

بررسی رابطه بیان انکوپروتئین BCL-2 با برخی عوامل موثر در تعیین پیش آگهی بیماران سرطان پاپیلری تیروئید

نویسندگان: محمدرضا جلالی ندوشن*^۱، محمدمهدی گوهری کامل^۲
۱. استاد گروه پاتولوژی و علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲. دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

E-mail: Jalali@shahed.ac.ir

*نویسنده مسئول: محمدرضا جلالی ندوشن

چکیده

مقدمه و هدف: کارسینوم پاپیلاری (PTC) شایعترین نوع سرطان تیروئید می باشد. BCL-2 یک پروتئین مهارکننده آپوپتوز است که بروز آن در کارسینوم پاپیلاری افزایش می یابد و همراه با سایر عوامل انکوژن در پاتوژنز کارسینوم پاپیلاری نقش دارد هدف این مطالعه بررسی رابطه بیان انکوپروتئین BCL-2 با برخی عوامل موثر در تعیین پیش آگهی بیماران سرطان پاپیلری تیروئید می باشد.

مواد و روش ها: این پژوهش مقطعی بر روی ۸۵ نمونه بیماران مبتلا به سرطان پاپیلاری، که توسط تیروئیدکتومی به دست آمده بودند، انجام گرفت. اطلاعات مربوط به سن، جنس و معاینات بیماران از جمله درگیری گره های لنفاوی و اندازه تومور، از پرونده بیماران گردآوری شد. پس از تهیه لام و رنگ آمیزی، تهاجم کپسولی در نمونه ها بررسی و برای بیان انکوپروتئین BCL-2 از روش ایمنو هیستوشیمی (IHC) استفاده شد.

نتایج: میانگین سنی بیماران (۷۵ نفر زن و ۱۰ نفر مرد) $40/8 \pm 16/4$ سال بود. میانگین اندازه تومورها $3/7 \pm 2/2$ سانتی متر بود. در ۱۱ نمونه (۱۲/۹٪) تهاجم کپسولی مثبت و در ۷۴ نمونه (۸۷/۱٪) تهاجم کپسولی منفی بود. در ۱۹ نمونه درگیری غدد لنفاوی مثبت و در ۶۶ نمونه منفی بود. ۷۱ نمونه (۸۳/۵٪) BCL-2 مثبت و ۱۴ نمونه (۱۶/۵٪) BCL-2 منفی بودند. بیان زن BCL-2 با درگیری گره های لنفی و تهاجم کپسولی رابطه معنی داری نداشت ($P > 0/05$). میان بیان BCL-2 و اندازه تومور با ($P < 0/05$) و ($P = 0/000$) رابطه معنی داری وجود داشت و با مثبت شدن BCL-2، اندازه تومور افزایش یافت.

نتیجه گیری: بیان BCL-2 در کانسر پاپیلاری میزان بالایی می باشد و با اندازه تومور ارتباط معناداری دارد. درگیری گره های لنفی و تهاجم کپسولی ارتباطی با بیان BCL-2 ندارند.

واژگان کلیدی: کارسینوم پاپیلاری تیروئید، اندازه تومور، تهاجم کپسولی، درگیری غدد لنفاوی، بیان BCL-2

دوماهنامه علمی - پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست و چهارم - شماره ۱۲۸
اردیبهشت ۱۳۹۶

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۳۰

آخرین اصلاح ها: ۱۳۹۶/۰۱/۱۴

پذیرش: ۱۳۹۶/۰۱/۱۹

مقدمه

شده بر روی این انکوپروتئین، مشخص شده است که میزان بروز آن در میکروکارسینوم‌های پاپیلاری تیروئید در مقایسه با سلول‌های طبیعی تیروئید کاهش یافته است. این یافته می‌تواند یک علامت زودرس و دلیلی برای پیش‌آگهی بهتر میکروکارسینوم‌ها باشد، با این وجود این انکوپروتئین هنوز به عنوان یک مارکر موثر در تعیین پیش‌آگهی مورد استفاده قرار نمی‌گیرد (۹).

