پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۲، صفحات ۱۰۲ تا ۱۰۶

مقاله اصلی
(Original Article)

بررسی پاتولوژیک مننژیوم با مارکرهای *ki 67* و *p53* در مراجعین به بیمارستان شهدای تجریش

معصومه شیروی خوزانی*[۱]، افشین مرادی[۲]، سید فرید صولت یکانی[۱]، زهرا مجد[۳]

[۱] دپارتمان پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۲] مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۳] مرکز تحقیقات ایمونوپاتولوژی، واحد پردیس، دانشگاه علوم پزشکی ایران

چکیده

سابقه و هدف: *مننژیوم شایع‌ترین تومور سیستم عصبی مرکزی است و با توجه به اهمیت بیماری و گزارشی از همراه بودن آن با مارکرهای ki 67 و p 53 و گزارش تنها یک مورد از وضعیت آن در کشور و به منظور تعیین پروگنوز بهتر مننژیوم با استفاده از مارکرهای ki 67 و p53 این تحقیق روی مراجعین بیمارستان شهدای تجریش در سال‌های ۱۳۷۵ تا ۱۳۹۰ انجام شد.*

روش بررسی: *تحقیق با روش مقطعی روی کلیه نمونه‌های با تشخیص قطعی مننژیوم انجام گرفت. تشخیص قطعی با پاتولوژی بوده و طبقه‌بندی مننژیوم بر حسب گرید آنها و مطابق با معیار گریدینگ سال ۲۰۰۷ سازمان بهداشت جهانی با روش ریزآرایه بافتی بر روی بلوک‌های پارافینی انجام گرفت، به این ترتیب که روی تنها یک اسلاید شیشه‌ای تعداد زیادی از قطعات سوزنی تومورهای با گریدهای مختلف از روی بلوک‌های پارافینی قرار گرفت و مارکرهای ki67 و p53 با روش ایمونوهیستوشیمی بررسی گردید. میزان رنگ‌آمیزی دو مارکر بر اساس تعیین درصد سلول‌های رنگ شده و شدت رنگ آمیزی با مارکر توصیفی بررسی گردید.*

یافته‌ها: *از ۸۹ تومور واجد شرایط، ۴۳/۸۲٪ گرید یک، ۴۴/۹۴٪ گرید دو، ۳/۳۷٪ گرید سه، ۴/۴۹٪ گروه مننژیوم با نمای آتیپیک و ۳/۳۷٪ مننژیوم با تهاجم به مغز بودند. میانگین p53 در گرید یک ۳۱/۲۸، در گرید دو ۵۷/۷۷، در گرید سه ۶۰، در مننژیوم با نمای آتیپیک ۴۷/۵ و در مننژیوم با تهاجم به مغز ۶۵ بود (p=۰/۰۸۷). در مورد شاخص ki 67 میانگین آن در گرید یک ۷/۴۶، در گرید دو ۳۳/۵، در گرید سه ۲۲/۵، در مننژیوم با نمای آتیپیک ۱۰/۷۸ و در موارد با تهاجم به مغز ۲۰ بود (p=۰/۰۳۲).*

نتیجه‌گیری: *به نظر می‌رسد که ارتباطی بین ki 67 و گرید مننژیوم وجود داشته باشد. انجام مطالعات تحلیلی و متعاقب آن بررسی‌های تجربی را توصیه می‌نماییم.*

واژگان کلیدی: *مننژیوم، ki 67، p53 ، تکنیک ریز آرایه بافتی.*

مقدمه

مننژیوم تومور برخاسته از سلول‌های مننگوتلیال مننژ، اغلب خوش خیم، با رشد آهسته و حدود مشخص است (۱،۲). مننژیوم از شایع‌ترین تومورهای سیستم عصبی است که به وفور در ایران دیده می‌شود. ۹۳٪ موارد گرید I (خوش خیم)، ۵٪ گرید II (آتیپیک) و ۲٪ گرید III (آناپلاستیک) می‌باشند (۲). طبقه بندی گرید مننژیوم طبق WHO 2007 براساس یافته‌های هیستولوژیک تومور می‌باشد. یافته‌های هیستولوژیک ماهیت رفتار تومور را مشخص می‌کنند، ولی همیشه ارتباط قطعی با پروگنوز بیماری ندارند. تعدادی از مننژیوم‌های گرید I با وجود خارج سازی کامل تومور به وسیله جراحی، عود

آدرس نویسنده مسئول: تهران، سعادت اباد. خ سرو شرقی. خ ۴.پ ۸. واحد ۱۵، معصومه شیروی خوزانی (**e-mail:** masy_shiravi@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۱۲/۱
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۵/۱۲

