

## مقایسه فراوانی بیان بیومارکرهای Ki-67، p53، bcl-2 و Her2-neu در گریدهای کارسینوم پروستات

دکتر اعظم علی ضمیر\*، دکتر علیرضا منصف\*\*، دکتر محمد جعفری\*\*\*

دریافت: ۹۳/۱/۱۶ پذیرش: ۹۳/۶/۱۸

### چکیده:

**مقدمه و هدف:** کانسر پروستات شایعترین بدخیمی در مردان است و ۱۰٪ علت مرگ ناشی از بدخیمی‌ها را شامل می‌شود. شیوع کارسینوم پروستات با افزایش سن افزایش می‌یابد و بعد از سن میانسالی شایع است. ثابت شده‌ترین فاکتورهای تعیین کننده پیش آگهی کانسر پروستات گرید هیستولوژیک براساس سیستم گلیسون و مرحله پاتولوژیک است. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی بیان مارکرهای Ki-67, Her2-neu, bcl2, p53 در کارسینوم پروستات و مقایسه آنها در بین کارسینوم های گرید پایین و بالا مطابق با عدد گلیسون می باشد.

**روش کار:** این مطالعه به روش توصیفی تحلیلی بر روی نمونه های مربوط به ۷۶ بیمار مبتلا به کانسر پروستات که در سال های ۱۳۸۵ تا ۱۳۹۰ در بیمارستان های بعثت و شهید بهشتی همدان پذیرش شده اند انجام شد. براساس سیستم گلیسون آدنوکارسینوم پروستات به دو گروه low grade یا well differentiated با عدد گلیسون ۲ تا ۶ و high grade یا poorly differentiated با عدد گلیسون ۷ تا ۱۰ تقسیم بندی شد. در نمونه هر بیمار بیان مارکرهای Her2-neu و bcl2, Ki-67, p53 توسط روش ایمنووهیستوشیمی ارزیابی شد و بعد از استخراج اطلاعات و کد گذاری متغیرهای کیفی با استفاده از آزمون های آماری آنالیز انجام شد.

**نتایج:** از ۷۶ بیمار مبتلا به کارسینوم پروستات ۳۸ مورد (۵۰٪) low grade و ۳۸ مورد دیگر (۵۰٪) high grade بودند. محدوده سنی بیماران در گروه گرید پایین از ۵۱ تا ۸۵ سال با میانگین سنی ۷۱/۲ سال و محدوده سنی مبتلایان به کارسینوم گرید بالا از ۴۹ تا ۸۳ سال با میانگین سنی ۷۳/۵ سال می باشد. در ۵۲ مورد (۶۸٪) از ۷۶ بیمار مبتلا به کارسینوم پروستات بیان قابل توجه p53 مشاهده شد که ۲۱ مورد (۵۵٪) در گروه low grade و ۳۱ نمونه (۸۱٪) در گروه high grade قرار داشتند (P=0.013). واکنش مثبت برای bcl2 در ۲۶ مورد (۳۴٪) دیده شد اما در مقایسه بین دو گروه گرید پایین (۳۱٪) و گرید بالا (۳۶٪) از نظر آماری تفاوت معناداری مشاهده نشد (P=0.405). ۷۸٪ از کانسرهای پروستات برای Her2-neu ایمنونوراکتیو بودند که ۷۴٪ در گروه گرید پایین و ۸۱٪ در گروه گرید بالا قرار داشتند (P=0.390). ۴۰ مورد (۵۲٪) کارسینوم های پروستات بیان بالای Ki-67 داشتند که شامل ۳۶٪ از گروه گرید پایین و ۶۸٪ از گروه گرید بالا بودند (P=0.006).

**نتیجه نهایی:** در مطالعه حاضر فراوانی بیان Ki-67 و p53 مطابق با سایر مطالعات قبلی در گرید بالای کارسینوم پروستات بیشتر مشاهده می شود اما بیان مارکرهای Her2-neu و bcl2 ارتباطی با گرید ضایعه تومورال ندارد.

**کلید واژه ها:** سرطان های پروستات / شاخص های زیست شناختی

\* متخصص پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی همدان (aidaalizamir@yahoo.com)

\*\* استاد گروه پاتولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

\*\*\* استادیار گروه پاتولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

**مقدمه:**

کانسر پروستات شایعترین بدخیمی در مردان است و ۲۹٪ تمامی کانسرها را شامل می‌شود. همچنین ۱۰٪ علت مرگ ناشی از بدخیمی‌ها را شامل می‌شود که بعد از کانسر ریه دومین علت مرگ به دلیل بدخیمی (در مردان) می‌باشد (۱). شیوع کارسینوم پروستات با افزایش سن افزایش می‌یابد طوری که در ۷۵٪ موارد در افراد بالای ۶۵ سال دیده می‌شود (۲). علل ژنتیکی در ۱۰٪ کانسره‌های پروستات نقش دارد مردانی که یکی از بستگان درجه اول آنها مبتلا باشد شانس ابتلا به کانسر در آنها دو تا سه برابر بیشتر است (۳).