در این پژوهش تلاش می‌گردد تا رابطه بیان انکوپروتئین BCL-2 با فاکتورهایی همچون اندازه تومور، تهاجم کپسولی و درگیری گره‌های لنفاوی در سرطان پاپیلاری تیروئید به عنوان اصلی‌ترین عوامل تعیین کننده پیش‌آگهی مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش مقطعی بر روی ۸۵ نمونه بیماران مبتلا به سرطان پاپیلاری بخش پاتولوژی بیمارستان شهید مصطفی خمینی که توسط تیروئیدکتومی به دست آمده بودند، انجام گرفت. نمونه‌ها به روش غیر انتخابی (در دسترس) انتخاب شدند. معیارهای ورود شامل بیماران مبتلا به کارسینوم پاپیلاری تیروئید با تشخیص قطعی که در ۳ سال گذشته به این مرکز مراجعه نموده‌اند و پرونده آنها جهت بررسی کامل و موجود باشد. اطلاعات مربوط به سن، جنس و معاینات بیماران از جمله درگیری گره‌های لنفاوی و اندازه تومور، از پرونده بیماران گردآوری شد. از نمونه‌ها لام تهیه و رنگ‌آمیزی شد و با استفاده از میکروسکوپ نوری تهاجم کپسولی در نمونه‌ها بررسی شد. برای تعیین بیان شدن و یا بیان نشدن اونکوپروتئین BCL-2 در هر نمونه بافتی، از روش ایمونوهیستوشیمی (IHC) استفاده شد. در پایان، لام حاصل با میکروسکوپ مدل Zeiss در بزرگنمایی $40\times$ ، به منظور تعیین وجود اونکوپروتئین BCL-2، زیر نظر یک متخصص آسیب‌شناس مجرب مشاهده گردید. نتایج با کمک نرم‌افزار آماری SPSS نسخه شماره ۱۶ و سایر آزمون‌های Chi-Square، Fischer's Exacttest و Ttest و سایر

سرطان غده تیروئید شایعترین سرطان سیستم اندوکرین می‌باشد و $76/1$ درصد از کل سرطان‌های غدد درون‌ریز را به خود اختصاص داده است (۱). شیوع این سرطان در زنان دو برابر مردان است (۲). سرطان پاپیلاری با شیوع $75-85$ درصد از کل بدخیمی‌های غده تیروئید، شایعترین سرطان این غده می‌باشد (۳). سرطان پاپیلاری در هر سنی می‌تواند رخ دهد ولی میانگین سنی افراد در هنگام تشخیص بیماری 30 تا 40 سال است (۲). این سرطان بهترین پیش‌آگهی را در بین سرطان‌های تیروئید دارد و بیشتر بیماران یوتیروئید هستند، به عبارت دیگر این تومور بدون عملکرد و تغییرات هورمونی است (۴). سرطان پاپیلاری گرایش به تهاجم موضعی در درون تیروئید و ساختارهای مجاور غده در گردن دارد. همچنین گرایش به گسترش لنفاوی و متاستاز خونی به ریه، استخوان، کبد و مغز دارد (۵). از فاکتورهای مرتبط با پیش‌آگهی سرطان پاپیلاری می‌توان به سن و جنس بیمار، گسترش خارج تیروئیدی تومور، سایز تومور، وجود کانون‌های به خوبی تمایز نیافته اسکواموس یا آناپلاستیک، درجه‌بندی تومور^۱، وجود موتاسیون BRAF^۲، چند کانونی بودن تومور، وجود متاستازهای دور دست، گسترش تومور به کپسول غده، موقعیت حاشیه تومور، حضور سلول‌های تومورال در گردش و DNAploidy اشاره نمود (۵).

یکی از انکوپروتئین‌هایی که نقش آن در پیش‌آگهی سرطان پاپیلاری تیروئید مورد بررسی قرار گرفته است، انکوپروتئین BCL-2 می‌باشد (۲۲). BCL-2 یک پروتئین مهارکننده آپوپتوز است که در غشا هسته، میتوکندری و رتیکیلوم اندوپلاسمیک قرار دارد (۶). ژن BCL-2 هم در سلول‌های طبیعی و هم در سلول‌های نئوپلاستیک بافت تیروئید وجود دارد (۷). افزایش بروز این پروتئین در سلول‌های کارسینوم تیروئید، مشارکت آن با سایر عوامل ضدسرطان را نشان می‌دهد (۸). در بررسی‌های انجام

¹. Grading

². B Rapidly Accelerated Fibrosarcoma

آزمون‌های مرتبط تجزیه و تحلیل انجام شدند.

