامی سرطان ها از جمله کارسینوم ریه، کولون و پستان دیده می شود (۱). بیان بیش از حد (Overexpression) هسته ای P53 که بوسیله IHC مشخص می شود با موتاسیون آن مرتبط است (۲). تومورهای دارای P53 نرمال به احتمال بیشتری به رادیاسیون و کموتراپی پاسخ می دهند تا آنهایی که P53 جهش یافته ای دارند (۱). پروتئین $P27^{Kip1}$ یکی از اعضای خانواده Cip/Kip بوده و مهارکننده های Cyclin-dependent kinase (CDK) از طریق اتصال به آنها می باشد. این مولکولها تنظیم کننده های منفی (بازدارنده) چرخه سلولی و ژنهای بالقوه سرکوب کننده تومور از طریق کنترل پروسه های اساسی سلولی نظیر تقسیم (Proliferation)، تمایز و آپوپتوز هستند. ژنهای سرکوب کننده تومور یعنی P53 و $P27^{Kip1}$ توقف چرخه سلولی را G_1/S-junction القا می کنند (۱و۳و۴). یافته ها در چندین مطالعه نشان می دهند که بیان کم یا عدم بیان پروتئین $P27^{Kip1}$ و بیان بیش از حد P53 با پیشرفت تومور و پیش آگهی ضعیف در چندین نوع کانسر مثل کارسینوم کبد، پروستات، حنجره، کولون و مری در ارتباط است (۵–۱۰).

مطالعات متعددی نیز نشان داده اند که بیان بیش از حد $P27^{Kip1}$ در سرطان معده باعث بهبود در سرانجام می شود. همچنین اکثر مطالعات در مورد P53 مبین نقش این مارکر در پیش آگهی سرطان معده بوده است، اگرچه گزارشات متناقض نیز در این زمینه منتشر شده که می تواند به علت استفاده از آنتی بادی ها و تکنیک های مختلف باشد (۳و۴و۷و۱۱و۱۲).

Ki-67 یک آنتی ژن خاص تزاید سلولی (پرولیفراسیون) را شناسایی می نماید. Ki- 67 توسط سلولهایی که در مراحل انتهایی فاز G_1، S، و G_2 و M هستند بیان می شود اما در سلولهایی که در G_0 هستند بروز داده نمی شود. رنگ آمیزی آن عمدتاً هستکی یا دور هستکی است. میزان تزاید سلولی که توسط ایمونوراکتیویته Ki-67 بررسی می شود به عنوان یک شاخص پیش آگهی در چندین نئوپلاسم بدخیم مورد مطالعه قرار گرفته است و نشان داده شده است که با درجه تومور و دوره بالینی آن ارتباط دارد (۳و۱۳).

با توجه به اثبات نقش کلیدی موتاسیون بعضی ژنهای سرکوب کننده تومور مثل P53 در بروز بعضی سرطان ها و همچنین تغییر در بروز پروتئین تنظیم کننده چرخه سلولی P27 و مارکر تزایدسلولی Ki-67، در بسیاری از کانسرها می توان از تعیین ارتباط بیان ایمونوهیستوشیمی آنها با شاخصه های کلینیکو پاتولوژیک، تومورهای دارای خاصیت تهاجمی بیشتر و به تبع آن بیماران در معرض خطر را شناسایی کرد (۳–۸ و ۱۱و۱۴–۱۸). هدف از این مطالعه، تعیین بروز این مارکرها در کارسینوم معده، (یکی از شایع ترین انواع سرطان در ایران) و ارتباط آنها با پارامترهای هیستوپاتولوژیک می باشد.

