مقاله پژوهشی

مقایسه فراوانی بیان مارکرهای p53 و Ki-67 در انواع هیستولوژیک کارسینوم سلول بازال

دکتر علیرضا منصف*، دکتر اکرم انصار، دکتر سحر بهنود***، دکتر حمیدرضا قدیمی پور**** دکتر سیدمصطفی قاسم زاده*****

دریافت : ۹۰/۱۱/۲۵ ، پذیرش : ۹۱/۴/۱۳

چکیده:

مقدمه و هدف: کارسینوم سلول بازال (BCC)شایعترین تومور بدخیم مبتلاکننده انسان است. در پاتوژنز این تومور بیش از همه نقش اشعه ماوراءِ بنفش شناخته شده است. علاوه بر این اخیراً برخی مارکرهای ایمونوهیستوشیمیایی مانند پروتئین p53 و یا آنتی ژن Ki-67 در پاتوژنز BCC مطرح شده اند. همچنین برخی مطالعات از آنها به عنوان عوامل پیش آگهی دهنده در موارد عود یا متاستاز نام برده اند. این مطالعه جهت تعیین فراوانی و شدت بیان این مارکرها در نمونه های BCC انجام شده است.

روش کار: مطالعه حاضر نوعی مطالعه توصیفی- تحلیلی است که بر روی ۱۰۰ نمونه بدست آمده از بیماران مبتلا به BCC انجام شده است. ابتدا نمونه ها با فرمالین فیکس شده و با استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین با میکروسکوپ نوری مشاهده شدند و تایپ هیستوپاتولوژیک BCC تعیین شد. سپس با استفاده از کیت های آزمایشگاهی مخصوص از نظر p53 و Ki-67 مورد ارزیابی قرار گرفتند. لام های آماده شده از نظر بیان یا عدم بیان و نیز شدت بیان این مارکرها بررسی شدند. اطلاعات دیگری مانند سن، جنس، ناحیه آناتومیک درگیر و تایپ هیستوپاتولوژیک به همراه نتایج بدست آمده از بررسی این بیومارکرها استخراج شده و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 15.0 آنالیز شدند.

نتایج: از ۱۰۰ بیمار شرکت کننده در مطالعه ۶۲٪ مرد و ۳۸٪ زن بودند. میانگین سنی مبتلایان ۱٤/۳٦± ۶۳/۹۷ سال بدست آمد. درصد فراوانی بیان Ki-67 و p53 به ترتیب ۶۰٪ و ۷۶٪ بود. از نظر شدت بیانKi-67 ، ۳۰٪ نمونه ها بیان قوی و ۷۰٪ بیان ضعیف داشتند. این مقدار برایp53 ، ۳۰٪ بیان ضعیف و ۷۰٪ شدت بیان قوی از خود نشان دادند. از نظر ارتباط بین فراوانی و یا شدت بیان این مارکرها با متغیرهایی مانند سن، جنس، محل آناتومیک ضایعه، و تایپ پاتولوژیک ضایعات بررسی انجام شد که در اغلب موارد ارزشP بالاتر از رقم معناداری تعریف شده (۰/۰۵) بدست آمد، بجز در مورد ارتباط بین سن بیماران و شدت بیان Ki-67 در سنین پایین تر که میزان بیان این مارکر قویتر بود(P=0.036).

نتیجه نهایی: با توجه به نتیجه بدست آمده در مورد بیان p53 و Ki-67 در بیماران BCC می توان گفت از نظر فراوانی بیان این مارکرها مطالعه حاضر با سایر مطالعات همخوانی دارد اما از نظر ارتباط بین شدت بیان این مارکرها با واریان های پاتولوژیک خاص، جنس و با ناحیه آناتومیک مبتلا ، مطالعه حاضر تأییدکننده این ارتباط نبود و تفاوت های بدست آمده از نظر آماری معنادار نبودند.

کلید واژه ها: ژن p53 / کارسینوم سلول بازال / آنتی ژن Ki-67

* دانشیار گروه پاتولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

** دانشیار گروه پوست دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

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

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

***** دستیار گروه پوست دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

مقدمه :