آندروژن‌ها نقش شناخته شده‌ای در کارسینوم پروستات دارند و این تأثیر با نقش درمانی Castration یا آنتی آندروژنها که اکثراً باعث پسرفت بیماری می‌شود اثبات شده است (۴). مواردی همچون رژیم غذایی، شیوه زندگی، سیگار، بیماری‌های مقاربتی، عادات جنسی و تماس‌های شغلی نقش ثابت شده‌ای ندارند (۵).

بیش از ۷۰٪ کارسینومهای پروستات از زون پریفرال ولوب خلفی منشأ می‌گیرد یعنی جایی که توسط معاینه رکتال قابل بررسی است به همین دلیل ترکیبی از سه روش معاینه رکتال، سونوگرافی ترنس رکتال و سطح سرمی PSA (Prostatic Specific Antigen) تریاد تشخیص قدرتمندی برای تشخیص مراحل اولیه کانسر پروستات است (۶).

از نظر میکروسکوپی کارسینوم پروستات طیف وسیعی دارد و می‌تواند به صورت یک تومور آناپلاستیک تا توموری با تمایز خوب که قابل افتراق از ضایعات غیرنئوپلاستیک نمی‌باشد تظاهر یابد.

گریدینگ کانسر پروستات براساس سیستم گلیسون انجام می‌شود که مطابق این سیستم براساس تمایز ساختارهای غددی و الگوی رشد تومور در استروما پنج گرید تعریف شده است. تومورهایی که از غدد نئوپلاستیک گرد و یک شکل تشکیل شده و در یک ندول با حدود مشخص قرار می‌گیرند عدد ۱ و تومورهایی که تمایز غددی ندارند و سلول‌های تومورال به صورت منفرد یا در صفحات و آشیانه‌های سلولی به استروما تهاجم کرده‌اند عدد ۵ راکسب می‌کنند. بیشتر تومورها بیش از یک نمای رشد دارند که عدد این دو نمای رشد با هم جمع شده تا Gleason Score بدست آید. بنابراین

تومورهایی با تمایز خوب نمره گلیسون ۲ و بدترین آنها نمره گلیسون ۱۰ دارند.

اگر در تمام تومور فقط یک الگوی رشد دیده شود برای بدست آوردن عدد گلیسون باید عدد مربوطه در دو ضرب شود بعضی از کارسینومها الگوی سوم هم دارند و فقط در مواردی باید گزارش شود که گرید آن ۵ باشد (۷). تومورهایی با Gleason score = ۲-۴ در گروه Well differentiated یا low grade قرار می‌گیرند و معمولاً یک یافته تصادفی در پروستات‌هایی که بدلیل BPH (هایپرپلازی خوش خیم پروستات) برداشته شده‌اند می‌باشد. تومورهایی با عدد گلیسون ۷-۵ در گروه Moderately differentiated بوده و بیشتر در بیوپسی‌های سوزنی برای غربالگری مشاهده می‌شود. کانسرهایی که عدد گلیسون بین ۸-۱۰ دارند در گروه Poorly differentiated یا high grade قرار می‌گیرند و کانسره‌های پیشرفته‌ای هستند که احتمال درمان آنها کم می‌باشد (۸). Staging کانسر پروستات در انتخاب درمان مناسب نقش مهمی دارد. Stage T1 شامل کانسرهایی است که به طور تصادفی کشف می‌شوند (بیمارانی که برای درمان BPH تحت عمل جراحی (Trans Urethral Resection of Prostate) قرار می‌گیرند و یا مواردی که بدلیل افزایش سطح PSA سرمی بیوپسی سوزنی برای آنها انجام می‌شود). کانسره‌های محدود به پروستات در گروه T2 و آنهایی که به خارج از کپسول پروستات گسترش می‌یابند (با یا بدون درگیری وزیکول سمینال) در گروه T3 قرار می‌گیرند. مواردی که تهاجم به ارگانهای مجاور دارند در دسته T4 قرار خواهند گرفت (۹).

ثابت شده‌ترین فاکتورهای پروگنوستیک کانسر پروستات گرید هیستولوژیک براساس سیستم گلیسون و پاتولوژیک Stage است. فاکتورهای پروگنوستیک جدیدی که برای این کانسر مطرح شده شامل افزایش فعالیت پرولیفراتیو سلولها که توسط Ki-67 اندازه‌گیری شده، افزایش بیان انکوژن bcl-2 و غیرفعال شدن ژن تومور ساپرسور p53 و بیان انکوژن Her 2-neu می‌باشد (۱۰).

هدف از این مطالعه تعیین فراوانی بیان مارکرهای p53, bcl-2, Her2-neu, Ki-67 در کارسینوم پروستات و مقایسه آنها در بین دو دسته کارسینومهای گرید پایین و گرید بالا مطابق با سیستم گلیسون می‌باشد که بر اساس این یافته‌ها می‌توان جهت تعیین پروگنوز و اتخاذ

هیدروژن/متانول به مدت ۱۰ دقیقه، پراکسیدازاندوژن خنثی گردید و لام ها توسط آب جاری شسته شدند.