مواد و روشها

انتخاب نمونه: جهت تهیه نمونه های مربوط به کارسینوم معده با مراجعه به بایگانی بخش پاتولوژی بیمارستان شهید بهشتی بابل اسامی ۵۸ بیمار در بین سالهای ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۵ که تحت گاسترکتومی قرار گرفته بودند از مجموعه کانسرهای معده استخراج و با بررسی لام های مربوطه، بهترین بلوک پارافینی هر یک از آنها که دارای بیشترین حجم تومور بود، انتخاب و جدا شد. پس از برش بلوک های مربوطه، رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) و نیز رنگ آمیزی به روش ایمونوهیستوشیمی (IHC) برای مارکرهای Ki-67، P53 و P27 بر روی آنها انجام شد. نتایج بدست آمده از رنگ آمیزی مارکرها به روش IHC با یافته های هیستوپاتولوژیک (بدست آمده از پرونده بیماران در بایگانی و رنگ آمیزی H&E) شامل سن (۶۰≤ و ۶۰< سال)، جنسیت، اندازه تومور (۶≤ و ۶< سانتیمتر)، محل تومور (کاردیا، فوندوس، آنتر)، نمای ماکروسکوپیک (زخمی، قارچی شکل، ارتشاحی)، درجه هیستولوژیک (G_1, G_2, G_3)، نوع تومور با توجه به طبقه بندی لورن (روده ای، منتشر) و مینگ (ارتشاحی، گسترشی)، T-Stage (T3 + T4, T1+ T2)، متاستاز به عقده لنفی، تهاجم به عصب و رگ مورد ارزیابی و تجزیه و تحلیل قرار گرفتند (۱۹و۲۰).

رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی: بیان P53، $P27^{Kip1}$ و Ki-67 به روش ایمونوهیستوشیمیایی بررسی گردید: روش کمپلکس استرپتوآویدین، بیوتین، پراکسیداز (Labelled Strept-Avidin Biotio/HRP) بر روی برشهای ۴ میکرومتری بافتهای برش داده شده از روی بلوکهای پارافینی انجام شد. لام هایی که از آنها استفاده گردید، سیالینیزه بودند که جهت چسبندگی بهتر بافت به لام شیشه ای مورد استفاده قرار گرفتند. پس از برش و دپارافینیزه

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.4.1.8]

کردن در گزیلول و آبگیری در الکل، جهت مهار فعالیت پراکسیداز داخلی برشها در پراکسیدهیدروژن ۳٪ در آب بمدت ۲۰ دقیقه انکوبه شدند و متعاقباً جهت بازیابی آنتی ژنی(Antigen Retrieval) برشهای بافتی در محلول بافرسیترات (۶ PH و ۰/۰۱ M) قرار داده شد و بمدت ۲۰دقیقه در اتوکلاو با درجه حرارت ۱۲۱درجه سانتیگراد گذاشته شدند. سپس برش ها با استفاده از آنتی بادی های خاص هر مارکر به روش زیر رنگ آمیزی شدند:

برای P53 از Monoclonal Mouse Anti- Human, Clone Do-7, DAKO (کدN۱۵۸۱) و برای Ki-67 از Monoclonal Mouse Anti- Human; Clone: MIB-1, DAKO (کدN۱۶۳۳) و برای $P27^{Kip1}$ از Monoclonal Mouse Anti- Human; Clone SX 53G8, DAKO (کد M۷۲۰۳) و با رقت.۵/۱ استفاده شد که براساس توصیه بروشورهای هر کدام از کیت ها زمان انکوباسیون اولیه برای این آنتی بادیهای اولیه ۲۵ دقیقه در دمای اتاق بودند. پس از شستشو با TBS، توسط یک لایه از ایمونوگلوبولینهای Biotinylated Goat Anti- Rabbit/Mouse (آنتی بادی ثانویه) درسالین بافر شده با فسفات (PBS) حاوی پروتئین تثبیت کننده به مدت ۲۵ دقیقه لام ها در هوای اتاق انکوبه شدند. برای هر کدام از مارکرهای فوق یک برش اضافی بدون به کارگیری آنتی بادی اولیه به عنوان کنترل منفی نیز رنگ آمیزی شد. در مرحله بعد کنژوگه استرپتاویدین به Horseradish peroxidase در محلول بافر به برش ها اضافه گردید (مدت انکوباسیون ۲۵ دقیقه) پس از شستشو و افزودن یک قطره Substrate-Chromogen با مدت انکوباسیون ۱۰ دقیقه لام ها جهت مرحله آخر که رنگ آمیزی متقابل با هماتوکسیلین بودند آماده شدند (DAKO $LSAB_2$ System- HRP).

