بررسی ایمنوهیستوشیمی وضعیت گیرنده‌های استروژن و پروژسترون و نشانگر تکثیر سلولی (Ki-67) در سرطان پستان

دکتر نوریه شریفی سیستانی[1]- دکتر محمد هادی صادقیان[2]- دکتر فاطمه همایی[3]- دکتر فاطمه حقیقی[4]

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به شیوع چشمگیر سرطان پستان در جهان و نیز در کشور ما ایران، مطالعات گسترده‌ای در مورد روشهای تشخیصی و درمانی و عوامل مؤثر در پیش‌آگهی آن انجام شده است. مطالعه حاضر با هدف تعیین وضعیت میزان تکثیر سلولی و همچنین وضعیت گیرنده هورمون‌های استروئیدی در سرطان پستان و ارتباط این عوامل با یکدیگر و با سایر عوامل نظیر سن، درگیری گره‌های لنفاوی و درجه تومور انجام شد.

روش تحقیق: این مطالعه تحلیلی- کاربردی در سال ۱۳۸۳ و در بخش پاتولوژی بیمارستان قائم (عج) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. ۵۰ مورد از انواع سرطان‌های پستان با تشخیص تائیدشده هیستوپاتولوژی انتخاب و پس از بازبینی اسلایدهای میکروسکوپی و تهیه برشهای مناسب، رنگ‌آمیزی اختصاصی، به روش ایمنوهیستوشیمی با نشانگرهای استروژن (ER) و پروژسترون (PR) و Ki 67 انجام شد؛ سپس اسلایدها جهت تعیین میزان ایمنورآکتیویتی سلول‌های تومورال با استفاده از سیستم H-Score در مورد نشانگرهای ER-PR و درصد سلول‌های مثبت برای نشانگر Ki 67 توسط دو نفر متخصص آسیب‌شناسی بررسی و نتایج آن گزارش شد. داده‌ها با استفاده از آزمونهای آماری ANOVA و ضریب همبستگی Spearman در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: میزان بروز Ki-67، ER و PR در افراد مبتلا به سرطان پستان از نوع داکتال مهاجم به ترتیب به طور متوسط ۲۰/۸۳±۲۴/۲۵٪، ۱۱۲/۶۳±۸۹/۶۲ و ۱۰۰/۶۹±۵۹/۰۰ بود. بین بروز Ki-67 و PR رابطه معنی‌دار و مشخصی مشاهده گردید (P=۰/۰۵) اما بین Ki 67 و ER رابطه‌ای یافت نشد؛ همچنین بین بروز ER و PR رابطه معنی‌داری وجود داشت (P=۰/۰۰). میزان Ki 67 در سه درجه مختلف سرطان داکتال مهاجم پستان تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان دادند (P=۰/۰۱). در بین انواع نادر سرطان‌های پستان، بیشترین درصد بروز Ki 67، PR و ER در مورد سرطان لبولار مهاجم و کمترین درصد مربوط به سرطان پاپیلری و مدولاری بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به اهمیت نتایج ایمنوهیستوشیمی در پیش‌آگهی و درمان بیماران و نتایج حاصل، علاوه بر روش صحیح، استانداردکردن گزارش دهی ER و PR امری ضروری است.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان؛ ایمنوهیستوشیمی؛ گیرنده هورمون‌های استروئیدی؛ تکثیر سلولی؛ Ki 67

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند (دوره ۱۳؛ شماره ۳؛ پاییز سال ۱۳۸۵)

دریافت: ۱۳۸۵/۲/۲۶ اصلاح نهایی: ۱۳۸۵/۷/۱۱ پذیرش: ۱۳۸۵/۷/۲۰

[1] نویسنده مسؤول؛ استادیار گروه آموزشی آسیب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

آدرس: مشهد- بیمارستان قائم- بخش آسیب‌شناسی تلفن: ۰۵۱۱-۸۰۱۲۳۸۶ نمابر: ۰۵۱۱-۸۴۰۹۶۱۲ پست الکترونیکی: n-sharifi@mums.ac.ir

[2] استادیار گروه آموزشی آسیب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

[3] استادیار گروه آموزشی انکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

[4] استادیار گروه آموزشی آسیب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