نتایج

در این پژوهش ۸۵ بیمار شامل ۷۵ نفر زن (۸۸/۲٪) و ۱۰ نفر مرد (۱۱/۸٪) شرکت داشتند. میانگین سنی بیماران $40/8 \pm 16/4$ سال بود. براساس اندازه‌گیری‌ها، میانگین اندازه تومورها $3/7 \pm 2/2$ سانتی‌متر بود. در ۱۱ نمونه تهاجم کپسولی مثبت (۱۲/۹٪) و در ۷۴ نمونه تهاجم کپسولی منفی (۸۷/۱٪) بود. در ۱۹ نفر درگیری غدد لنفاوی مثبت (۲۲/۴٪) و در ۶۶ نمونه منفی (۷۷/۶٪) بودند. ۷۱ نمونه BCL2 مثبت (۸۳/۵٪) و ۱۴ نمونه BCL2 منفی (۱۶/۵٪) بودند.

با به کارگیری آزمون آماری Fisher's Exact Test میان بیان زن BCL2 و درگیری گره‌های لنفی رابطه معنی‌داری دیده نشد ($p=0/505$). میان بیان BCL2 و تهاجم کپسولی نیز رابطه معنی‌داری دیده نشد ($P=0/078$). میانگین اندازه تومور در نمونه‌های BCL2 مثبت $3/34 \pm 2/1$ سانتی‌متر و میانگین اندازه تومور در نمونه‌های BCL2 منفی $5/67 \pm 1/6$ سانتی‌متر بود. با به کارگیری آزمون آماری T test میان بیان BCL2 و اندازه تومور، رابطه معنی‌داری وجود داشت ($P=0/000$) و با مثبت شدن BCL2، اندازه تومور افزایش یافت.

بحث

فراوانی بروز انکوپروتئین BCL-2 در این مطالعه ۸۳/۵ درصد بوده است که میزان قابل توجهی می باشد و مشابه مطالعه دیتس (۷۵/۵ درصد) است (۱۰). میانگین سنی در مطالعه حاضر $40/8 \pm 16/4$ سال بود که تقریباً مطابق میانگین جهانی بین سنین ۳۰ تا ۴۰ سال می‌باشد (۱۱). در مطالعه استایسی نیز میانگین سنی افراد مبتلا نزدیک به مطالعه حاضر (45 ± 5 سال) بوده است (۱۲). هر چند در مطالعه سیرونن ذکر شده است که بین بیان BCL-2 و افزایش سن ابتلا رابطه ای دیده نشده است (۱۴).

در بررسی‌های انجام شده در مطالعه ما اندازه تومور

و بیان BCL-2 ارتباط معنی‌دار داشته‌اند. در مطالعه سیرونن ذکر شده که سایز تومور با بیان P21 ارتباط دارد و گزارشی در مورد ارتباط اندازه و BCL-2 بیان نشده است (۱۳) در حالی که این تفاوت می‌تواند به این علت باشد که در مطالعه سیرونن ژن‌های Ki-67، BCL-2 و P21 بررسی شده است و در مطالعه ما تنها بیان BCL-2 مد نظر بوده است.

در مطالعه حاضر بین بیان BCL-2 و افزایش تهاجم سلولی رابطه معنی‌دار دیده نشده است و بیان BCL-2 باعث افزایش تهاجم سلولی نمی‌شود. در مطالعه مانه تو بیان شد که در سلولهای سرطانی که تنها بروز BCL-2 را داشتند حاشیه توموری پاک و تمایز سلولی خوب گزارش شده است (۱۴).