کارسینوم سلول بازال (BCC) یک تومور بدخیم پوستی است که در بسیاری از نقاط جهان شایع ترین تومور بدخیم انسان تلقی می گردد(۱) این تومور از سلول هایی شبیه به سلول های لایه بازال اپیدرم و یا ضمائم آن تشکیل می گردد و علیرغم آنکه یک تومور بدخیم پوستی است به ندرت متاستاز می دهد(۲). شیوع آن هر روزه در حال افزایش است(۳) و در بسیاری از جوامع سن بروز این بدخیمی پوستی در حال کاهش یافتن است(۴). یک ضایعه کلاسیک BCC بصورت پاپول صورتی یا قرمز گوشتی (flesh colored) همراه با تلانژکتازی تظاهر می یابد. ضایعات ممکن است دارای لبه ای برجسته و اریتماتوز باشند. انواعی از BCC با رفتار تهاجمی نیز وجود دارند که به صورت رشد سریع و اولسراسیون تظاهریافته و به تخریب بافت های اطراف مانند لب، چشم، گوش و یا بینی منجر می شوند(۵). پیشرفت ضایعات و زخمی شدن آنها می تواند منجر به ایجاد حفره در بافتهای زیرین شده و حتی به تخریب مفصل و استخوان و نهایتاً تخریب بافتی بیانجامد(۶). حداقل نیمی از موارد مرگ ناشی ازBCC به دلیل گسترش مستقیم تومور به یکی از ارگانهای حیاتی می باشد(۷). در بین علل متفاوتی که برای ابتلای به BCC مورد ارزیابی قرار گرفته اند نور آفتاب بیش از سایر علل مورد توافق است. اشعه ماوراء بنفش بر سلولهای لایه اپی تلیال می تابد، در این لایه سلولهای پیش ساز (Precursor) این تومورها وجود دارند، اشعه ماوراء بنفش از طریق DNA این سلولها جذب می شود ومنجر به ایجاد تغییرات DNA در برخی از ژنها در این سلولها می گردد. ایجاد این تغییرات ژنی موجب تغییر رفتار تومورال سلول مبتلا می گردد(۸). مهم ترین تغییرات و جهش های ژنی در ژنهای سرکوب کننده تومور (Suppressor genes) اتفاق می افتد. ژنهای p53 وPTCH اصلی ترین ژنهای هدف اشعه ماوراء بنفش تلقی می شوند. غیرفعال شدن این ژنها منجر به افزایش پرولیفراسیون سلولها می گردد(۹). BCC ها پروتئین p53 را بیان می کنند و در بین واریان های تهاجمی تر این بیان بارزتر است(۱۰،۱۱). موتاسیون در ژن p53 در برخی مطالعات ۴۰٪ و در مطالعه ای در ۵۶٪ از موارد BCC گزارش شده است(۱۲،۱۳) ضمن آنکه در مطالعات فراوانی که در این زمینه انجام شده است به طور متوسط میزان بیان این ژن را در بیماران مبتلا به BCC از ۴۲٪ تا ۹۲٪ نیز ذکر نموده اند(۱۴،۱۵). واریان های تهاجمی تر BCC با هایپرپلازی استرومال همراهند و بیان افزایش یافته p53 را از خود نشان می دهند(۱۶) از سوی دیگر آنتی ژن دیگری که در فرآیند پاتوژنز BCC مطرح شده است، Ki-67 می باشد ، این آنتی ژن در تمام مراحل چرخه سلولی بجز در مرحله G_0 بیان می شود و در پایان چرخه سلولی به سرعت ناپدید می گردد. به همین دلیل Ki-67 مارکری قابل اعتماد برای بررسی نسبت و سرعت رشد تومورال است(۱۷). با توجه به آنکه این آنتی ژن مارکر قابل اعتمادی برای نشان دادن میزان ازدیاد سلولی است، محققان از این مارکر به عنوان یک معیار پیش آگهی (prognostic) در مورد تومورهای مختلف استفاده کرده اند(۱۸،۱۹).

براساس مطالعات منتشر شده در مورد اهمیت ژن p53 و آنتی ژن Ki-67 در فرآیند سرطانزایی در مورد کانسرهای پوستی از جمله BCC به نظر می رسد وجود جهش های ژنی و یا حتی افزایش بیان این مارکرها در نمونه های سلولی ممکن است بتواند به عنوان یک بیومارکر برای افزایش احتمال ابتلا به BCC و یا احتمال بالاتر عود همراه باشد. ما نیز در این مطالعه بر آن شدیم تا با بررسی این دو مارکر مهم (p53 و Ki-67) اولاً میزان فراوانی بیان آنها را در کارسینوم سلول بازال ارزیابی نماییم و ثانیاً ارتباط بین این مارکرها را با متغیرهایی مانند سن، جنس و واریانهای پاتولوژیک بررسی نماییم.

روش کار:

این مطالعه نوعی مطالعه به روش توصیفی ـ تحلیلی است که بر روی نمونه های پوستی مربوط به ۱۰۰ بیمار مبتلا به کارسینوم سلول بازال انجام گرفته است. با توجه به آنکه مطالعه بر روی نمونه های بافتی و با استفاده از اطلاعات موجود در پرونده بیماران انجام شد و نیز در فرم پرسشنامه مخصوص جمع آوری اطلاعات هیچ نامی از بیمار برده نشد، لذا ملاحظه اخلاقی خاصی بر مطالعه وارد نبود. بر اساس فرمول آماری تعداد ۱۰۰ نمونه برآورد شدند.