مقدمه

سرطان پستان یکی از شایعترین بدخیمی‌ها در زنان می‌باشد. از هر ۸ خانمی که تا سن ۹۰ سالگی زنده بماند، یکی شانس ابتلا به این بیماری را دارد. در سال ۲۰۰۱ حدود ۲۴۰/۰۰۰ خانم به این بیماری مبتلا شده و بیش از ۴۰/۰۰۰ نفر جان خود را از دست داده‌اند (۱)؛ در کشور ما نیز این سرطان شایع است؛ اگر چه آمار دقیقی در دسترس نیست ولی بر اساس مطالعه انجام گرفته در انستیتو کانسر و بیمارستان امام خمینی (ره) تهران که بر روی بیماران ارجاع داده شده به این مراکز و بررسی اطلاعات مرکز ثبت موارد سرطان در بیمارستانها، سرطان پستان ۱۰/۸٪ کل سرطان‌ها را در ایران تشکیل می‌دهد. در این گزارش سرطان پستان ۴۱۵ مورد از کل ۳۸۲۸ مورد بدخیمی را تشکیل داده است (۲)؛ از این رو مطالعات گسترده‌ای در مورد روشهای تشخیصی و درمانی و عوامل مؤثر در پیش‌آگهی سرطان پستان انجام شده است؛ در بدن انسان کمتر سرطانی وجود دارد که بیش از سرطان پستان مورد مطالعات دقیق جمعیت‌شناختی (اپیدمیولوژیک)، تشخیصی و درمانی قرار گرفته باشد. آموخته‌های موجود درباره تغییرات سلولی که در سیر پیشرفت این سرطان پیش می‌آید، افزایش بروز پروتئین‌های چرخهٔ سلولی مانند سیکلین‌ها، PCNA و Ki 67 را نشان می‌دهد (۴،۳).

بررسی میزان تکثیر سلول‌های تومورال سرطان پستان، با روشهای متفاوت از جمله تخمین درصد سلول‌های Ki 67 مثبت به روش ایمنوهیستوشیمی تا حدودی پیش‌آگهی زنان مبتلا به سرطان پستان را پیش‌گویی می‌کند (۵)؛ به طوری که تومورهایی که دارای سرعت تکثیر بالا هستند، پیش‌آگهی بدتری دارند. تاریخچه این موضوع به بیش از ۲۰ سال قبل بر می‌گردد که مشخص گردید اپی‌تلیوم طبیعی بافت پستان، دارای گیرنده‌هایی برای هورمون‌های استروئیدی استروژن و پروژسترون است که کنش و واکنش بین این گیرنده‌ها و هورمون‌های گردش خون، منجر به تکثیر و تمایز پوشش غددی پستان می‌شود (۷،۶).

از سوی دیگر ۵۰-۸۵٪ از تومورهای پستان، دارای گیرنده هورمون‌های استروئیدی (استروژن و پروژسترون) می‌باشند و ۷۰٪ از تومورهای دارای گیرنده استروژن، پس از دستکاری هورمونی، پسرفت می‌کنند؛ در حالی که تنها ۵٪ آنها که فاقد گیرنده هستند، پاسخ درمانی مناسب می‌دهند و سرطان‌هایی که دارای مقادیر بالاتری از گیرنده‌های هورمونی هستند، نسبت به آنها که فاقد گیرنده هستند، پیش‌آگهی بهتر دارند (۹،۸،۶)؛ از این رو اطلاع‌یافتن از وضعیت گیرنده هورمون‌های استروئیدی و میزان تکثیر سلولی ارزش پیش‌آگهی فراوانی جهت انتخاب نوع درمان دارد (۹-۱۱).

در مطالعه حاضر با استفاده از روش ارزشمند ایمنوهیستوشیمی و نیز با استفاده از آنتی‌بادی هورمون‌های استروئیدی استروژن (ER) و پروژسترون (PR) و Ki 67 که در دههٔ اخیر به عنوان روش قابل اعتماد، جهت نشان دادن آنتی‌ژن‌ها و مشخصات سلولی سلول‌های تومورال مورد توجه قرار گرفته است، وضعیت سرطان پستان و گیرنده‌های آن در بیماران شهر مشهد مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش تحقیق

در این مطالعه تحلیلی کاربردی که در سال ۱۳۸۳ و در بخش آسیب‌شناسی بیمارستان قائم وابسته به دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد، ۵۰ مورد سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفتند. اسلایدهای میکروسکوپی موارد فوق پس از بازبینی توسط دو نفر متخصص آسیب‌شناسی، مورد تایید تشخیصی بافت‌شناختی قرار گرفتند و اسلاید مناسب جهت رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی انتخاب شد.