ارزیابی رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی: براساس بررسی چندین مقاله و کتاب در ارزیابی رنگ آمیزی های IHC معیارهای Scoring برای P53، $P27^{Kip1}$ و Ki-67 بر پایه شدت رنگ پذیری(Staining Intensity) و نسبت سلولهای مثبت (Proportion of Nuclear Staining) به صورت زیر در نظر گرفته شد (۲۱-۲۳): میزان Cut- off برای مثبت یا منفی بودن P53، $P27^{Kip1}$ و Ki-67 به صورت زیر تعیین شد:

– رنگ آمیزی P53، $P27^{Kip1}$ وقتی مثبت در نظر گرفته می شوند که ۱۰٪ < سلولهای تومورال شدت رنگ پذیری متوسط (++) یا بالاتر داشته باشند.

– رنگ آمیزی Ki-67 وقتی مثبت در نظر گرفته می شود که ۲۵٪ < سلولهای تومورال شدت رنگ پذیری متوسط (++) یا بالاتر داشته باشند. رنگ آمیزی P53، P27 و Ki-67 هسته ای هستند.

تجزیه و تحلیل داده ها با نرم افزار SPSS و تستهای آماری Chi- Square و Fisher- Exact و ضریب همبستگی انجام شد. $p<۰/۰۵$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه تعداد موارد کارسینوم معده ۵۸ مورد بود که از بیمارانی که در بین سالهای ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۵ تحت گاسترکتومی قرار گرفته بودند انتخاب شدند. بهترین بلوکهای پارافینی این نمونه ها جدا شده و برای پروتئین های P53، P27 و Ki-67 رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی شدند. با توجه به اینکه بطور نرمال $P27^{Kip1}$ در لنفوسیتها و Ki-67 در مراکز زایگر فولیکول های لنفاوی مثبت می گردند، از این خاصیت به عنوان یک کنترل مثبت داخلی در رنگ آمیزی استفاده شد. میزان بیان P53، $P27^{Kip1}$ و Ki-67 به ترتیب ۵۶/۹٪، ۵۶/۹٪ و ۷۵/۹٪ بود. رنگ آمیزی IHC برای P53 و P27 و Ki-67 در تمام نمونه هایی که این مارکرها را بروز دادند، هسته ای بودند. ارتباط بیان ایمونوهیستوشیمی پروتئینهای P53، P27 و Ki-67 در جدول ۱ قید شده است. همانطور که ملاحظه میشود بیان P53 و Ki-67 ارتباط معنی دار ($r=۰/۳۲۳$، $p=۰/۰۲۸$) با یکدیگر داشتند. ولی بین P53 و P27وKi67 رابطه معنی داری بدست نیامد. ارتباط بین شاخصه های کلینیکوپاتولوژیک و بیان ایمونوهیستوشیمی پروتئین های P53، $P27^{kip1}$ و Ki-67 در جدول ۲ آمده است. در این مطالعه بین بیان پروتئین های P53 و $P27^{Kip1}$ و Ki-67 و هیچ یک از پارامترهای هیستوپاتولوژیک (سن، جنس، محل تولد، ماکروسکوپی، گرید هیستولوژیک، stage تومور، متاستاز به غده لنفی، تهاجم به عصب و رگ، طبقه بندی کولون) ارتباط معنی داری بدست نیامد. در این مطالعه نسبت مرد به زن۲/۸۶ به ۱، میانگین سنی۶۰سال، شایعترین محل تومور آنتر (۴۶٪) و شایعترین شکل ماکروسکوپی تومور نوع زخمی (Ulcerating،۵۰٪) بود. نوع

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.4.1.8]

روده ای در طبقه بندی لورن ۶۸٪، نوع ارتشاحی در طبقه بندی مینگ ۸۲٪، از نظر گرید هیستولوژیک به ترتیب نوع G_1 ۵۰٪، G_3 ۲۵٪ و G_2 ۲۴٪ و اکثر تومورها در مراحل T3 + T4 (۸۴٪) بودند.

۷۰٪ نمونه ها دارای متاستاز به عقده لنفی، ۸۴٪ دارای تهاجم به عروق و ۸۱٪ دارای تهاجم به عصب بودند.