در آزمایشگاه نمونه های بیوپسی بدست آمده در بافر فرمالین ۱۰٪ فیکس شده و با استفاده از پارافین قالب گیری شدند. جهت تأیید تشخیص BCC و نیز تعیین تایپ هیستوپاتولوژیک، برشهای بافتی بدست آمده از نمونه ها با

استفاده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی شده و توسط متخصص پاتولوژی مورد ارزیابی قرار گرفتند، سپس بر اساس زیر گروههای تعیین شده در ۱۰ گروه(ندولار- میکروندولار- ندولار+ میکروندولار- پیگمانته- کیستیک- آدنوئید- کراتوتیک-مورفئیک- سوپرفیشیال- متاتیپیکال) قرار داده شدند. انواع مورفه ایک، میکروندولار، سوپرفیشیال و متاتیپیکال به عنوان انواع پرخطر(high risk) و سایر انواع به عنوان واریانهای کم خطر (low risk) معرفی گردیدند.

جهت ارزیابی از نظر بیان p53 و Ki-67 از هر نمونه یک بلوک پارافینی مناسب انتخاب شد، بیان p53 با استفاده از کیت آزمایشگاهی مخصوص (Novocastra, mouse monoclonal antibody p53 protein; DO-7) و بیان Ki-67 با کیت آزمایشگاهی مخصوص (Novocastra, mouse monoclonal antibody Ki-67 protein; DO-7). مورد ارزیابی قرار گرفتند.

کلیه مراحل برای هر نمونه یک بار با کیت p53 و یک بار با کیت Ki-67 انجام شدند. در هر run کاری از یک نمونه کنترل مثبت نیز استفاده شد که طبق توصیه کیت مورد استفاده کارسینوم پستان(که درصد زیادی از آنها رنگ پذیری p53 را نشان می دهند) برای p53 و نمونه لوزه برای Ki-67 بود. لام های رنگ شده توسط پاتولوژیست و دستیار پاتولوژی از نظر بیان یا عدم بیان P_{53}، بیان یا عدم بیان Ki-67، شدت بیان p53 (Strong- weak) و شدت بیان Ki-67 (Strong- weak) توسط میکروسکوب نوری بررسی شدند. ارزیابی بیان هر یک از این مارکرها با استفاده از جداول ۱ و ۲ تعیین شد(۲۰،۲۱).

جدول ۱: تعیین بیان p53 در نمونه های بافتی BCC

درصد هسته‌های رنگ گرفته	گرید
۱-۲۵	۱+
۲۶-۵۰	۲+
۵۱-۷۵	۳+
۷۶-۱۰۰	۴+

جدول ۲: تعیین بیان Ki-67 در نمونه های بافتی BCC

میانگین تعداد هسته‌های رنگ گرفته در هر فیلد با درشت نمایی بالا(HPF)	گرید
۱-۳	Low
۴-۶	Moderate
۷ و بیشتر	High

برای ارزیابی این مقیاس ها ابتدا توسط بزرگ نمایی کوچک نواحی که به صورت یکنواخت رنگ گرفته‌اند انتخاب و سپس با بزرگنمایی بالا(X400) تعداد سلولهای رنگ گرفته شمارش شده و میانگینی از تعداد هسته‌های مثبت در هر فیلد با درشت نمایی بالا بدست آمد. سپس نتایج حاصل از آزمایشات فوق به همراه اطلاعات به دست آمده از بیماران وارد فرم پرسشنامه مخصوص هر بیمار گردیده و پس از استخراج اطلاعات نهایی وارد فرم اطلاعات آماری(data sheet) مخصوص مطالعه شدند. در نهایت پس از اتمام مرحله جمع آوری اطلاعات و کدگذاری متغیرهای کیفی کلیه متغیرها وارد صفحه نرم افزار SPSS ver15 شده و با استفاده از آزمونهای آماری تی ، مجذور کای و دقیق فیشر آنالیز شدند.

نتایج:

در بین ۱۰۰ بیمار شرکت کننده در مطالعه ۶۲ نفر مرد (۶۲٪) و ۳۸ نفر زن (۳۸٪) بودند. میانگین سنی افراد مورد مطالعه ۱۴/۳۶± ۶۳/۹۷ سال بود. از نظر محل آناتومیک بروز ضایعات ۹۱ نمونه (۹۱٪) در نواحی در معرض آفتاب (صورت، گوش، روی بینی و ...) و ۹ مورد (۹٪) در نواحی پوشیده از آفتاب قرار داشتند. از نظر تایپ هیستوپاتولوژیک ابتدا ضایعات در ۱۰ گروه و سپس بر اساس رفتار تهاجمی و یا احتمال عود تومور در دو گروه پرخطر و کم خطر دسته بندی شدند. بر این اساس از بین ۱۰۰ مورد ۱۹ مورد ندولار، ۱۶ مورد میکروندولار، ۱۵ مورد ندولار + میکروندولار، ۱۵ مورد پیگمانته، ۱۴ مورد کیستیک، ۶ مورد سوپرفیشیال، ۶ مورد پیگمانته، ۵ مورد کراتوتیک، ۳ مورد آدنوئید و ۱ مورد متاتیپیکال بودند. بر اساس کم خطر و یا پر خطر بودن نیز ۴۴ مورد پرخطر و ۵۶ مورد کم خطر بودند. در مورد بیان مارکرهای Ki-67 و p53 ، از مجموع ۱۰۰ نمونه ۶۰ نمونه (۶۰٪) دارای بیان Ki-67 بودند و ۴۰ نمونه Ki-67 را بیان نکردند. از بین این ۶۰ نمونه ۱۷ مورد بیان low، ۱۲ مورد بیان moderate و ۳۱ نمونه بیان high داشتند. از نظر شدت (severity) بیان مارکر Ki-67 نیز از بین ۶۰ نمونه مثبت از نظر بیان مارکر ۱۸ مورد (۳۰٪) دارای بیان قوی (strong) و ۴۲ مورد (۷۰٪) دارای بیان ضعیف (weak) بودند. در مورد p53 از نظر فراوانی بیان مارکر، ۷۶ (۷۶٪) مورد دارای بیان p53 بودند و ۲۴ مورد (۲۴٪) این مارکر را بیان نکردند. از نظر شدت (severity) بیان نیز از بین ۷۶ مورد

دارای بیان p53 ، ۲۳ مورد(۳۰٪) دارای بیان ضعیف و ۵۳ مورد(۷۰٪) دارای بیان قوی بودند. از نظر بیان p53 در بین واریانهای پاتولوژیک، این مارکر در بین ۴۴ مورد واریان های پرخطر در ۳۲ مورد (۷۲٪) و در بین ۵۶ مورد از واریانهای کم خطر در ۴۴ نمونه (۷۸٪) با ارزش P برابر با ۱/۰۰ بیان شده است. در مورد بیان Ki-67 در تایپ های پاتولوژیک، نیز این مارکر در واریان های پرخطر و کم خطر به ترتیب (۲۴/۴۴) معادل ۵۴/۵٪ و (۳۶/۵۶) ۶۴/۲٪ با P برابر با ۱/۰۰ بیان شده است. از نظر شدت بیان p53 ، موارد بیان شدید در واریانهای پرخطر ۶۵/۶٪ و در واریانهای کم خطر ۷۲/۳٪ با P برابر با ۰/۴۴ بدست آمد. در موردKi-67 نیز موارد بیان ضعیف در نمونه های پرخطر ۶۵/۲٪ موارد و در موارد کم خطر ۷۳٪ موارد را (با P برابر با ۰/۵۷) شامل شده است. از نظر ارتباط بین بیان این مارکرها با قرار داشتن در معرض آفتاب نیز یافته های مطالعه حاضر به این ترتیب بوده است که میزان بیان p53 در نواحی در معرض آفتاب و نواحی پوشیده از آفتاب به ترتیب عبارت از ۹۲٪ و ۸۷/۵٪ با P=۱/۰۰ بوده است. همچنین میزان بیان Ki-67 نیز در نواحی در معرض آفتاب و نواحی پوشیده از آفتاب به ترتیب عبارت از ۹۱/۷٪ و۹۰٪ با P= ۱/۰۰ بوده است. شدت بیان Ki-67 در بین نمونه های در معرض آفتاب در ۶۹/۱٪ ضعیف و در ۳۰/۹٪ قوی بوده است. در بین موارد پوشیده از آفتاب نیز بیان ضعیف و قوی به ترتیب ۸۰ و ۲۰ درصد بوده اند. از نظر بیان p53 نیز بیان ضعیف در ۶۸/۶٪ موارد در معرض آفتاب و ۸۳/۳٪ از موارد پوشیده وجود داشت (P در هر دو نمودار بیش از ۰/۰۵). از نظر ارتباط بین بیان مارکرها و سن نیز، میانگین سنی نمونه هایی کهKi-67 را بیان نکردند ۱۴/۹ ±۶۶/۴ و میانگین نمونه هایی که این مارکر را بیان کردند ۱۳/۸ ±۶۲/۳ با P برابر با ۰/۱۶ بدست آمد. علاوه بر آن در مورد شدت بیان Ki-67 نیز سن بیمارانی که بیان strong و weak داشتند به ترتیب ۶۴/۹۷ در برابر ۵۶/۶۷ با P برابر با ۰/۰۳ بود. در مورد p53 نیز میانگین سنی نمونه هایی که این مارکر را بیان داشتند ۱۳/۶ ±۶۳/۹۹ و نمونه هایی که این مارکر را بیان نکردند ۱۳/۸ ±۶۳/۹۲ با P= ۰/۹۸ بوده است. از نظر شدت بیان p53 نیز میانگین سنی در موارد بیان ضعیف ۱۲/۵ ±۶۱/۰۴ و در موارد بیان قوی ۱۳/۹ ±۶۵/۲ با P=۰/۲۱ بدست آمد.