بلوک‌های پارافینی به ضخامت ۴μm برش داده شد. از روش ایمنوپراکسیداز استرپتاویدین- بیوتین استفاده گردید. ابتدا برشها پارافین‌گیری و آب‌دهی و سپس با محلول پراکسید هیدروژن ۳٪ انکوبه شدند. بازیابی آنتی‌ژنی توسط محلول بافر سیترات ۱٪ مولار با pH=۶ برای مدت ۲۰ دقیقه در مایکرو ویو انجام شد.

در مرحله بعد، برشها جداگانه با سه آنتی‌بادی با مشخصات زیر، در درجه حرارت ۳۷°C برای ۶۰ دقیقه انکوبه شدند.

- Ki 67 Rabbit Anti-Human MIB-1, Ki-67 Code: N1574 DAKO
- Monoclonal Mouse Antihuman Estrogen, Code: N1575, Clone: 1D5
- Monoclonal Mouse Antihuman Progestrone, Code: N1630, Clone: PgR636

در مرحله بعد از ترکیب استرپتاویدین- پراکسیداز* استفاده گردید.

وجود پراکسیداز با کروموژن دی امینوبنزیدین تتراهیدروکلراید (DAB) نشان داده شد. رنگ‌آمیزی زمینه‌ای هماتوکسیلین مایر در روی اسلایدها به کار رفت و پس از دهیدراته کردن، لامل چسبانده شد.

از گره لنفی با هیپرپلازی فولیکولر به عنوان شاهد مثبت Ki 67 و از غدد بافت طبیعی پستانی به عنوان شاهد مثبت ER و PR استفاده شد؛ برای شاهد منفی، آنتی‌بادی MIB-1 و آنتی PR و آنتی ER در مراحل رنگ‌آمیزی حذف گردید.

اسلایدهای میکروسکوپی پس از تطابق با برشهای اولیه، توسط دو نفر متخصص آسیب‌شناسی که نوع سرطان برای آنها مشخص نبود، بررسی و تفسیر شدند.

در بررسی اسلایدهای تهیه شده با روش ایمنوهیستوشیمی با نشانگرهای ER و PR، روش H-score به کار رفت؛ بدین ترتیب که در ۱۰۰ سلول تومورال مورد مشاهده، تعداد سلول مثبت (صفر تا ۱۰۰) مشخص گردید و بر اساس شدت رنگ‌پذیری به هر کدام از صفر تا ۳+ نمره داده شد و نمره کل (حداقل صفر و حداکثر ۳۰۰) گزارش گردید. در مورد نشانگر Ki 67 نیز درصد سلول‌های مثبت (از صفر تا ۱۰۰) شمارش و گزارش گردید.

از آنجا که روش ایمنوهیستوشیمی یک فرایند تشخیصی چند مرحله‌ای است که باید انتخاب بافت، ثبوت بافتی، پاساژ و رنگ‌آمیزی مناسب داشته باشد، سعی شد تا حد امکان، اسلاید مناسب جهت رنگ‌آمیزی انتخاب و کنترل دقیق مراحل بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شود تا از نتایج مثبت و منفی کاذب پیشگیری گردد؛ با توجه به این که تجربه متخصص آسیب‌شناسی در تفسیر اسلایدها بر اساس وجود، طرح و شدت رنگ‌پذیری در نتیجه واکنش آنتی‌ژن و آنتی‌بادی اختصاصی در سلول‌های تومورال شرط لازم و اساسی است، تفسیر اسلایدها توسط دو نفر متخصص آسیب‌شناسی انجام شد تا خطای دید احتمالی به حداقل برسد.

بهترین روش پذیرفته‌شده در مورد درجه بدخیمی† روش مدیفیه Richardson –Scarff- Bloom می‌باشد (۱۲) که در مطالعه حاضر از این روش استفاده شد.

با توجه به حجم نمونه مورد مطالعه، از آنجا که توزیع سرطان پستان در انواع توبولار، مدولاری، لوبولار و پاپیلری بسیار کم بوده است، تحلیل‌های آماری تنها به سرطان پستان از نوع داکتال محدود و در مورد سایر انواع به بیان توصیفی نتایج اکتفا شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمونهای آماری ANOVA و ضریب همبستگی Spearman در سطح معنی‌داری $P\leq ۰/۰۵$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

از ۵۰ نمونه، ۴۰ مورد سرطان نوع داکتال، ۵ مورد لوبولار، ۳ مورد مدولاری، ۱ مورد توبولار و ۱ مورد پاپیلری بود.