در مطالعه آکسوی نشان داد که از BCL-2 نمی‌توان به عنوان مارکر پیش‌گویی کننده پیش‌آگهی استفاده کرد هرچند در میکروکارسینوم‌های پایلاری که پیش‌آگهی بهتر داشتند بیان BCL-2 کاهش داشته است ولی از نظر ارتباط مثبت شدن بیان BCL-2 و نمره MACIS که در پیش‌آگهی تومور کاربرد دارد رابطه معنی‌دار نبوده است (۱۵). در مطالعه ما نیز به علت اینکه بین بیان این ژن و درگیری غدد لنفاوی و تهاجم کپسولی که از عوامل مهم در تعیین پیش‌آگهی هستند، ارتباط معنی‌دار دیده نشد، به نظر می‌رسد که BCL-2 نمی‌تواند عامل تعیین‌کننده‌ای در پیش‌آگهی سرطان پایلاری تیروئید باشد. از طرفی در مطالعه حاضر اندازه تومور با بیان این ژن رابطه معنی‌دار داشته است، که هر چند در پیش‌آگهی موثر است اما تنها فاکتور تاثیر گذار نمی‌باشد. در مطالعه دیتس نیز ارتباط معنی‌داری بین BCL-2 و وضعیت بالینی بیمار دیده نشد (۱۰) که با مطالعه ما مشابهت داشته است.

در مطالعه سودا که بیان p21، p53، c-erbB-2، bcl-2 در کارسینوم‌های تیروئید مورد بررسی قرار گرفته بود بیان شد که بیان مختلف ژن‌های مذکور در درجه‌بندی تومور، میزان تهاجم و تمایز سلول‌های سرطانی موثر است که با نتایج مطالعه حاضر اختلاف دارد (۱۶). علت این ناسازگاری می‌تواند به سبب این باشد که در مطالعه

مساله اتفاق نظر وجود دارد. اما برای اثبات قطعی عدم تاثیر بیان این ژن در پیش‌آگهی بیمار نیاز به گردآوری شواهد بیشتر و بررسی‌های گسترده‌تری می‌باشد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجویی دکترای عمومی مورد حمایت معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شاهد می‌باشد. از کارکنان آزمایشگاه پاتولوژی بیمارستان شهید مصطفی خمینی تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

1. Mohagheghi M, Moosavi JA, Shariat TS: Annual report of Tehran University of Medical Sciences, District cancer registry in 1997.
2. Hrafnkelsson J, Tulinius H, Sigvaldson H. Familial nonmedullary thyroid cancer in Iceland. *Journal of Medical Genetic* 2001;38:189-91.
3. Drake RL, Vogl W, itchell AWM, ray H. Gray's anatomy for students. 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone/Elsevier; 2014.
4. Deandrea M, Gallone G, Veglio M. Thyroid cancer hystotype changes as observed in a major generalHospital in a 21 year period. *Journal of Endocrinology Investigation* 1997; 20:52-8.
5. Rosai J, Tallini G. Rosai and Ackerman's surgicalpathology. 10th ed. New York: Mosby; 2011.
6. Choi D, Hwang S, Lee E. Expression of mitochondria dependent apoptosis genes (p53, Bax, Bcl-2) in rat granulosa cells during follicular development. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation* 2004; 11:311-7.
7. Mitsiades N, Poulaki V, Kotoula V, Mastorakos G, Tseleni-Balafouta S, Koutras DA, et al. Fas/Fas ligand up-regulation and Bcl-2 downregulation may be significant in the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabplism*. 1998; 83:2199-203.
8. Mitsiades CS, Poulaki V, McMullan C, Negri J, Fanourakis G. Novel histone deacetylase inhibitors in the treatment of thyroid cancer. *Clinical Cancer Research*. 2005; 11:3958-65.
9. Aksoy M, Giles Y, Kapran Y, Terzioglu T, Tezelman S. Expression of bcl-2 in Papillary Thyroid Cancers and its Prognostic Value. *Actachirbelg* 2005; 105: 644-8.
10. Dinets A, Hulchiy M, Sofiadis A, Ghaderi M, Höög A, Larsson C, etal. Clinical, genetic, and immunohistochemical characterization of 70 Ukrainian adult cases with post-Chornobyl papillary thyroid carcinoma. *European Journal of Endocrinology*. 2012;166(6):1049-60.