جدول ۱. ارتباط بیان ایمونوهیستوشیمی پروتئین های P53 و $P27^{Kip1}$ و Ki-67

پارامترها	n	P27Kip1 P27+ No.(%)	P-value	P53 P53+ No(%)	P- value	Ki67 Ki67+ No.(%)	P- vaule
$P27^{Kip1}$(n=58)							
مثبت	۳۳			۲۰(۶۰/۶)	۰/۵۹۷	۲۵(۷۵/۸)	۱/۰۰
منفی	۲۵			۱۳(۵۲/.)		۱۹(۷۶/۰)	
P53 (n=58)							
مثبت	۳۳	۲۰(۶۰/۶)	۰/۵۹۷			۲۹(۸۷/۹	۰/۰۲۸
منفی	۲۵	۱۳(۵۲/۰)				۱۵(۶۰/۰)	
Ki67 (n=58)							
مثبت	٤٤	۲۵(۵۶/۸)	۱/۰۰	۲۹(۶۵/۹)	۰/۰۲۸		
منفی	۱٤	۸(۵۷/۱)		٤(۲۸/۶)			

جدول ۲. پارامترهای هیستو پاتولوژیک و رابطه آنها با بیان ایمونوهیستوشیمی پروتئین های P53 ، $P27^{Kip1}$ و Ki-67

پارامترها	n	P27Kip1 P27+ No(%)	P-value	P53 P53+ No(%)	P- value	Ki67 Ki67+ No(%)	P- value
(n = ۵۸) سن به سال							
≤ ۶۰	۲۳	۱۵(۶۵/۲)	۰/٤۱۷	۱٤(۶۰/۹)	۰/۷۸۷	۱۸(۷۸/۳)	۱/۰۰
> ۶۰	۳۵	۱۸(۵۱/٤)		۱۹(۵٤/۳)		۲۶(۷٤/۳)	
(n = ۵۸) جنس							
مرد	٤۳	۲۶(۶۰/۵)	۰/۳۸۱	۲٤(۵۵/۸)	۱/۰۰	۳۰(۶۹/۸)	۰/۰۸۷
زن	۱۵	۷(٤۶/۷)		۹(۶۰/۰)		۱٤(۹۳/۳)	
(n = ۵۸) محل تومور							
کاردیا	۲۲	۹(٤۰/۹)	۰/۱۵۸	۱۳(۵۹/۱)	۰/۲۸۹	۱۷(۷۷/۳)	۰/۲۸٤
فوندوس	۹	۶(۶۶/۷)		۳(۳۳/۳)		۵(۵۵/۶)	
آنتر	۲۷	۱۸(۶۶/۷)		۱۷(۶۳/۰)		۲۲(۸۱/۵)	
(n = ۵۸) ماکروسکوپی							

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.4.1.8]

(Ulcerating) زخمی	۲۹	۱۵(۵۱/۷)	۰/۶۲۲	۱۵(۵۱/۷)	۰/۶۲۲	۲۳(۷۹/۳)	۰/۳۱۶
(Fungating) قارچی شکل	۲۵	۱۵(۶۰/۰)		۱۵(۶۰/۰)		۱۷(۶۸/۰)	
(Infiltrative) ارتشاحی	٤	۳(۷۵/۰)		۳(۷۵/۰)		٤(۱۰۰)	
(n =۵۸) اندازه تومور							
≤ ۶	۳۶	۲۱(۵۸/۳)	۰/۷۹۲	۲٤(۶۶/۷)	۰/۰۶۳	۲۶(۷۲/۲)	۰/۵۳۳
> ۶	۲۲	۱۲(۵٤/۵)		۹(٤۰/۹)		۱۸(۸۱/۸)	
(n =۵۸) طبقه بندی لورن							
(Intestinal) روده ای	٤۰	۲۳(۵۷/۵)	۱/۰۰	۲۰(۵۰/۰)	۰/۱۵۵	۲۸(۷۰/۰)	۰/۱۸۷
(Diffuse) منتشر	۱۸	۱۰(۵۵/۶)		۱۳(۷۲/۲)		۱۶(۸۸/۹)	
(n =۵۸) طبقه بندی مینگ							
(Infiltrative) ارتشاحی	٤۸	۲۷(۵۶/۳)	۱/۰۰	۲۸(۵۸/۳)	۰/۷۳۱	۳۸(۷۹/۲)	۰/۲۳۳
(Expansive) گسترشی	۱۰	۶(۶۰/۰)		۵(۵۰/۰)		۶(۶۰/۰)	
(n =۵۸) گریدهیستولوژیک							
G_1	۲۹	۱۷(۵۸/۶)	۰/۹٤۵	۱٤(٤۸/۳)	۰/۲۸۲	۱۹(۶۵/۵)	۰/۱۱۹
G_2	۱٤	۸(۵۷/۱)		۸(۵۷/۱)		۱۱(۷۸/۶)	
G_3	۱۵	۸(۵۳/۳)		۱۱(۷۳/۳)		۱٤(۹۳/۳)	
T-Stage (n =۵۸)							
T1 + T2	۹	۵(۵۵/۶)	۱/۰۰	۶(۶۶/۷)	۰/۷۱۸	۶(۶۶/۷)	۰/۶۷۳
T3 + T4	٤۹	۲۸(۵۷/۱)		۲۷(۵۵/۱)		۳۸(۷۷/۶)	
(n=۵۸) متاستاز به عقده لنفی							
دارد	٤۱	۲٤(۵۸/۵)	۰/۷۷۵	۲٤(۵۲/۹)	۰/۷۷۵	۳۳(۸۰/۵)	۰/۳۱۱
ندارد	۱۷	۹(۵۲/۹)		۹(۵۸/۵)		۱۱(۶٤/۷)	
(n=۵۸) تهاجم به عصب							
دارد	٤۷	۲۵(۵۳/۲)	۰/۳۲۰	۲۷(۵۷/٤)	۱/۰۰	۳۷(۷۸/۷)	۰/٤۳۳
ندارد	۱۱	۸(۷۲/۷)		۶(۵٤/۵)		۷(۶۳/۶)	
(n=۵۸) تهاجم به رگ							
دارد	٤۹	۲۸(۵۷/۱)	۱/۰۰	۲۸(۵۷/۱)	۱/۰۰	۳۸(۷۷/۶)	۰/۶۷۳
ندارد	۹	۵(۵۵/۶)		۵(۵۵/۶)		۶(۶۶/۷)	