در سرطان نوع داکتال مهاجم، حداقل سن بیماران ۳۳ و حداکثر ۷۷ و میانگین سنی آنان ۴۶/۱۳ بود. ۷ مورد (۱۷/۵٪) درجه I، ۲۴ مورد (۶۰٪) درجه II و ۹ مورد (۲۲/۵٪) درجه III بودند. نسبت گره‌های لنفاوی در گیر به کل گره‌های لنفاوی برداشت شده، حداقل صفر، حداکثر ۱ با میانگین ۰/۶۳

* DAKO LSAB R 2 System Peroxidase Kit, Denmark

† Histologic Grading

بود و میزان ابتلای گره لنفی در درجه I، ۰/۵۵، در درجه II ۰/۵۸ و در درجه III ۰/۸۱ بود.

– در سرطان نوع داکتال، میزان Ki 67 حداقل صفر و حداکثر ۸۰ با میانگین ۲۴/۲۵±۲۰/۸۳ بود. میزان ER (H-Score) حداقل صفر و حداکثر ۲۸۰ با میانگین ۸۹/۶۲±۱۱۲/۶۳ و میزان PR حداقل صفر و حداکثر ۲۸۰ با میانگین ۵۹/۰۰±۱۰۰/۶۹ بود (جدول ۱).

در افراد مبتلا به سرطان پستان از نوع داکتال، ضریب همبستگی Spearman، بین بروز Ki-67 و PR رابطه معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۵، r=۰/۳۰)؛ اما بین Ki 67 و ER رابطهٔ معنی‌داری حاصل نشد؛ همچنین بین بروز ER و PR رابطه معنی‌داری وجود داشت (P=۰/۰۰، r=۰/۷۲).

طبق آزمون ANOVA، میزان Ki 67 (P=۰/۰۱، F=۲/۸۶) و PR در سه درجه مختلف سرطان داکتال پستان تفاوت معنی‌داری داشتند (P=۰/۰۱، F=۴/۵۷)؛ اما میزان ER در سه درجه مختلف تفاوت معنی‌داری نشان نداد (P=۰/۵۴).

– در سرطان لوبولار حداقل سن بیماران ۳۵، حداکثر ۴۷ و میانگین سنی آنان ۴۲/۵±۴/۸۸ بود (جدول ۲).

میزان Ki 67 حداقل صفر و حداکثر ۱۰۰ با میانگین ۲۲±۴۳/۶۷ بود.

میزان ER و PR حداقل صفر و حداکثر ۱۰۰ و به ترتیب با میانگین ۱۶۴±۱۵۰/۴۳ و ۱۱۴±۱۵۶/۱۴ بود.

– در سرطان مدولاری حداقل سن بیماران ۴۲، حداکثر ۵۷ و میانگین سنی آنان ۴۹±۷/۵۵ بود.

حداقل Ki 67 صفر و حداکثر ۳۰ با میانگین۲۰±۱۷/۳۲ بود. حداقل ER صفر و حداکثر ۵ با میانگین ۱۶/۷±۲/۸۹ بود.

میزان PR در هر سه مورد صفر بود (جدول ۳).

– در سرطان توبولار، سن بیمار ۴۲ سال و میزان Ki 67، ER و PR به ترتیب ۵، ۲۸۰ و ۲۸۰ بود.

– در سرطان پاپیلری، سن بیمار ۳۸ سال و میزان Ki 67، ER و PR به ترتیب ۵، صفر و صفر بود.

جدول ۱- آمار توصیفی متغیرهای سرطان نوع داکتال

متغیر	حداقل	حداکثر	میانگین و انحراف معیار
سن	۳۳	۷۷	۴۶/۱۳±۹/۸۸
Ki-67	۰	۸۰	۲۴/۲۵±۲۰/۸۳
استروژن	۰	۲۸۰	۸۹/۶۲±۱۱۲/۶۳
پروژسترون	۰	۲۸۰	۵۹/۰۰±۱۰۰/۶۹
نسبت درگیری گره لنفی	۰	۱	۰/۶۳±۰/۳۱

جدول ۲- آمار توصیفی در سرطان لوبولار

متغیر	حداقل	حداکثر	میانگین و انحراف معیار
سن	۳۵	۴۷	۴۲/۵±۴/۸۸
Ki-67	۰	۱۰۰	۲۲±۴۳/۶۷
استروژن	۰	۱۰۰	۱۶۴±۱۵۰/۴۳
پروژسترون	۰	۱۰۰	۱۱۴±۱۵۶/۱۴

جدول ۳- آمار توصیفی در سرطان مدولاری

متغیر	حداقل	حداکثر	میانگین و انحراف معیار
سن	۴۲	۵۷	۴۹±۷/۵۵
Ki-67	۰	۳۰	۲۰±۱۷/۳۲
استروژن	۰	۵	۱۶/۷±۲/۸۹
پروژسترون	۰	۰	۰

بحث

بررسی صحیح و دقیق هیستوپاتولوژی سرطان پستان و نوع بافت‌شناختی ضایعه، نقش مهمّی را در ارزیابی عاقبت و انتخاب نوع درمان بیماران ایفا می‌کند (۱۴،۱۳).