۴) محلول retrieval توصیه شده (محلول سیترات ۰/۱ m با pH=۶) در ماکروویو حرارت داده شد تا بجوشد. لام ها جهت بازبایی آنتی ژن در محلول قرار گرفته و جوشانده شدند (۵ دقیقه) سپس لام ها خارج شده و فوراً در آب سرد قرار داده شدند.

۵) لام ها در TBS (Tris-buffered-saline) برای ۵ دقیقه با تکان های آهسته شسته شدند.

۶) لام ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرم نرمال رقیق شده پوشانده شدند.

۷) لام ها توسط آنتی بادی اولیه ای که بطور اپتیمال رقیق شده بودند، انکوبه شدند و مجدداً در بافر TBS برای ۱۰ دقیقه با تکان دادن آهسته شسته شدند.

۸) لام ها این بار در آنتی بادی ثانویه biotinylated مناسب انکوبه شدند و بعد در بافر TBS برای ۱۰ دقیقه با تکان های آهسته شسته شدند.

۹) لام ها در avidin biotin complex- (ABC-HPR) horseradish peroxidase انکوبه شدند و مجدداً در بافر TBS برای ۱۰ دقیقه با تکان های آهسته شسته شدند.

۱۰) لامها در DAB (3 Diaminobenzidine tetrahydrochloride) انکوبه شدند (کروموژن) سپس در آب شسته شدند.

۱۱) لام ها با هماتوکسیلین counterstain شدند (رنگ زمینه) و در نهایت دهیدراته، شفاف و مونته شدند.

کلیه مراحل برای هر نمونه با کیت p53, bcl2, Her2- neu و Ki-67 به صورت جداگانه انجام شدند.

در هر run کاری از یک نمونه کنترل مثبت نیز استفاده شد که طبق توصیه کیت مورد استفاده آدنوکارسینوم کلون برای p53، لنفوم بورکیت برای Ki 67، لنفوسیت های ناحیه منتل فولیکول لنفاوی در لوزه برای bcl2 و کارسینوم پستان برای Her2-neu مورد استفاده قرار گرفت. برای مارکرهای Ki-67, p53 و Her2-neu در هر نمونه بافت غیر نئوپلاستیک مجاور و برای bcl2 لنفوسیت های مراکز زایگر فولیکول لنفاوی لوزه به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد.

لام های رنگ توسط میکروسکوپ نوری بررسی شده و به دو گروه مثبت یا منفی برای p53, bcl2 و Her2-neu و همچنین بیان low یا high برای Ki-67 تقسیم شدند. همچنین بر اساس مطالعات مشابه قبلی

تصمیمات مناسب برای انتخاب روش درمانی ارجح و پیگیری لازم پس از عمل جراحی استفاده کرد.

## روش کار:

این مطالعه به روش توصیفی تحلیلی بر روی نمونه های مربوط به ۷۶ بیمار مبتلا به کانسر پروستات انجام شد. شرکت کنندگان در این مطالعه بیمارانی بودند که به دلیل علائم بالینی و یا افزایش سطح سرمی PSA در طی سالهای ۱۳۸۵ تا ۱۳۹۰ تحت عمل جراحی (بیوپسی سوزنی, Open prostatectomy, Trans Urethral Resection of Prostate) قرار گرفته بودند و تشخیص کارسینوم پروستات برای آنها داده شده بود.

اطلاعات لازم از پرونده بایگانی بیماران به دست آمده و وارد فرم پرسشنامه مخصوص اطلاعات بیمار شد. در مورد هر نمونه تمامی لام ها، بلوک های بافتی fix شده در فرمالین و قالب گیری شده در پارافین و همچنین تشخیص ثبت شده استخراج گردید. ابتدا همه لام ها توسط پاتولوژیست و دستیار آسیب شناسی جهت تأیید تشخیص ثبت شده بازبینی گردید و عدد گلیسون آنها محاسبه شد. طبق سیستم درجه بندی گلیسون کانسرهای پروستات به سه گروه low grade, intermediate grade و high grade تقسیم بندی می شوند. با در نظر گرفتن محدود بودن نمونه های low grade و با توجه به برخورد مطالعات مشابه با این مشکل (۱۱) در این مطالعه کارسینوم های پروستات به دو گروه low grade (Gleason's <7) و high grade (Gleason's ≥7) تقسیم بندی می شدند. براین اساس لام های نمونه های بازبینی شده در گروه low grade و high grade تفکیک شدند. از هر نمونه یک یا دو بلوک پارافینی مناسب که دارای جزء تومورال و هر دو جزء عدد گلیسون باشند انتخاب شده و بیان مارکرهای p53, Ki-67, bcl2 و Her2-neu توسط روش ایمونوهیستوشیمی در آنها ارزیابی شد. در مورد هر نمونه مراحل زیر به ترتیب انجام گرفت:

۱) سه برش از بلوک پارافین که بهترین نمایش توسعه را داشت انتخاب شد.