بحث:

مطالعه حاضر از نظر تعداد موارد مورد مطالعه در مقایسه با سایر مطالعات مشابه اخیر از تعداد قابل قبولی برخوردار بوده است. تعداد نمونه های مورد بررسی در مطالعه حاضر بیشتر از مطالعات و گزارشات مشابه منتشر شده مانند مطالعات انجام شده توسط انصارین (۲۲)، هیلی (۲۳) و چاپروف (۲۴) می باشد.

از نظر توزیع جنسی ،فراوانی نمونه ها در میان مردان بیشتر بوده است که با توجه به روش انتخاب نمونه ها در این مطالعه این تفاوت جنسی می تواند بیانگر احتمال بیشتر ابتلای مردان به این بدخیمی پوستی باشد. در برخی از مطالعات ابتلای به BCC دارای ارجحیت جنسی با احتمال ابتلای بیشتر مردان دانسته شده است، اما مطالعات دیگری نیز وجود دارند که وجود ارجحیت جنسی در ابتلای به این بدخیمی را رد کرده اند(۲۵). بات هکستال و همکارانش در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۷ منتشر کردند بروز بیشتر BCC را در مردان تأیید کردند(۶). مطالعه انصارین(۲۲) و نیز عبدالسید (۲۶) با ارجحیت درگیری مردان همراه بود، ضمن آنکه منابع معتبر ابتلای بهBCC را در مردان نسبت به زنان محتمل تر دانسته اند، لیکن این افزایش احتمال تا این حد بارز نیست که جنسیت به عنوان ریسک فاکتوری برای ابتلای به BCC مطرح باشد(۲۷) البته بالاتر بودن احتمال ابتلای مردان به BCC را می توان مربوط به قرار گرفتن بیشتر مردان در معرض آفتاب به دلایل شغلی دانست.

در مطالعه حاضر میانگین سنی ۱۴/۳۶± ۶۳/۹۷ سال بود. این یافته با اطلاعات موجود در منابع مبنی بر ابتلای به BCC در سنین بالا مطابقت دارد، BCC به طور تیپیک بعد از دهه چهارم زندگی بوجود می آید(۲۸) افزایش میزان بروز BCC با بالاتر رفتن سن مورد توافق عمومی قرار دارد، با این حال مطالعات جدیدتری نیز وجود دارد که بیانگر کاهش سن ابتلای بیماران به BCC در سنین پایین تر از ۴۰ سال می باشد(۲۵) چنانکه به نظر می رسد مطالعه حاضر از نظر سن بیماران شرکت کننده در مطالعه با منابع معتبر و مطالعات منتشر شده اخیر مطابقت دارد.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر بیان p53 در ۷۶٪ موارد و Ki-67 در ۶۰٪ موارد مثبت بوده است. وجود موتاسیون در ژن p53 شایعترین تغییر ژنی در بین تمامی انواع کانسر

در انـــسان اســـت. در مطالعـــاتی کـــه در بـــین انـــواع کارسینوم های سلول بازال انجام گرفت وجود ایـن جهـش در بین سلول های تومـورال دارای محـدوده ای بـین ۴۲٪ الی بـیش از ۹۰٪ ذکـر شـده اسـت. ضـمن آنکـه ژنp53 می تواند علاوه بر یک ضایعه تومورال بر روی پوست سـالم در معرض آفتاب و نیز پوسـت سـالم اطـراف یـک ضـایعه BCC ایجاد گردد. مارکر دیگر مورد مطالعه ما آنتـــی ژن Ki-67 بود. این مارکر در تمام مراحل چرخه سـلولی بجـز در مرحله G_0 بیان می شود و در پایان چرخـه سـلولی بـه سرعت ناپدید می گردد و به همین دلیـل Ki-67 مـارکری قابل اعتماد برای بررسی نـسبت و سـرعت رشـد تومـورال است (۱۷) چنانچه در منابع معتبر ذکر شده است میتـوان از مارکرKi-67 بعنوان یـک مـارکر بـرای نـشان دادن فـاز ازدیاد سلولی (proliferation) استفاده نمود، و بیان بـارزتر ایـن مـارکر نـشان دهنـده سـرعت بـالاتر رشـد تومـورال است(۱۷).

در مطالعـه گـونزالس میـزان فراوانـی بیـان Ki-67 در بافت تومورال نزدیک ضایعه، بافت دور از ناحیه تومـورال و نیـز در افـراد کـاملاً سـالم بـه ترتیـب ۶۲٪، ۵۳٪ و ۲۰٪ گزارش شد(۲۹).