شاخصهای پیشگویی‌کننده مولکولار که نقش مهمّی در انتخاب روش درمانی سرطان پستان دارند، گیرنده‌های هورمونی، انکوژن‌ها، مولکول‌های چسبندگی مولکولی و عوامل پرولیفراتیو سلولی و محتوی DNA تومورهای پستان می‌باشند (۱۵–۱۷).

بروز گیرنده‌های هورمونی (استروژن و پروژسترون) در سرطان پستان، ارتباط خوبی با پاسخ به هورمون درمانی و شیمی درمانی نشان داده است. امروزه ایمنوهیستوشیمی جایگزین روشهای قدیمی* برای بررسی این گیرنده‌ها شده

* Sucrose Gradient Assay و Dextran-Coated Charcoal

است. با وجود کیفی‌بودن نتایج ایمنوهیستوشیمی، تلاشهایی برای گزارش نیمه کمّی آن صورت گرفته که میزان نمره به درصد سلول‌های مثبت و شدت رنگ‌پذیری بستگی دارد (۱۹،۱۸).

با توجه به نحوه گزارش‌دهی ممکن است نتایج ایمنوهیستوشیمی عددهای مختلف را نشان دهد؛ به عنوان مثال میزان (درصد) سلول‌های ER و PR در سرطان پستان به ترتیب در مطالعه Stierer و همکاران (۱۸)، ۸۰/۶٪ و ۶۱/۳٪، در مطالعه Angelidou و همکاران (۲۰)، ۵۰٪ و ۴۲٪، در مطالعه تابعی و اشرف، (۲۱)، در سن زیر ۵۰ سال ۴۶٪ و ۴۱٪ و در سن بالای ۵۰ سال ۴۸٪ و ۴۴٪، در مطالعه مکاریان و همکاران (۲۲)، درصد ER در ۹۴/۴٪ در سرطان داکتال مهاجم پستان و PR در ۲۷ مورد از ۵۰ بیمار (۵۴٪) مثبت گزارش شده است.

در مطالعه Thike و همکاران، با استفاده از روش نیمه‌کمّی H- Score، نمره بالای ۵۰ مثبت تلقی شد و در نتیجه آنها ER و PR را به ترتیب در ۶۵٪ و ۳۵٪ بیماران مشاهده کردند؛ همچنین ۳۴٪ بیماران برای هر دو نشانگر مثبت و به همین تعداد برای هر دو نشانگر منفی بودند (۲۳).

در این مورد که چه نمره‌ای از H- Score را می‌توان به عنوان مثبت تلقی کرد نیز توافق کلی وجود ندارد؛ به طوری که این نمره در مطالعه Thike و همکاران (۲۳) ۵۰ و در مطالعه Kenny و همکاران (۲۴) ۱۰ در نظر گرفته شده است.

در نظر گرفتن یک حدّ، برای تلقی نمونه مثبت و یا منفی اهمیت دارد. Ogawa و همکاران، پس از پیگیری بیماران تا ۳۸ ماه، توصیه کردند که رنگ‌پذیری بیش از ۱۰٪ سلول‌ها برای نشانگر ER و PR مثبت تلقی شود (۲۵).

در مطالعه حاضر نیز بیشتر تأکید بر H- Score بود؛ اما با توجه به مطالب فوق اگر رنگ‌پذیری بیش از ۱۰٪ به عنوان ER و PR مثبت تلقی شود، در مطالعه حاضر، میزان این دو نشانگر به ترتیب ۵۵٪ و ۴۲/۵٪، میزان بروز هر دو نشانگر با هم ۳۷/۵٪ و عدم بروز هر دو نشانگر با هم ۴۰٪ بود.

با توجه به مطالب یاد شده، اگرچه بروز گیرنده‌های استروئیدی ممکن است در هر منطقه بسته به نژاد، تفاوتهایی داشته باشد ولی به نظر می رسد استاندارد کردن روش مطالعه از اهمیت بیشتری برخوردار است.