بحث و نتیجه گیری

این مطالعه به ارزیابی بیان P53، $P27^{Kip1}$ و Ki-67 در کارسینوم معده و ارتباط این مارکرها با بعضی پارامترهای کلینیکو هیستوپاتولوژیک پرداخته است. در این بررسی بیان P53، Ki-67 ارتباط معنی دار از نظر آماری داشتند. اما بین بیان P53 وP27 یا P27 وKi-67 رابطه معنی دار در بین نمونه ها به دست نیامد. همچنین بیان پروتئین های P53، $P27^{Kip1}$ و Ki-67 با هیچ یک از پارامترهای هیستوپاتولوژیک مورد مطالعه ارتباط معنی داری نشان نداد. در مطالعه مشابهی که بوسیله Feakins و همکاران، Wiksten و همکاران و Gomyo و همکاران انجام شد رابطه معنی داری بین بیان ایمونوهیستوشیمی P53، $P27^{Kip1}$ و پارامترهای کلینیکو

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.4.1.8]

هیستوپاتولوژیک مثل جنس، سن، Stage، grade یا نوع هیستولوزیک تومور یافت نشد (۴و۷و۱۷).

در مطالعه دیگری که توسط Moundhri و همکاران انجام شد مارکر P53 با سن کمتر از ۶۰ سال و اندازه تومور بیشتر از ۵ سانتی متر ارتباط داشت. همچنین بیان P27،Ki-67 ارتباط معنی دار با یکدیگر داشتند (۳). در مطالعه Nitti و همکاران بیان پایین P27 بطور معنی داری با گرید هیستولوژیک، T-Stage و متاستاز به عقده لنفی ارتباط داشت (۵). در مطالعه Xiu و همکاران بیان P53 تنها با سن (۶۵ ≤ سال) در ارتباط بود. همچنین بیان Ki-67 و P53 با یکدیگر ارتباط معنی دار داشتند (۱۱)، اما در مطالعه Pinto و همکاران بیان P53 با تهاجم به عروق و متاستاز به عقده لنفی ارتباط داشت (۱۴). در مطالعه Sgambato و همکاران، P53 تنها با T-Stage رابطه معنی دار داشت و $P27^{Kip1}$ با هیچ یک از پارامترهای کلینیکوهیستو پاتولوژیک رابطه معنی دار نداشت (۸).