۲) لام های تهیه شده جهت پارافین زدایی در محلول گزیلول (۳ ظرف گزیلول، هر کدام ۵ دقیقه) قرار داده شدند و سپس در الکل (مطلق، ۹۰ و ۷۰ درجه) دهیدراته شدند.

۳) با استفاده از محلول ۰/۵٪ حجمی/حجمی پراکسید

(/۰.۳۱/۶) از ۷۶ بیمار دیده شد که ۱۲ مورد (۰.۳۱/۶) low grade و ۱۴ نمونه (۰.۳۶/۸) high grade بودند و در مقایسه بین دو گروه low grade و high grade از نظر آماری تفاوت معناداری مشاهده نشد. جدول ۲ نشان دهنده موارد بیان مارکر bcl2 به تفکیک گرید ضایعه و گلیسون اسکور می باشد.

جدول ۲: مقایسه فراوانی بیان مثبت bcl2 به تفکیک

گلیسون اسکور و گرید				
ارزش P	گرید	درصد	تعداد	گلیسون اسکور
	پائین	۷/۷	۲	۴
	۱۲ (۳۱/۶)	۲۳/۱	۶	۵
۰/۴۰۵	بالا	۱۵/۴	۴	۶
	۱۴ (۳۶/۸)	۱۱/۵	۳	۷
	۱۵/۴	۴	۴	۸
	۱۱/۵	۳	۳	۹
	۱۵/۴	۴	۴	۱۰
	۱۰۰	۲۶		مجموع

در این مطالعه فراوانی بیان مارکر Her2-neu (۰.۷۸/۹) می باشد. در ۳۸ نمونه ای که در گروه low grade قرار داشتند ۲۹ مورد (۰.۷۶/۳) و در ۳۸ نمونه مورد مطالعه high grade ۳۱ مورد (۰.۸۱/۶) برای مارکر Her2-neu ایمونوراکتیویته نشان دادند که این یافته فاقد ارزش آماری معنی داری می باشد. موارد بیان مارکر Her2-neu بسته به گرید هیستولوژیک ضایعه و گلیسون اسکور در جدول ۳ ذکر شده است.

جدول ۳: مقایسه فراوانی بیان مثبت HER2-neu به تفکیک

گلیسون اسکور و گرید				
ارزش P	گرید	درصد	تعداد	گلیسون اسکور
	پائین	۱۶/۷	۱۰	۴
	۲۹ (۷۶/۳)	۱۵	۹	۵
۰/۳۹۰	بالا	۱۳/۳	۸	۶
	۳۱ (۸۱/۶)	۱۳/۳	۸	۷
	۱۱/۷	۷	۷	۸
	۱۰۰	۶۰		۹
				۱۰
				مجموع

درصد رنگ پذیری هسته ها نشان دهنده شدت بیان Ki-67 میباشد. در ۷۶ نمونه مورد مطالعه ۴۰ نمونه (۰.۵۲/۶) از نظر بیان Ki-67 شدت بالا داشتند، ۱۴ مورد آنها (۰.۳۶/۸) گرید پایین و ۲۶ مورد دیگر (۰.۶۸/۴) دارای

آستانه مثبت در نظر گرفتن bcl2 رنگ پذیری سیتوپلاسمی در بیش از ۱۰٪ سلول های بدخیم، آستانه مثبت تلقی کردن Her2-neu رنگ پذیری غشائی و سیتوپلاسمی در بیش از ۱۰٪ سلول های تومورال و آستانه مثبت خواندن p53 رنگ پذیری هسته ای بیش از ۲۰٪ سلول های نئوپلاستیک در نظر گرفته شد (۱۰-۱۲). ضمناً نقطه cut off که برای Ki-67 مشخص شد رنگ پذیری هسته ای در بیش از ۷٪ سلول های تومورال بود (۱۳).

بعد از استخراج اطلاعات و کد گذاری متغیرهای کیفی با استفاده از آزمون های آماری آنالیز انجام شد.

### نتایج:

در بررسی انجام شده از ۷۶ مورد بیمار مبتلا به کارسینوم پروستات ۳۸ مورد (۰.۵۰) low grade و ۳۸ مورد دیگر (۰.۵۰) high grade می باشند.

محدوده سنی بیماران در گروه گرید پائین از ۵۱ تا ۸۵ سال با میانگین سنی ۷۱/۲ و محدوده سنی میتلیان به کارسینوم گرید بالا از ۴۹ تا ۸۳ سال با میانگین سنی ۷۳/۵ سال می باشد.

در ۵۲ مورد (۰.۶۸/۴) از ۷۶ بیمار مبتلا به کارسینوم پروستات بیان بارز p53 مشاهده شد و در ۲۴ مورد دیگر بروز این مارکر منفی بود در مورد نمونه های مثبت نیز ۲۱ مورد (۰.۵۵/۳) در گروه low grade و ۳۱ نمونه (۰.۸۱/۶) در گروه high grade قرار داشتند. این یافته دارای تفاوت آماری معنی داری می باشد. فراوانی موارد بیان مارکر p53 به تفکیک گرید و گلیسون اسکور در جدول ۱ ذکر شده است.