ارتباط نزدیکی بین نوع بافت‌شناختی سرطان‌های پستان و میزان بروز گیرنده‌های هورمونی (ER, PR) وجود دارد؛ به طوری که اغلب سرطان داکتال نوع کومدو و مدولری کمترین میزان بروز گیرنده‌های هورمونی و سرطان موسینوز بیشترین میزان را از خود نشان می‌دهد (۱۸)؛ در مطالعه حاضر نیز میزان بروز ER و PR در نوع مدولری بسیار ناچیز بود.

با استفاده از نشانگر Ki 67 که آنتی‌ژنی در ارتباط با پروتئین هیستون هسته‌ای است و در مرحله پرولیفراتیو ظاهر می‌شود، می‌توان پرولیفراسیون سلولی را بررسی کرد. آنتی‌بادی اولیه ساخته شده برای شناسایی آن فقط در برشهای منجمد (Frozen) قابل استفاده بود؛ اما امروزه آنتی‌بادی‌های مونوکلونال مقاوم به فرمالین (MIB- 3, MIB-1) نیز در بازار وجود دارند (۲۶).

در مطالعه Tan و همکاران، ایمنوراکتیویتی کم برای برای واکنش کمتر از ۱۰٪ (سلول‌ها) و ایمنوراکتیویتی بالا برای برای واکنش بیش از ۱۰٪ تعریف شد و بر این اساس ۴۳٪ نمونه‌ها (سرطان پستان) ایمنوراکتیویتی بالا، ۲۸/۵٪ ایمنوراکتیویتی کم و ۲۸/۵٪ عدم ایمنوراکتیویتی داشتند؛ این محققان گزارش کردند که افزایش Ki 67 با درجه بافت‌شناختی بالا و افزایش میتوز ارتباط دارد (۲۷). در مطالعه حاضر نیز ارتباط Ki 67 با درجه بافت‌شناختی بالا مشاهده شد؛ همچنین در مطالعه Mylonas و همکاران ایمنوراکتیویتی ۶۴٪ برای Ki- 67 در سرطان نوع داکتال انوازیو گزارش شد (۲۸).

در مطالعه El All و همکاران (۲۹) ایمنوراکتیویتی Ki 67 در سرطان نوع داکتال انوازیو ۱۲/۳±۱۷/۷ و در مطالعه Barbareschi و همکاران (۳۰) ایمنوراکتیویتی

MIB1 در برشهای منجمد ۱۱/۹±۲۱/۲ و در برشهای انجام شده بر روی بلوک‌های پارافینی ۱۵/۲±۲۴/۰ گزارش شد که با یافته مطالعه حاضر (۲۴/۲۵) تقریباً همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری

امروزه ایمنوهیستوشیمی نقش تأثیرگذاری در تشخیص، درمان و تعیین پیش‌آگهی سرطان پستان دارد؛ بنابراین علاوه بر دقت در روش، دقت در تفسیر نیز اهمیت شایانی دارد. پراکندگی در نتایج ER و PR مؤید به کارگیری معیارهای گوناگون است؛ بنابراین استانداردکردن گزارش‌دهی ER و PR امری ضروری است؛ بر همین اساس توصیه می‌گردد با پیگیری بیماران، بررسی و مرور مجدّد لام‌های ایمنوهیستوشیمی حدّ و مرز دقیق ER و PR مثبت و بهترین سیستم گزارش‌دهی مشخص گردد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه به صورت یک طرح تحقیقاتی (شماره ۵/۲۰۱۰، ۱۳۸۲/۵/۵) و با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به انجام رسید؛ نویسندگان مقاله، مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را از حوزه معاونت پژوهشی و نیز شورای پژوهشی دانشگاه اعلام می‌دارند.

منابع:

1- Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and cotran pathologic basis of disease. 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2005. p: 1129

۲- اصفهانی ف. سرطان پستان و وضعیت آن در ایران. کتابچه خلاصه مقالات چهارمین همایش هماتولوژی و انکولوژی ایران. مشهد. تیرماه ۱۳۸۳ صفحه ۱

3- Trihia H, Murray S, Price K, Gelber RD, Golouh R, Goldhirsch A, et al. International Breast Cancer Study Group. Ki 67 expression in breast carcinoma: its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors--a surrogate marker? Cancer. 2003; 97 (5): 1321-31.

4- Tsutsui S, Ohno S, Murakami S, Kataoka A, Kinoshita J, Hachitanda Y. Histological classification of invasive ductal carcinoma and the biological parameters in breast cancer. Breast Cancer. 2003; 10 (2): 149-52.