در مطالعه Kim و همکاران بیان پایین P27 با کانسر پیشرفته معده، اندازه بزرگ تومور (>۶cm)، گرید بالای هیستولوژیک، تهاجم به عروق لنفاتیک، Stage بالا، عمق تهاجم تومور و عود رابطه معنی دار و با بیانKi-67 ارتباط معکوس داشت، اما در مطالعه Xiangming و Baldus و همکاران، $P27^{Kip1}$ به ترتیب تنها با هیستولوژی تومور و متاستاز به عقده های لنفی رابطه داشت (۶و۱۵و۱۶). ۵٪ بیماران در این مطالعه ۴۰ ساله یا جوانتر بودند که مطابق با ۸-۲٪ گزارش شده در مطالعات مشابه دیگر می باشد (۳). در مطالعه ما ۵٪ ضایعات در مرحله T1 شناسایی شده بودند در حالی که این رقم در ژاپن ۷۰٪، در عمان ۱/۵٪ و در ایتالیا ۳۰٪ می باشد (۳و۵). محل شایع تومور آنتر و نمای ماکروسکوپی غالب تومور زخمی مطابق با بعضی مطالعات مشابه انجام شده در آسیا، اروپا، آفریقا می باشد (۳و۵و۱۴).

در مطالعه Baldas و همکاران، Wikston و همکاران، Gomyo و همکاران و Sgambato و همکاران، نوع منتشر (Diffuse) در طبقه بندی لورن و گسترشی (Expansive) در طبقه بندی مینگ فراوانی بیشتری داشتند که این خلاف یافته های ما می باشد، اما یافته های Moundhri و همکاران، Pinto و همکاران و نیز Kim و همکاران در این زمینه مطابق با یافته های مطالعه ما می باشد (۳و۴و۸و۱۴-۱۷). میزان بیان P53 ، $P27^{Kip1}$ و Ki-67 در مطالعه ما ۵۶/۹٪، ۵۶/۹٪ و ۷۵/۹٪ بود که به ترتیب مطابق با بعضی موارد گزارش شده ۱۷-۵۷٪، ۳۰-۵۴٪ و ۴۰-۷۵٪ از دیگر مطالعات است (۳-۶و۸و۱۱و۱۴و۱۶).

با توجه به نتایج متفاوت مطالعات ذکر شده توسط گروه های مختلف نمی توان علت خاصی را برای اختلاف بین نتایج مطالعه ما و دیگران ذکر کرد.

ما این مطالعه را با این فرض که بتوانیم با رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی میزان بیان پروتئین های P53 ، P27 و Ki-67 را در کارسینوم معده تعیین کنیم و ارتباطی بین این مارکرها و پارامترهای هیستوپاتولوژیک بیابیم، انجام دادیم. ولی با توجه به نتایج حاصله چنین استنباط می شود که منحصراً با بررسی این مارکرها در کانسر معده نمی توانیم ارتباط خاصی بین آنها و معیارهای هیستو پاتولوژیک ذکر شده بیابیم و از آنها برای مشخص کردن تومورهای دارای احتمال رفتار بیولوژیک تهاجمی بیشتر استفاده کنیم. شاید با بررسی ارتباط این مارکرها و میزان بقای بیماران و پاسخ به درمان بتوان به نتایج مفیدی دست یافت.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل تشکر و قدردانی می گردد.

****

References

1. Kumar V, Abbas A, Fausto N. Pathologic basis of disease, 7th ed, Philadelphia, Elsevier, Saunders 2005; pp: 302-3.

2. Han H, Landreneau RJ, Santucci TS, et al. Prognostic value of immunohistochemical expression of P53, HER-2/neu, and bcl2 in stage I non-small cell lung cancer. Hum Pathol 2002; 3: 105-10.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.4.1.8]

3. Al Moundhri MS, Nirmala V, AL-Hadabi I, et al. The prognostic significance of P53 $P27^{Kip1}$, P21 waf1, HER-2/neu, and Ki67 proteins expression in gastric cancer: A clinicopathological and immunohistochemical study of Arab patients. J Surg Oncol 2005; 91(4): 243-52.

4. Wiksten J, Lundin J, Nordling S, Kokkola A, Von Boguslawski K, Haglund C. The prognostic value of P27 in gastric cancer. Oncology 2002; 63(2): 180-184.

5. Nitti D, Belluco C, Mammano E, et al. Low level of p27 (Kip1) protein expression in gastric adenocarcinoma is associated with disease progression and poor outcome. J Surg Oncol 2002; 81(4): 167-75.