جدول ۱: مقایسه فراوانی بیان مثبت p53 به تفکیک

گلیسون اسکور و گرید				
ارزش P	گرید	درصد	تعداد	گلیسون اسکور
	پائین	۱۱/۵	۶	۴
	۲۱ (۵۵/۳)	۱۵/۴	۸	۵
۰/۰۱۳	بالا	۱۳/۵	۷	۶
	۷/۷	۴	۴	۷
	۱۵/۴	۸	۸	۸
	۳۱ (۸۱/۶)	۱۵/۴	۸	۹
	۲۱/۱	۱۱	۱۱	۱۰
	۱۰۰	۵۲		مجموع

مارکر bcl2 به عنوان یکی دیگر از اهداف این مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت. واکنش مثبت برای bcl2 در ۲۶ مورد

هستند و در بیشتر موارد موتاسیون های غیرفعال کننده هر دو آلل p53 را تحت تأثیر قرار می دهد. ارتباط خوبی بین کشف موتاسیون ها در سطح مولکولی و بیان بیش از اندازه پروتئین که با IHC مشخص می شود دیده شده است (۱۴).

کوئین و همکارانش در سال ۲۰۰۰ ارتباط موتاسیون p53 را با کارسینوم پروستات نشان دادند. همچنین در این بررسی موارد p53 مثبت دارای عود و مرگ و میر بیشتری بودند (۱۵). در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۳ انجام شد بیش از ۳۰٪ کارسینوم های پروستات دارای بیان p53 بوده و این موارد دارای رفتار تهاجمی تری می باشند (۱۰).

بررسی دیگری نشان داد که ۷۰٪ کارسینوم های پروستات با گرید پایین یا تمایز خوب و ۸۰٪ نمونه های گرید بالا یا تمایز اندک دارای بیان p53 می باشند (۱۶). مطالعه نوون و همکارانش بیانگر این مطلب است که p53 در فرم محدود و لوکالیزه کانسر پروستات در ۴/۴٪ موارد مثبت بوده ولی در موارد با متاستاز استخوانی در ۴۵٪ موارد بیان می شود (۱۷).

همچنین در مطالعه دیگری نشان داده شد که ایمونوراکتیویته برای p53 با میزان تمایز کانسر پروستات ارتباط دارد و در نمونه های با تمایز کم در ۸۰٪ موارد بیان می شود (۱۸).

در مطالعه ای که توسط ویساکورپی انجام شد بیان p53 را در ارتباط با رفتار تهاجمی تومور و پروکنوز ضعیف نشان داد (۱۹). در مطالعه حاضر مقایسه بیان p53 در بین دو گروه گرید بالا و پایین کارسینوم پروستات اختلاف اماری معنا داری رانشان می دهد که این یافته با مطالعات مشابه یاد شده همخوانی دارد.

Bcl-2 یک انکوژن است که در تنظیم آپوپتوز و مرگ برنامه ریزی شده سلول نقش دارد و افزایش بیان آن باعث زنده ماندن طولانی مدت سلول ها می شود. در مطالعه فونسه کا و همکارانش در سال ۲۰۰۴ بیان شد این مارکر در ۲۳٪ کانسرهای پروستات بیان می شود و با احتمال بالای عود تومور همراه است اما در کارسینوم های پروستات با کلیسون اسکور کمتر از ۷ در مقایسه با کلیسون اسکور بیشتر از ۷ میزان بیان bcl2 اختلاف قابل توجهی نداشت (۱۰).

در مطالعه مول بیان bcl2 به عنوان مارکری که به

گرید بالا بودند که در مقایسه دارای اختلاف آماری معنی داری بودند. جدول ۴ نشان دهنده موارد بیان مارکر Ki-67 به تفکیک گرید ضایعه و کلیسون اسکور می باشد.

جدول ۴: مقایسه فراوانی بیان Ki 67 باشدت بالا به تفکیک کلیسون اسکورو گرید

ارزش P	گرید	درصد	تعداد	گلیسون اسکور
	پائین	۱۲/۵	۵	۴
	۱۴ (۳۶/۸)	۱۰	۴	۵
		۱۲/۵	۵	۶
۰/۰۰۶		۱۰	۴	۷
	بالا	۱۵	۶	۸
	۲۶ (۶۸/۴)	۱۷/۵	۷	۹
		۲۲/۵	۹	۱۰
		۱۰۰	۴۰	مجموع

جدول ۵ مقایسه فراوانی مارکرهای Her2, K-i67, bcl2 در کانسر پروستات با گریدهای پائین و بالا را نشان می دهد.

جدول ۵: مقایسه فراوانی مارکرهای Her2, Ki-67, bcl-2, p53 در کانسر پروستات با گریدهای پائین و بالا

بیان مثبت	بیومارکر			بیان مثبت
	بیان مثبت Her2-neu	بیان بالا Ki-67	بیان مثبت bcl-2	
گرید پائین	۲۹ (۷۶/۳)	۱۴ (۳۶/۸)	۱۲ (۳۱/۶)	۲۱ (۵۵/۳)*
گرید بالا	۳۱ (۸۱/۶)	۲۶ (۶۸/۴)	۱۴ (۳۶/۸)	۳۱ (۸۱/۶)
ارزش P	۰/۳۹۰	۰/۰۰۶	۰/۴۰۵	۰/۰۱۳

\* اعداد داخل پرانتز درصد می باشند.