سودا نتایج نهایی اثر هر سه ژن را بر فاکتورهای پیش‌گویی کننده پیش‌آگهی بیمار بیان کرده است ولی در مطالعه ما تنها ارتباط بیان BCL-2 مورد بررسی قرار گرفته است.

نتیجه گیری

به نظر می‌رسد بیان افزایش یافته BCL-2 به عنوان یک اونکو پروتئین به تنهایی در برآورد پیش‌آگهی بیماران کارسینوم پاپیلری تیروئید نقش بارزی نداشته و کارآمد نباشد. در اکثر پژوهش‌های انجام شده در مورد این

11. Longo D L, Fauci AS, Kasper DL, Hauser StL, Jameson JL, Loscalzo J. Harrison's principles of internal medicine. 18thed, New York: McGraw hill; 2012.
12. Stassi G, Todaro M, Zerilli M, Ricci-Vitiani L, Di LibertoD, Patti M, etal. Thyroid cancer resistance to chemotherapeutic drugs via autocrine production of interleukin-4 and interleukin-10. *Cancer Research*. 2003; 63(20):6784-90.
13. Siironen P, Nordling S, Louhimo J, Haapiainen R, Haglund C. Immunohistochemical expression of Bcl-2, Ki-67, and p21 in patients with papillary thyroid cancer. *Tumour Biology*. 2005 ; 26(1):50-6.
14. Manetto V, Lorenzini R, Cordon-Cardo C, Krajewski S, Rosai J, Reed JC, et al. Bcl-2 and Bax expression in thyroid tumours. An immunohistochemical and western blot analysis. *Virchows Archives*. 1997; 430(2):125-30.
15. Aksoy M, Giles Y, Kapran Y, Terzioglu T, Tezelman S. Expression of bcl-2 in papillary thyroid cancers and its prognostic value. *Acta Chirurgica Belgica*. 2005; 105(6):644-8.
16. Soda G, Antonaci A, Bosco D, Nardoni S, Melis M. Expression of bcl-2, c-erbB-2, p53, and p21 (waf1-cip1) protein in thyroid carcinomas. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 1999; 18(3):363-7.

Daneshvar
Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
24th Year, No.128
April- May 2017*

Received: 18/02/2017

Last revised: 03/04/2017

Accepted: 08/04/2017

Relation between BCL-2 oncoprotein expression and some prognostic factors in papillary thyroid carcinoma

Mohammadreza Jalali Nadoushan*, Mohammadmehdi Gohari Kamel

Department of Pathology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.

* Corresponding author e-mail: Jalali@shahed.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Papillary thyroid carcinoma (PTC) is the most common thyroid malignancy. Expression of BCL-2, an apoptosis inhibitor, is higher in papillary thyroid carcinoma cells. Prognosis of PTC is associated with some factors such as age, gender, tumor size, capsular invasion and lymph node involvement. The aim of this study was to demonstrate relation between BCL-2 oncoprotein expression and these prognostic factors in PTC.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, 85 pathology samples of PTC patients were analyzed for capsular invasion and BCL-2 oncoprotein expression by immunohistochemistry method. Other data such as age, gender, tumor size and lymph node involvement were collected from clinical records of patients. Data were analyzed by SPSS.

Results: The mean age was 40.8 ± 16.4 years (75 females and 10 males). The mean tumor size was 3.7 ± 2.2 cm. Meanwhile, 11 samples had capsular invasion and the others were negative. Lymph node involvement was positive in 19 samples (22.3%). The BCL-2 expression was positive in 71 samples (87.1 %). There was no significant relation between BCL-2 expression and lymph node involvement and capsular invasion. A significant relation was seen between tumor size and BCL-2 expression. BCL-2 expression was associated with a larger tumor size.

Conclusion: BCL-2 expression in PTC patients was high and has relation with tumor size. Lymph node involvement and capsular invasion have not any relation with BCL-2 expression.

Key words: Papillary thyroid carcinoma, Size of tumor, Capsular invasion, Lymph node involvement, BCL-2 expression