6. Xiangming C, Natsugoe S, Takao S, et al. The cooperative role of p27 with cyclin E in the prognosis of advanced gastric carcinoma. Cancer 2000; 89(6): 1214-9.

7. Feakins RM, Mulcahy HE, Quaglia A, Jawhari A, Zhang Z, Patchett SE. P27kip1 loss does not predict survival in patients with advanced gastric carcinoma. Cancer 2000; 89(6): 1684-91.

8. Sgambato A, Migaldi M, Leocata P, et al. Loss of $P27^{kip1}$ expression is a strong independent prognostic factor of reduced survival in no gastric carcinomas. Cancer 2000; 89(11): 2247-57.

9. Kume T, Oshima K, Shinohara T, et al. Low rate of apoptosis and over expression of bcl2 in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. Histopathology 1999; 34(6): 502-9.

۱۰. عباسی م، منصف آ، مجلسی ا، مانی کاشانی ح، ابوالحسنی م. ارزیابی P53 over expression، Her- 21 Preu در بیماران مبتلا به کانسر معده و ارتباط آنها با پیش آگهی. مقالات همایش سالانه آسیب شناسی ایران، انجمن پاتولوژی ایران ۱۳۸٤؛ ص: ۱۵۳-٤.

11. Liu XP, Tsushimi K, Tsushimi M, Kawauchi S, Oga A, Furuya T, Sasaki K. Expression of P21(WAF1/CIP1) and P53 proteins in gastric carcinoma: its relationships with cell proliferation activity and prognosis. Cancer Lett 2001; 170(2): 183-9.

12. Lee KE, Lee HJ, Kim YH, Yu, et al. Prognostic significance of P53, nm23, PCNA and C-erbB2 in gastric cancer. Jpn J Clin Oncol 2003; 33(4): 173-9.

13. Lindboe CF, Torp SH. Comparison of Ki-67 equivalent anti bodies. J Clin Pathol 2002; 55(6): 467-71.

14. Pinto De Sousa J, Silva F, David L, et al. Clinicopathological significance and survival influence of P53 protein expression in gastric carcinoma. Histopathology 2004; 44(4): 323-31.

15. Kim DH, Lee HI, Nam ES, et al. Reduced expression of the cell-cycle inhibitor P27Kip1 is associated with progression and lymph node metastasis of gastric carcinoma. Histopathology 2000; 36(3): 245-51.

16. Baldus SE, Schneider PM, Moning SP, et al. P21/waf1/cip1 in gastric cancer: Association with histopathological subtypes, lymphonodal metastasis, prognosis and P53 status. Scand J Gastroenterol 2001; 36(9): 975-80.

17. Gomyo Y, Ikeda M, Osaki M, et al. Expression of P21 (waf1/cip1/sdi1), but not P53 protein, is a factor in the survival of patients with advanced gastric carcinoma. Cancer 1997; 79(11): 2067-72.

۱۸. گزارش کشوری ثبت موارد سرطانی ۱۳۸۳، تهیه کننده: مرکز مدیریت بیماریها، معاونت غیر واگیر، اداره سرطان، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی ۱۳۸۵؛ ص: ٦٧-٨.

19. Rosai J. Ackerman surgical pathology, 9th ed, USA, Mosby 2004; pp: 67, 615-18, 662, 2898.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.4.1.8]

20. Fenoglio Preiser C. Gastrointestinal pathology and atlas and text, 2nd ed, Philadelphia, Lippincott Raven 1999; p: 258.

21. Straume O, Sviland L, Akslen LA. Loss of nuclear P16 protein expression correlates with increased tumor cell proliferation (Ki-67) and poor prognosis in patients with vertical growth phase melanoma. Clin Cancer Res 2000; 6(5): 1845-53.

22. Ilyas M, Hao XP, Wilkinson K, et al. Loss of bcl-2 expression correlates with tumor recurrence in colorectal cancer. Gut 1998; 43(3): 383-87.

23. Dabbs D. Diagnostic immunohistochemistry, 2nd ed, London, Churchill Livingstone 2006; p: 731.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.4.1.8]

* آدرس نویسنده مسئول: بابل، بیمارستان شهید بهشتی، گروه پاتولوژی، تلفن: ٤-۲۲۵۲۰۷۱-۰۱۱۱.

ensiyehsh @yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1386.9.4.1.8]