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

کرده‌اند. تلاش‌های بسیاری بر روی بررسی نقش مارکرهای ایمنوهیستوشیمیایی مختلف جهت پیش بینی رفتار واقعی این تومورها انجام گرفته است (۲). تاکنون مطالعات اندکی بر روی بررسی نقش مارکرهای Ki_{67} و P_{53} بر روی گریدهای مختلف تومور مننژیوم (بر اساس WHO) انجام گرفته است. از آنجا که هر یک از این مارکرها در تعدادی از انواع دیگر سرطان‌های انسانی نقش پروگنوستیک اثبات شده داشته‌اند، در صورت معنی‌دار بودن تغییرات بروز و شدت این مارکرها با تغییر گرید تومور می‌توان رفتار واقعی تومور را پیش بینی کرد و حتی از آنها به عنوان یکی از کرایتریای گریدینگ تومور و همچنین معیاری جهت ارزیابی تهاجم مغزی تومور، فاکتور پروگنوستیک استفاده کرد.

Ki-67(MIB-1) شاخص تکثیر سلولی سلول‌های تومورال است که افزایش میزان آن ارتباط واضحی با سیر تهاجمی تومور در بسیاری از تومورهای انسانی دارد. در مننژیوم‌های گرید بالا، اندکس Ki_{67} بالاتری دیده شده است (۲) ، که این خود می‌تواند به عنوان یکی از معیارهای گریدینگ مننژیوم علاوه بر معیارهای WHO 2007 مدنظر قرار گیرد. افزایش بروز موتاسیون P_{53} (ژن سرکوب کننده تومور) نیز در بسیاری از تومورهای انسانی حاکی از رفتار تهاجمی تومور و پروگنوز بدتر برای بیمار است (۲).

در ایران تنها یک مطالعه بر روی گریدهای یک تا سه مننژیوم و مارکر ki 67 توسط نسرین شایانفر در سال ۲۰۰۹ انجام گرفت (۱) که با توجه به عدم کفایت اطلاعات و به منظور بررسی وضعیت گریدهای مختلف مننژیوم و همچنین موارد با تهاجم به مغز این مطالعه انجام گرفت.

با توجه به اینکه تکنیک ایمونوهیستوکمیکال (IHC) که در حال حاضر به طور روتین در بخش‌های پاتولوژی بر روی تومور انجام می‌گیرد، برای هر مارکر به طور جداگانه احتیاج به تهیه یک اسلاید شیشه‌ای (لام) از هر تومور دارد، می‌توان با استفاده از روش ریزآرایه بافتی یا Tissue Micro Array(TMA) تعداد زیادی (ده‌ها تا صدها) نمونه ریزبافتی از تومورهای مختلف را بر روی یک اسلاید شیشه ای جهت آنالیز هم‌زمان آنها استفاده کرد. از مزایای TMA در مقایسه با بلوکهای مرسوم، امکان استفاده بیشتر بافت در مطالعات مختلف، همگونی، تکرارپذیر بودن (Reproducibility) نتایج آزمایشات، همچنین صرفه جویی در مواد مصرفی و آنالیز سریع‌تر وصحیح بافت‌ها می‌باشد.

مواد و روشها

تحقیق به روش مقطعی بر روی کلیه بلوک‌های پارافینی مبتلایان به مننژیوم انجام گرفت. لیست ۱۵ سال اخیر بیماران مبتلا به مننژیوم داخل جمجمه‌ای با مراجعه به دفاتر ثبت موجود در مرکز پزشکی شهدای تجریش استخراج و سپس اطلاعات مربوط به مشخصات بیماران، موقعیت آناتومیک ضایعه و نتیجه پاتولوژی بررسی شد. ۳۹ عدد گرید ۱، ۴۰ عدد گرید ۲، ۳ عدد گرید ۳، ۴ عدد مننژیوم خوش خیم با نمای آتیپیک و ۳ عدد مننژیوم با تهاجم به مغز بودند. تمامی اسلایدهای شیشه‌ای (لام) مورد بازبینی قرار گرفته و پس از تائید تشخیص آنها، مناسب‌ترین محل تومور جهت بررسی بر روی اسلاید شیشه‌ای علامت گذاری شده و پس از مطابقت همان نقطه بر روی بلوک پارافینی، با استفاده از دستگاه ریز آرایه بافتی (TMA) قطعه سوزنی کوچکی از تومور را از بلوک پارافینی برداشته و روی بلوک پارافینی خالی قرار دادیم. جهت صحت بیشتر از هر تومور سه نقطه تهیه شد. بدین ترتیب ده‌ها تا صدها نمونه ریز از تومورهای مختلف تنها بر روی یک بلوک پارافینی خالی قرار گرفت و از آنها تعداد معدودی لام جهت رنگ آمیزی هر مارکر ایمونوهیستوکمیکال (IHC) مورد نظر، مطابق دستور کیت، تهیه شد. در نتیجه علاوه بر صرفه جویی در مواد IHC امکان مقایسه هم‌زمان ساب‌تایپ‌ها و گریدهای مختلف تومور میسر شد. در نهایت با مشاهده زیر میکروسکوپ نوری میزان شدت و وسعت رنگ پذیری هر یک از مارکرها بر روی نمونه‌های مختلف توموری ثبت و با هم مقایسه شد (شکل ۱).