در مطالعـه هیلـی و همکـاران در سـال ۱۹۹۵ درصـد فراوانی بیان Ki-67 در مـوارد BCC اولیـه بطـور متوسـط ۱۲٪ و در مـوارد تومورهـای عودکننـده ۲۲/۵٪ گـزارش شد(۲۳).

در مطالعه چاپروف در سال ۲۰۰۸ درصد فراوانی بیان Ki-67 ، به طور میانگین برابر با ۵۵/۷٪ بود، بـا ایـن حـال این درصد در موارد BCC با پیش آگهـی بـد ماننـد انـواع انفیلتراتیو بیش از سایر انواع بود(۲۴).

در مطالعه جانیسون و همکارانش درصد فراوانـی بیـان Ki-67 در موارد اولیه و عودکننده بـه ترتیـب ۵۳٪ و ۶۸٪ گزارش شد(۳۰).

چنانچه در مطالعات فوق به نظر می رسد بیان مـارکر p53 در موارد BCC متغیر می باشد، همچنان که در منابع معتبر نیز ایـن محـدوده در فاصـله ۹۰-۴۲ درصـد مـوارد گزارش شده است(۱۴،۱۵). علیـرغم وجـود ایـن محـدوده وسیع و آمـار متغیـر اغلـب منـابع و مطالعـات بیـان ایـن مارکرها را در نمونه های BCC افزایش یافته می دانند. بـر اساس مطالعه ما بیان p53 در ۷۶٪ موارد و Ki-67 در ۶۰٪ موارد مثبت بوده است که با محدوده فراوانی بیان ذکـــر شده در منابع و مطالعات فوق مطابقت دارد. همچنـین بـا توجه به یافته های مطالعه حاضر و بررسی مطالعات مشابه می توان گفت یافته های این مطالعه از نظر فراوانـی بیـان آنتی ژن Ki-67 در نمونه های کارسـینوم سـلول بـازال بـا مطالعات مشابه دیگر همخوانی دارد.

یافته های دیگر مطالعـه حاضـر بیـانگر آن بودنـد کـه ارتباط معناداری بین میزان بیان و یا شدت رنـگ پـذیری هسته ای با اسـتفاده از روش هـای ایمونوهیـستوشیمیایی p53 و Ki-67 با واریان هیستولوژیک BCC مشاهده نـشد. علیرغم این می توان گفت که از نظر شدت بیان مارکرهای فوق، موارد بیان قوی برای p53 و موارد بیان ضعیف بـرای Ki-67 از فراوانی بیشتری برخوردار بودند.

بررسی ارتباط بین واریان های هیـستولوژیک مختلـف در BCC با میزان بیان مارکرهای IHC در تعداد محدودی از مطالعات انجام شده است. در مطالعات انجام شده توسط انصارین، رزا (۳۱) ، بارت (۳۲)، شیا (۱۱) و کروسون(۱۶) بیان p53 در واریانهای تهاجمی بیش از واریانهای معمـول بـوده اسـت. از سـوی دیگـر بـر خـلاف ایـن مطالعـات در مطالعات هیلی (۲۳) ، دمیرکان (۳۳) و بائوم (۳۴) تفاوتی بین واریانهای مختلف BCC از نظر بیان مارکرهـــای p53 و یا Ki-67 پیدا نشد.

چنانچه به نظر می رسد بـر اسـاس مطالعـه حاضـر و مقایسه یافته های آن با مطالعـات فـوق الـذکر مـی تـوان چنین نتیجه گرفت که یافته های مطالعه مـا تأییدکننـده ارتباط بین فراوانی بیان و شدت رنگ پذیری هسته هـا بـا واریانهای مختلف هیستوپاتولوژیک BCC نمی باشـد. ایـن نتیجه، با نتایج بدست آمده در برخـی از مطالعـات مـشابه سازگار و بـا برخـی ناسـازگار اسـت. ایـن تنـاقض در بـین مطالعـات مختلـف را مـی تـوان بـه علـل مختلفـی ماننـد روشهای آزمایشگاهی غیر یکسان و متنـوع مـورد اسـتفاده در مطالعات مختلف، تنوع در انتخاب نمونه هـا و بیمـاران (case selection) ، مولتی فاکتوریال بـودن پـاتوژنز BCC، عدم مطالعه وسیع و دقیق با دخالت دادن سایر فاکتورهای دخیل در پاتوژنز BCC و ... نسبت داد.