## بحث:

شایعترین بدخیمی در بین مردان کارسینوم پروستات می باشد و آدنوکارسینوم پروستات بیش از ۹۰٪ بدخیمی های اپی تلیال این ارگان را تشکیل می دهد. ارجح ترین سیستم برای گریدینگ این کانسر سیستم گلیسون معرفی شده است بر این اساس و با توجه به عدد گلیسون در این مطالعه آدنوکارسینوم پروستات به دو گروه low grade یا well differentiated با عدد گلیسون ۲ تا ۶ و high grade یا poorly differentiated با عدد گلیسون ۷ تا ۱۰ تقسیم بندی می شوند.

ژن p53 روی کروموزوم 17p13.1 قرار دارد و شایعترین ژن برای تغییر ژنتیکی در تومورهای انسانی است بیش از ۵۰٪ تومورهای انسانی حاوی موتاسیون هایی در این ژن

یک ارتباط قوی و معنی دار بین بیان بالای Ki-67 و گلیسون اسکور شناسایی شد که در تومورهای گرید بالا بیشتر بوده و به عنوان یک فاکتور پروگنوستیک مستقل برای کارسینوم پروستات شناسایی شد. همچنین در بیمارانی که بیان Ki-67 پایین بود میزان بقا طولانی تر بود (۲۷).

در مطالعه دیگری بیان بالای Ki-67 در گلیسون اسکور بالاتر از ۷ مشاهده شد اما در مقایسه با بیان آن در گلیسون اسکورهای کمتر از ۷ اختلاف آماری معنی داری دیده نشد (۲۳).

در بررسی پولاک بیمارانی که Ki-67 بالا داشتند گلیسون اسکور بالاتر (۷ تا ۱۰) بوده و عدم موفقیت در درمان و بیماری پیشرفته تر مشاهده شد (۲۵).

در مطالعه دیگری عنوان شد بیان پایین Ki-67 با گلیسون اسکور کمتر (۶-۲) و عدم تهاجم به کپسول و ساختارهای عصبی همراه است در حالیکه بیان بالای آن با مرگ و میر بالای ناشی از کانسر مرتبط می باشد (۲۸).

بررسی ناگائو در سال ۲۰۱۱ نشان داد که بیان Ki-67 با گلیسون اسکور ارتباط دارد (۲۹). در مطالعه حاضر مقایسه میزان بیان Ki-67 در دو گروه low grade و high grade نشاندهنده اختلاف آماری معنا داری بوده که این یافته منطبق با سایر مطالعات مشابه ذکر شده می باشد.

### نتیجه نهایی:

در مطالعه حاضر فراوانی بیان Ki-67 و p53 مطابق با سایر مطالعات قبلی در گرید بالای کارسینوم پروستات بیشتر مشاهده می شود اما بیان مارکرهای Her2-neu و bcl2 ارتباطی با گرید ضایعه تومورال ندارد و از این نظر برخی مطالعات تأیید کننده و برخی رد کننده مطالعه حاضر می باشند. پیشنهاد می شود بررسی های جامع تر در جمعیت های وسیع تری از بیماران جهت به دست آوردن نتیجه قطعی در مورد این مارکرها صورت گیرد.

### سپاسگزاری:

این مقاله برگرفته شده از پایان نامه دوره دستیاری پاتولوژی می باشد. از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان به خاطر حمایت از این پروژه قدردانی می گردد.

### منابع:

1. Nelson WG, De Marzo AM, Isaacs WB. Prostate cancer mechanism of disease. N Engl J Med 2003; 349:366-381.

تنهایی دارای ارزش پروگنوستیک مستقل می باشد شناخته شد (۲۰).

در برخی مطالعات بیان bcl-2 در کانسر پروستات high grade بیشتر و نشانه پروگنوز ضعیف بود (۲۱) ولی مطالعات دیگر تفاوتی در بیان این مارکر در گریدهای مختلف مشاهده نکردند (۲۲).

در بررسی که توسط بوبندورف و همکارانش انجام شد بیان bcl2 در گلیسون اسکورهای بالاتر بیشتر است. همچنین در تومورهایی که رفتار بدخیم دارند ایمونواکتیویته برای این مارکر بیشتر مشاهده می شود (۱۲). در مطالعه ای در سال ۲۰۰۸ بیان bcl2 در بیمارانی که کانسر پروستات لوکالیزه دارند کمتر مشاهده شد (۲۳). در مطالعه حاضر پس از مقایسه بیان bcl-2 بین دو گروه low grade و high grade از نظر آماری تفاوت معناداری مشاهده نشد که با نتیجه برخی مطالعات ذکر شده همخوانی داشته و با برخی دیگر مغایر می باشد.