5- Spyratos F, Ferrero-Pous M, Trassard M, Hacene K, Phillips E, Tubiana-Hulin M, et al. Correlation between MIB-1 and other proliferation markers: clinical implications of the MIB-1 cutoff value. Cancer. 2002 Apr 15;94(8):2151-9.

6- Fisher ER. Prognostic and therapeutic significance of pathological features of breast cancer. NCI Monogr. 1986; (1): 29-34.

7- Foekens JA, Rio MC, Seguin P, van Putten WL, Fauque J, Nap M, et al. Prediction of relapse and survival in breast cancer patients by pS2 protein status. Cancer Res. 1990; 50 (13):3832-37.

8- McGuire WL, Tandon AK, Allred DC, Chamness GC, Clark GM. How to use prognostic factors in axillary node-negative breast cancer patients. J Natl Cancer Inst. 1990; 82 (12):1006-15.

9- Fisher ER. The impact of pathology on the biologic, diagnostic, prognostic, and therapeutic considerations in breast cancer. Surg Clin North Am. 1984; 64 (6): 1073-93.

10- Rosen PP, Kosloff C, Lieberman PH, Adair F, Braun DW Jr. Lobular carcinoma in situ of the breast. Detailed analysis of 99 patients with average follow-up of 24 years. Am J Surg Pathol. 1978; 2 (3): 225-51.

11- Simpson JF, Dutt PL, Page DL. Expression of mitoses per thousand cells and cell density in breast carcinomas: a proposal. Hum Pathol. 1992; 23 (6): 608-11.

12- Frierson HF Jr, Wolber RA, Berean KW, Franquemont DW, Gaffey MJ, Boyd JC, et al. Interobserver reproducibility of the Nottingham modification of the Bloom and Richardson histologic grading scheme for infiltrating ductal carcinoma. Am J Clin Pathol. 1995; 103 (2): 195-98.

13- Bloom HJC, Richardson WW, Fields JR. Host resistance and survival carcinoma of the breast: a study of 104 cases of medullary carcinoma in a series of 1411 cases of brest cancer followed for 20 years. Br Med J. 1970;. 3: 181-88.

14- Domagala W, Markiewski M, Kubiak R, Bartkowiak J, Osborn M. Immunohistochemical profile of invasive lobular carcinoma of the breast: predominantly vimentin and p53 protein negative, cathepsin D and oestrogen receptor positive. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1993; 423 (6): 497-502.

15- Lovekin C, Ellis IO, Locker A, Robertson JF, Bell J, Nicholson R, et al. c-erbB-2 oncoprotein expression in primary and advanced breast cancer. Br J Cancer. 1991; 63 (3): 439-43.

16- Bozhok AA, Semiglazov VF, Semiglazov VV, Arzumanov AS, Klettsel' AE. Prognostic and predictive factors in breast cancer: Vopr Onkol. 2005; 51(4): 434-43.

17- Spiethoff A, Schenck A, Bohrer M. Relationship of DNA ploidy to hormone receptor status and proliferation in invasive breast carcinoma. J Cancer Res Clin Oncol. 2000; 126 (12): 707-10.

18- Rosai J. Rosai and ackerman's surgical pathology. 9th ed. St.Louis: Mosby; 2004. p: 349.

19- Stierer M, Rosen H, Weber R, Hanak H, Spona J, Tuchler H. Immunohistochemical and biochemical measurement of estrogen and progesterone receptors in primary breast cancer. Correlation of histopathology and prognostic factors. Ann Surg. 1993; 218 (1): 13-21.

20- Angelidou E, Politi E, Sotiropoulou G, Poulianou E, Koutselini H. Evaluation of ER, PR, MIB-1, pS2, and nuclear grade in FNA specimens of cT1 breast carcinomas: clinicopathological correlation. Diagn Cytopathol. 2006; 34 (8): 547-52.

۲۱- تابعی س ض، اشرف م ج. گیرنده‌های استروژن و پروژسترون در سرطان سینه در ۱۴۰ نمونه سرطان سینه. مجله غدد درون ریز و متابولیسم ایران، ۱۳۷۹؛ دوره ۲ (شماره ۵): ۵-۹.

۲۲- مکاریان ف، درگاهی م، رجبی پ، حکمتی مقدم س ح. فراوانی رسپتور استروژن و رسپتور پروژسترون در سلول‌های سرطان پستان و تیتر سرمی CEA و PSA این بیماران. مجله دانشگاه علوم پزشکی اصفهان (پژوهش در علوم پزشکی). ۱۳۷۷؛ دوره ۳ (شماره ۴): ۳۰۰-۳۰۴.