متغیر دیگر مورد بررسی در مطالعه حاضر سن ابتلا به BCC در بین نمونه های مورد مطالعه بوده است که بر این اساس سن بیماران دارای بیان p53 اندکی بیش از بیماران بدون این مارکر بوده است. از نظر شدت بیان p53 نیز سن بیماران در موارد بیان strong بیش از موارد با بیان weak

بوده است، هر چند این موارد با توجه بـه ارزش P بدسـت آمده معنادار نبود. از سوی دیگـر سـن نمونـه هـای مـورد مطالعه حاضر در بین مواردی کـه Ki-67 را بیـان نمودنـد اندکی کمتر از نمونه هایی بوده است که این مارکر را بیان نکرده اند. علاوه بر آن در مورد شدت بیان Ki-67 نیز سن بیمارانی که بیان قوی داشتند کمتر از نمونه هایی با بیـان ضعیف بوده است. بر این اساس و با توجه به معنادار بـودن تفاوت بین موارد بیان قوی با مـوارد بیـان ضـعیف از نظـر شدت بیان Ki-67 در این مطالعه می تـوان نتیجـه گرفـت که افراد دارای سن بالاتر دارای بیان ضعیف تری از Ki-67 هستند. علیرغم این به دو دلیل ایـن نتیجـه گیـری دارای محدودیت است، اولاً همانطور که قبل از این بـه آن اشـاره شد مطالعه و یا ارزیابی مشابهی در مورد ارتباط بین سن و شدت بیان Ki-67 در منابع معتبر پزشکی وجود ندارد کـه امکان مقایسه و اعتبارسنجی بین یافته های مطالعه حاضر با سایر مطالعات را فراهم آورد و ثانیـاً مطالعـه مـا در بـین بیماران و یا نمونه های محدودی انجام شده است و امکان بررسی بیماران متنوع در محدوده های سـنی متفـاوت بـا توجه به تعداد نمونه های مورد بررسی فراهم نبوده است.

نتیجه نهایی:

بر اساس نتایج بدست آمده فراوانی بیان p53 و Ki-67 در مطالعه حاضر با سایر مطالعات همخـوانی داشـت امـا از نظر ارتباط بـین شـدت بیـان ایـن مارکرهـا بـا واریانهـای پاتولوژیک خاص، جنس و ناحیه آناتومیـک مبـتلا ارتبـاط معناداری بدست نیامد. در مورد ارتبـاط بـین مارکرهـا بـا واریانهای هیستولوژیک نیز تفاوت معناداری بین تایپ های پرخطر و کم خطر اثبات نشد ، از این نظر نیز مطالعـه مـا تأیید کننده نتـایج برخـی از مطالعـات و ردکننـده برخـی دیگـر بـود. جهـت ارزیـابی بیـشتر اسـتفاده از روشـهای آزمایشگاهی متفاوت ، افزایش تعداد و تنـوع مـوارد مـورد مطالعه در آینده کمک کننده خواهد بود.

سپاسگزاری:

بدینوسیله از حوزه تحقیقات و فناوری دانـشگاه علـوم پزشکی همدان بخاطر حمایت مـادی از انجـام ایـن پـروژه سپاسگزاری بعمل می آید .

منابع :

1. William DJ, Timothy G , Dirk ME. Andrews disease of the skin; Clinical dermatology. 10th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2006: 895.
2. Burns T, Breathnanch S , Cox N , Grifith C . Rook's Textbook of dermatology. 8th ed. New York: Mosby, 2010; Chapter 52:18.
3. Valery PC, Neale R, Williams G. The effect of skin examination surveys on the incidence of basal cell carcinoma in a Queensland community sample: A 10-year longitudinal study. J Investig Dermatol Symp Proc 2004;9:148.
4. Leslie J, Christenson TA, Borrowman Celine MV. a Population younger than 40 years incidence of basal cell and squamous cell carcinomas. JAMA 2005;294(6):681-690
5. Boyd AS. Tumors of the epidermis. In: Barnhill R, Crowson AN (eds). Textbook of dermatopathology. 2nd ed. New York: McGraw-Hill , 2004, : 575–634.
6. Bath-Hextall FJ, Perkins W, Bong J. Interventions for basal cell carcinoma of the skin. Cochrane Database Syst Rev CD003412, 2007.
7. Robinson JK, Dahiya M: Basal cell carcinoma with pulmonary and lymph node metastasis causing death. Arch Dermatol 2003;139:643.
8. Situm M, Buljan M, Bulat V, Lugović Mihić L, Bolanca Z, Simić D The role of UV radiation in the development of basal cell carcinoma. Coll Antropol 2008 ;32 (Suppl 2):167-70.
9. Lacour JP. Carcinogenesis of basal cell carcinomas: genetics and molecular mechanisms. Br J Dermatol 2002; 146 (Suppl 61): 17–19.
10. Crowson AN, Pilavdzic D, Stranc M. Expression of p21WAF1/CIP1 in aggressive-versus non-aggressive-growth basal cell carcinoma: a comparative study. Lab Invest 1999;79:56A.
11. Shea CR, McNutt NS, Volkenandt M. Overexpression of p53 protein in basal cell carcinomas of human skin. Am J Pathol 1992;141:25–29.
12. Reifenberger J, Wolter M, Knobbe SB. Somatic mutations in the PTCH, SMOH, SUFUH and TP53 genes in sporadic basal cell carcinomas. Br J Dermatol 2005;152:43–51.
13. Soehnge H, Ouhtit A, Ananthaswamy HN. Mechanisms of induction of skin cancer by UV radiation. Front Biosci 1997; 2: 538–51.
14. Ziegler A, Leffell DJ, Kunala S. Mutation hotspots due to sunlight in the p53 gene of nonmelanoma skin cancers. Proc Natl Acad Sci 1993; 90: 4216.
15. Ro YS, Cooper PN, Lee JA. p53 protein expression in benign and malignant skin tumor. Br J Dermatol 1993; 128: 237.
16. Crowson AN, Magro CM, Pilavdzic D. Differential stromal p53 expression in human basal cell carcinoma . Lab Invest 1997;76:43A.
17. Paus R. Rosenbach T, Haas N, Czarnetzki BM. Patterns of cell death: the significance of apoptosis for dermatology. Exp Dermatol 1993; 2: 3.
18. Pierga JY, Leroyer A, Vielh P, Mosseri V, Chevillard S, Magdele´nat H. Long term pro nostic value of growth fraction determination by Ki-67 immunostaining in primary operable