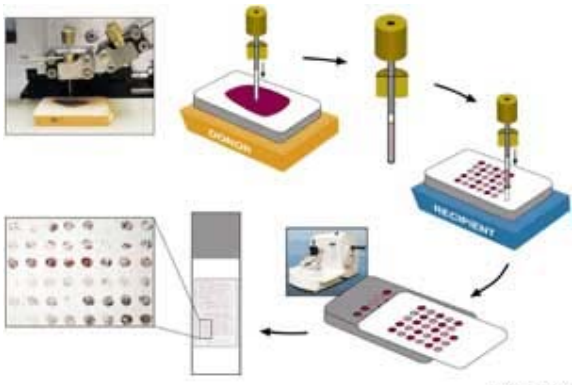

Figure 1

شکل ۱- نمای کلی از نحوه تهیه TMA. نمونه‌های ریز بافتی از بلوک پارافینی بافت دهنده برداشته شده ودر یک بلوک پارافینی گیرنده به

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

طور منظم چیده شد. بلوک پارافینی جدید با میکروتوم برش نازک به قطر ۵ میکرومتر زده شده و روی لام قرار گرفت.

رنگ آمیزی P53 و Ki-67 به صورت هسته‌ای در سلول‌های تومورال می‌باشد. تخمین درصد سلولهایی که هسته آنها رنگ شده نسبت به کل سلول‌های تومورال در 1/HPF که معادل با کل مساحت نقطه مربوط به تومور در بلوک پارافینی TMA می‌باشد به عنوان درصد (Percentage) (۱۰۰-۰) و تخمین شدت رنگ پذیری هر هسته به عنوان شدت (Intensity) (۳-۱) برای هر چهار مارکر گفته شده انجام گرفت. در نهایت از حاصل ضرب percentage و intensity، H.score به دست آمد (۳) و میانگین H.score هر سه نقطه از یک تومور (در ۳ بلوک پارافینی TMA) به عنوان H.score نهایی این مارکر در یک مورد توموری گزارش شد. H.score نسبت به intensity یا percentage به تنهایی از نظر ایمونوپاتولوژیست‌ها معیار بهتری از بیان مارکر در سلول‌های توموری می‌باشد. زیرا در ۳ ناحیه بررسی شده از هر تومور، ممکن است شدت یا درصد هسته‌های رنگ گرفته متفاوت باشد. این روش از نظر حساسیت و اختصاصیت مشابه روش قبل می‌باشد و مزیت آن صرفه‌جویی در هزینه‌ها و امکان مقایسه همزمان گریدهای تومور است (۳). سه پاتولوژیست به صورت جداگانه گرید تومور را مورد بازبینی قرار داده و همچنین شدت بیان دو مارکر را گزارش کردند و جهت پایایی این عمل پس از یک هفته مجددا تکرار شد. روایی گریدینگ تومور مطابق معیار ۲۰۰۷ WHO انجام شد. پس از تائید کردن گرید بیماری و مشخص کردن شدت و وسعت بیان مارکرها (H.score)، میزان H.score در گریدهای مختلف مننژیوم و همچنین موارد با تهاجم به مغز تومور با آزمون kruskal wallis مورد قضاوت بالینی قرار گرفت.

یافته‌ها

از ۸۹ تومور، ۳۹ عدد آنها در گرید یک، ۴۰ عدد در گرید دو، سه عدد در گرید سه، ۴ عدد آنها با نمای آتیپیک و ۳ عدد آنها دارای تهاجم به مغز بودند. میانگین p53 در گرید یک ۳۱/۲۸، در گرید دو ۵۷/۷۷، در گرید سه ۶۰، در مننژیوم با نمای آتیپیک ۴۷/۵ و در مننژیوم با تهاجم به مغز ۶۵ بود (p=۰/۰۸۷) (جدول ۱). در مورد شاخص ki 67، میانگین آن در گرید یک ۷/۴۶، در گرید دو ۳۳/۵، در گرید سه ۲۲/۵، در مننژیوم با نمای آتیپیک ۱۰/۷۸ و در موارد با تهاجم به مغز ۲۰ بود (p=۰/۰۳۲) (جدول ۲).