انکوژن Her2-neu در کانسرهای مختلفی شناسایی شده است و در کارسینوم پروستات می تواند تا ۳۳٪ موارد مثبت شود این انکوژن یک واقعه اولیه در تکامل و پیشرفت کانسر پروستات است (۲۴).

در مطالعه ای که توسط پولاک و همکارانش در سال ۲۰۰۲ انجام شد در میزان بیان Her2-neu با گلیسون اسکورهای مختلف کارسینوم پروستات ارتباط قابل توجهی مشاهده نشد (۲۵).

در مطالعه دیگری که توسط ملون و همکارانش انجام شد اختلاف قابل توجهی از نظر بیان Her2-neu در کارسینوم های پروستات گرید پایین و گرید بالا دیده نشد (۲۶). ضمناً در بررسی که در سال ۲۰۰۴ انجام شد نیز ارتباطی بین بیان Her2-neu و گلیسون اسکور مشاهده نشد (۱۰). در این مطالعه بیان Her2-neu در دو گروه گرید بالا و پایین کارسینوم پروستات مورد مقایسه قرار گرفت که نتیجه حاصله با اکثر مطالعات مشابه همخوانی داشته اما فاقد ارزش آماری معنی داری می باشد.

Ki-67 یک مارکر پرولیفراسیون سلولی است که برای شناسایی آن با روش IHC از آنتی بادی MIB-1 استفاده می شود.

در مطالعه ای که توسط بوبندورف انجام شد

2. Boyle P, Maisonneuve P, Napalkov P. Geographical and temporal patterns of incidence and mortality from prostate cancer. *Urology* 1995 ; 46: 47-55.
3. Tomlins SA, Rubin AM. Integrative biology of prostate cancer progression. *Ann Rev Pathol* 2006;1: 243-247.
4. Niets M. Prostate cancer: refocusing on androgen receptor signalong. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 1561-1567.
5. Gittes RF. Carcinoma of the prostate. *N Engl J Med* 1991;324:239-245.
6. Capp MR, Desterling JE. Prostate specific antigen,digital rectal examination and trance rectal ulterasonography. Heir roles in diagnosis early prostate cancer. *Mayo Clin Proc* 1993;38:297-306
7. Ackerman LV, Rosai Juan. In: Rosai and Ackerman surgical pathology, 10th ed. New York: Mosby, 2011: 1287-1314.
8. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran pathology basis of disease. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2009: 998-1001.
9. Montaine IE. Staging of prostate cancer :current TNM clacification and future prospects for prognostic factors. *Cancer* 1995;75:1814-1811.
10. Fonseca GN, Srougi M, Leite KR, Nesrallah LJ, Ortiz V. The role of HER2/neu, BCL2, P53 genes and proliferating cell nuclear protein as molecular prognostic parameters in localized prostate carcinoma. *Sao Paulo Med J* 2004; 122(3): 124-7.
11. Pan CC, Pother SR, Partin AW, Epstein JI, The prognostic significance of tertiary Gleason pattern grade in radical prostatectomy specimens: a proposal to modify the Gleason grading system. *Am J Surg Pathol* 2000; 24 (4): 563-9.
12. Bubendorf L, Sauter G, Moch H. Prognostic significance of bcl-2 in clinically localized prostate cancer. *Am J Pathol* 1996; 148:1557- 1565.
13. Hitchcock CL: Ki-67 staining as a means to simplify analysis of tumor cell proliferation. *Am J Clin Pathol* 1991; 96: 444-446.
14. Locker J. Tumor suppressor genes and the practice of surgical pathology. *Hum Pathol* 1995;26: 359-361.
15. Quinn DI, Henshall SM, Head DR. Prognostic significance of p53 nuclear accumulation in localized prostate cancer treated with radical prostatectomy. *Cancer Res* 2000;60(6):1585-94.
16. Matsushima H, Kitamura T, Goto T, Hosaka Y, Homma Y, Kawabe K. Combined analysis with Bcl-2 and P53 immunostaining predicts poorer prognosis in prostatic carcinoma. *J Urol* 1997; 158(6):2278-83.
17. Navone NM, Troncoso P, Pisters LL. p53 protein accumulation and gene mutation in the progression of human prostate carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1993;85(20):1657-69.
18. Thomas DJ, Robinson M, King P, Hasan T, Charlton R, Martin J, et al. P53 experssion and clinical outcome in prostate cancer. *Br J Urol* 1993, 72:778-781.
19. Visakorpi T, Kallioniemi OP, Heikkinen A, Koivula T, Isola J. Small subgroup of aggressive, highly proliferative prostatic carcinomas defined by p53 accumulation. *J Natl Cancer Inst* 1992;84(11):883-7.
20. Moul JW. Angiogenesis ,P53 ,BCL2 and Ki67 in the progression of prostate cancer after radical prostatectomy. *Eur Urol* 1999;35(5-6):399-407.
21. Keshgegian AA , Johnstone E, Cnaan A. Bcl-2 oncoprotein positivity and high MIB-1 proliferative rate are independent predictive markers for recurrence in prostate carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1998, 110: 443-449.
22. Stattin P,Damber JE,Karlberg L. Bcl-2 immunoreactivity in prostate tumorigenesis in relation to prostatic interaepithelial neoplasia ,grade,hormonal status, metastatic growgh and survival. *Urol Res* 1996;24:257-264.
23. Nariculum J, Freeman A, Bott S, Munson P, Abd B. Utility of tissue microarrys for profiling prognostic biomarkers in clinically localized prostate cancer: the expression of BCL2 ,E-cadherin,Ki67 and P53 as predicators of biochemical failure after radical prostatectomy with nested control for clinical and pathological risk factors. *Asian J Androl* 2009;11:109-118.
24. Ross JS, Sheehan C, Hayner-Buchan AM, Ambros RA, Kallakury BV, Kaufman R, et al. HER-2/neu gene amplification status in prostate cancer by fluorecence in situ hybridization. *Hum Pathol* 1997, 28: 827-833.
25. Pollak A, Cown D, Troncos P, Zagars GK. Molecular markers of outcome after Radiotherapy in patient with prostate carcinoma. *Am Cancer Soc* 2003;97:1630-8.
26. Mellon K, Thompson S, Charlton RG. P53, c-erbB-2 and the epidermal growth factor receptor in the benign and malignant prostate. *J Urol* 1992; 147(2):496-9.
27. Bubendorof L, Sauter G, Moch H, Schmid HP. Ki67 Labelling index: an independent predictor of progression in prostate cancer treated by radical prostatectomy. *J Phathol* 1996;178:437-441.
28. Takahiro I, Takehiko S, Taizou S, Toru Y, Tomomi Y, Naoko K, et al. Androgen receptor, Ki-67, and p53 expression in radical prostatectomy specimens predict treatment failure in Japanese population. *Urology* 2005;66:332-7.
29. Nagao K, Yamamoto Y, Hara T, Komatsu H, Inoue R, Matsuda K, et al. Ki67 and BUBR1 may discriminate clinically insignificant prostate cancer in the PSA range <4 ng/ml. *Jpn J*