23- Thike AA, Chng MJ, Fook-Chong S, Tan PH. Immunohistochemical expression of hormone receptors in invasive breast carcinoma: correlation of results of H-score with pathological parameters. Pathology. 2001; 33 (1): 21-25.

24- Kenny FS, Willsher PC, Gee JM, Nicholson R, Pinder SE, Ellis IO, et al. Change in expression of ER, bcl-2 and MIB1 on primary tamoxifen and relation to response in ER positive breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2001; 65(2):135-44.

25- Ogawa Y, Moriya T, Kato Y, Oguma M, Ikeda K, Takashima T, et al. Immunohistochemical assessment for estrogen receptor and progesterone receptor status in breast cancer: analysis for a cut-off point as the predictor for endocrine therapy. Breast Cancer. 2004;11(3):267-75.

26- Cattoretti G, Becker MH, Key G, Duchrow M, Schluter C, Galle J, et al. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. J Pathol. 1992; 168 (4): 357-63.

27- Tan PH, Bay BH, Yip G, Selvarajan S, Tan P, Wu J, et al. Immunohistochemical detection of Ki-67 in breast cancer correlates with transcriptional regulation of genes related to apoptosis and cell death. Mod Pathol. 2005; 18 (3): 374-81.

28- Mylonas I, Makovitzky J, Jeschke U, Briese V, Friese K, Gerber B. Expression of Her2/neu, steroid receptors (ER and PR), Ki67 and p53 in invasive mammary ductal carcinoma associated with ductal carcinoma In Situ (DCIS) Versus invasive breast cancer alone. Anticancer Res. 2005; 25 (3A): 1719-23.

29- El All HA, Ismail E, Abbas M, Ouf K. MIB-1 index, S-phase fraction, mitotic figure count, and SBR histologic grading in invasive breast carcinoma: a comparative study. Breast J. 2001; 7 (2): 106-10.

30- Barbareschi M, Girlando S, Mauri FM, Forti S, Eccher C, Mauri FA, et al. Quantitative growth fraction evaluation with MIB1 and Ki-67 antibodies in breast carcinomas. Am J Clin Pathol. 1994; 102 (2): 171-5.

Immunohistochemical study of cell proliferation marker (Ki-67), estrogen, and progesterone receptors expression in breast carcinoma

N. Sharifi-Systani[1], MH. Sadeghian[2], F. Homaei[3], F. Haghighi[4]

Abstract

Background and Aim: Breast carcinoma is a pervasive malignancy in the world, and in our country-Iran-as well. Extensive studies have been done on its diagnostic and therapeutic procedures; and factors affecting its prognosis. The present study aimed at determining proliferative rate of cells, the condition of steroid hormone receptors, correlation of these with each other ;and with other factors such as age ,lymph nodes involvement, and tumoral grade in breast carcinoma.

Materials and Methods: This analytical and applied study was carried out in the pathology laboratory of Ghaem hospital -affiliated to Mashhad University of Medical Sciences- in 2004. Fifty cases of breast carcinoma, confirmed through histopathology, were selected. After checking microscopic slides and preparing suitable sections, specific staining through immunohistochemical procedure with estrogen (ER), progesteron (PR) markers, and Ki-67 was done. Then the slides were examined by two pathologists to determine immunoreactivity of tumoral cells by means of H-score system for ER and PR, the percent of tumoral cells for Ki- 67, and then the results were reported. The obtained data was analysed at the significant level $P \leq 0.05$ applying ANOVA and Spearman correlation coefficient statistical tests.

Results: Ki-67, ER and PR expression in patients with invasive ductal carcinoma were 24.25%, 89.62 and 59 respectively. Between Ki-67 and ER no relationship was found. But there was a significant correlation between Ki-67 and PR (P=0.05). Also, there was a significant correlation between the incidence of ER and PR (P=0.00). Ki-67 expression in the three grades of invasive ductal breast carcinoma revealed distinct and meaningful difference (P=0.01). Among rare types of breast carcinomas, the most expression of Ki-67, PR and ER was observed in invasive lobular carcinoma and the least in papillary and medulary carcinomas.

Conclusion: Immunohistochemistry is very important in the prognosis and treatment of breast carcinoma. Thus proper procedures, standardization of ER and PR is necessary.

Key Words: Breast carcinoma; Immunohistochemistry; Steroid receptors; Proliferative marker; Ki 67

[1] Corresponding Author; Assistant Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences. Mashhad, Iran. n-sharifi@mums.ac.ir
[2] Assistant Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences. Mashhad, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Oncology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences. Mashhad, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences. Birjand, Iran