breast cancer. Breast Cancer Res Treat 1996; 37: 57.
19. Popov Z, Hoznek A, Colombel M. The prognostic value of p53 nuclear overexpression and MIB 1 as a proliferative marker in transitional cell carcinoma of the bladder. Cancer 1997; 80: 1472.
20. Batinac T, Zamolo G, Jonjić N. p53 protein expression and cell proliferation in non-neoplastic and neoplastic proliferative skin diseases. Tumori 2004 ;90(1):120-7.
21. Bhaskar VS, Sheedan CE, Rhee SJ. The prognostic significance of proliferation associated nuclear protein expression in prostatic adenocarcinoma. Cancer 1999; 85(7): 1569-76.
22. Ansarin H, Daliri M, Soltani-Arabshahi R. Expression of P53 in aggressive and nonaggressive histologic variants of basal cell carcinoma. Eur J dermatol 2006;16(5):543-7
23. Healy E, Angus B, Lawrence CM, Rees JL. Prognostic value of Ki 67 antigen expression in basal cell carcinomas. Br J Dermatol 1995; 133: 737
24. Chuprov IN. Immunomorphological features of cutaneous basal cell carcinoma. Vopr Onkol 2008: 54(6):715-719
25. Kyrgidis A, Tzellos TG, Vahtsevanos K, Triaridis S. New concepts for basal cell carcinoma. Demographic, clinical, histological risk factors, and biomarkers. A systematic review of evidence regarding risk for tumor development, susceptibility for second primary and recurrence. J Surg Res 2010; 159: 545–556.
26. Abdelsayed RA, Guijarro-Rojas M, Ibrahim NA, Sangueza OP. Immunohistochemical evaluation of basal cell carcinoma and trichepithelioma using Bcl-2, Ki67, PCNA and P53. J Cutan Pathol 2000; 27: 169–175
27. Wolff K, Goldsmith L, Katz S, Gilchrest B, Paller A, Leffell D. Fitzpatrick`s Dermatology in general medicine. 7th ed. New York: McGraw-Hill, 2008:1036-1042
28. Price MA, Goldberg LH, Levy ML. Juvenile basal cell carcinoma. Ped Dermatol 1994; 11: 176–177.
29. Gonzalez-Moles MA, Bravo M, Vila IR, Acebal F, Gil-Montoya JA, Brener S, Esteban F. Ki-67 expression in non-tumor epithelium adjacent to oral cancer as risk marker for multiple oral tumors. Oral Dis 2010; 16: 68–75.
30. Janisson-Dargaud D, Durlach A, Lorenzato M, Grange F, Bernard P, Birembaut P. Aneuploidy, but not Ki-67 or EGFR expression, is associated with recurrences in basal cell carcinoma. J Cutan Pathol 2008; 35: 916–921
31. De Rosa G, Staibano S, Barra E. P53 protein in aggressive and non aggressive basal cell carcinoma. J Cutan Pathol 1993;20:429-34.
32. Barrett TL, Smith KJ, Hodge J, Butler R, Hall FW, Skelton H. Immunohistochemical nuclear staining for p53, PCNA, and Ki-67 in different histologic variants basal cell carcinoma. J Am Acad Dermatol 1997;37:430-7.
33. Demirkan NC, Colakoglu N, Duzcan E. Value of p53 protein in biological behavior of basal cell carcinoma and in normal epithelia adjacent to carcinomas. Pathol Oncol Res 2000;9:228-34
34. Baum HP, Meurer I,Unterreger G. Ki-67 antigen expressin and growth patterns of basal cell carcinoma. Arch Dermatol Res 1993;285:291-5.