*Original Article*

## Comparison of p53, Ki-67, bcl-2 and Her2-neu Biomarkers Frequency in Different Grades of Prostatic Carcinoma

A. Alizamir, M.D.<sup>\*</sup>; A.R. Monsef, M.D.<sup>\*\*</sup>; M. Jafari, M.D.<sup>\*\*\*</sup>

Received: 5.4.2014

Accepted: 9.9.2014

### Abstract

**Introduction & Objective:** Prostatic carcinoma is the most common malignancy throughout the world among the males over middle age and the second leading cause of cancer-related deaths in western countries. The currently most established prognostic factors in prostatic carcinoma are histological grade (Gleason system) and tumor stage. Various new prognostic factors that have been suggested to provide additional information include proliferative activity (Ki-67 labeling index), over expression of the oncogene bcl2 and Her2-neu and inactivation of the p53 tumor suppressor gene. The aim of this study was to compare p53, Ki-67, bcl2 and Her2-neu biomarkers frequency in low grade and high grade prostatic carcinoma.

**Materials & Methods:** In this cross sectional study, 76 cases of prostatic carcinoma patients with different combined Gleason score were studied after they had been admitted to the pathology wards of Beheshti and Be'sat hospital in Hamadan city between 2006-2011. Age, Combined Gleason's score and histologic grade record in each case. p53, Ki-67, bcl2 and Her2-neu expression were investigated immunohistochemically. The biomarkers of p53, Ki-67, bcl2 and Her2-neu between low grade and high grade prostatic carcinoma were compared. The tumors were considered low grade when Gleason score was 6 or less, and high grade when the Gleason score was 7 to 10.

**Results:** This investigation revealed that the frequency of p53, bcl2, Her2-neu and Ki-67 expression is 68.4%, 34.2%, 78.9% and 52.6%, respectively. In this study 81.6% of high grade and 55.3% of low grade tumors were immunoreactive for p53 (P=0.013). Over expression of bcl2 was found in 36.8% of high grade and 31.6% of low grade of prostatic carcinoma (P=0.405). 81.6% of high grade and 76.3% of low grade carcinoma were positive for Her2-neu (P=0.390). Ki-67 positivity was found in 68.4% of high grade and 36.8% low grade carcinoma (P=0.006).

**Conclusion:** The most important findings of our study are that the frequency of p53 and Ki-67 proteins expression is correlated with high grade of prostatic carcinoma. However, there was not any significant difference of bcl2 and Her2-neu biomarker in the two grades of prostatic carcinoma.

(*Sci J Hamadan Univ Med Sci 2014; 21 (3): 203-210*)

**Keywords:** Biological Markers / Prostatic Neoplasms

\* Pathologist, Hamadan University of Medical Sciences & Health Services, Hamadan, Iran. (aidaalizamir@yahoo.com)

\*\* Professor, Department of Pathology, School of Medicine  
Hamadan University of Medical Sciences & Health Services, Hamadan, Iran.

\*\*\* Assistant Professor, Department of Pathology, School of Medicine  
Hamadan University of Medical Sciences & Health Services, Hamadan, Iran.