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار p53 در گریدهای مختلف

GRADE	تعداد	میانگین±انحراف معیار
L	۳۹	۳۱/۲۸±۴۳/۸۸
LI	۴۰	۵۷/۷۷±۶۰/۰۷
LII	۳	۶۰±۳۴/۶۴
1/A	۴	۴۷/۵±۳۲/۲۷
I+INV	۳	۶۵±۳۵
Total	۸۹	۴۶/۰۲±۵۱/۹۵

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار **ki 67** در گریدهای مختلف

GRADE	تعداد	میانگین±انحراف معیار
I	۳۹	۷/۴۷±۱۲/۳۲
II	۴۰	۳۳/۵۱±۴۶/۶۸
III	۳	۲۲/۵±۳۲/۶۹
1/A	۴	۱۰/۷۸±۱۵/۱۵
I+INV	۳	۲۰±۳۰/۴۱
Total	۸۹	۲۰/۲۵±۳۵/۲۲

بحث

این تحقیق نشان داد که بین گریدهای تومور با مارکرki 67 ارتباطی وجود دارد. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۱ توسط JeetVishwa بر روی ۱۰۰ مورد مننژیوم گرید یک تا سه انجام گرفت نشان داده شد که اغلب مننژیوم‌های خوش‌خیم (گرید یک) ki 67 پایینی (۱/۵٪) داشتند و آناپلاستیک مننژیوم‌ها (گرید سه) شاخص ki 67 بالا (۱۹/۵٪) داشتند (۴). البته در این مطالعه تومورهای با نمای آتیپیک و موارد با تهاجم به مغز مورد بررسی قرار نگرفتند. در مطالعه ما نیز میانگین بیان ki 67 در تومورهای گرید یک در مقایسه با گریدهای دو و سه دارای کاهش معنی‌داری داشت (p=۰/۰۳۲)، ولی تفاوتی بین گریدهای دو، سه و با نمای آتیپیک و با تهاجم به مغز مشاهده نشد که می‌تواند ناشی از حجم کم نمونه مطالعه ما باشد.

همچنین در مطالعه‌ای که توسط نسرین شایانفر در سال ۲۰۰۹ در تهران بر روی ۷۰ مورد تومور مننژیوم گریدهای یک تا سه انجام گرفت، میزان بیان ki 67 در گرید سه به طور معنی‌داری بالاتر بود و ارتباط معکوس بین تغییرات ki 67 با

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

افزایش گرید تومور دیده شد (۱). ولی متاسفانه در این مطالعه موارد با تهاجم به مغز و نمای آتیپیک تومور مورد بررسی قرار نگرفت.

در مطالعه‌ای دیگر که توسط Hardell-L و همکاران طی سال-های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۸ بر روی ۸۰ مورد مننژیوم با گریدهای مختلف و نمای آتیپیک و تهاجم به مغز انجام شد مشاهده شد که میزان KI 67 با افزایش گرید تومور افزایش می‌یابد و این تفاوت بین گرید یک تومور با گریدهای دو و سه واضح است، در حالی که تفاوت آماری معنی‌داری از نظر بیان آن بین گریدهای دو و سه دیده نشد. همچنین موارد با تهلجم به مغز دارای KI 67 بالاتری بودند (۵). مزیت این مطالعه وسیع، انجام آن روی همه موارد تومور بود. در مطالعه ما نیز بیان ki 67 در گرید یک با میانگین ۷/۴۶ کمتر از گریدهای دو با میانگین ۳۳/۵ و سه با میانگین ۲۲/۵ بود (P=۰/۰۳۲).

در مطالعاتی که توسط نسرین شایانفر وVishwa Jeet انجام شد، شاخص ki67 در مننژیوم‌های گرید سه بالاتر از گرید دو بود (۱،۴)، ولی در مطالعه ما بین گریدهای دو و سه در بیان این مارکر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که احتمالا ناشی از حجم کم نمونه گریدهای دو و سه ما و همچنین موارد با نمای آتیپیک و تهاجم به مغز است.

با توجه به شیوع زیاد تومور مننژیوم، عدم کفایت حجم نمونه بررسی شده، به ویژه گرید تومور، در مطالعه ما و همچنین استفاده از نمونه‌های تنها یک بیمارستان از نقاط ضعف این مطالعه می‌باشد.

در این مطالعه سعی به فراهم سازی تمهیداتی جهت مقایسه بیان مارکر بین گریدهای مختلف مننژیوم و همچنین موارد با تهاجم به مغز شد تا شاید بتوان از این مارکر علاوه بر معیارهای گریدینگ WHO جهت بررسی رفتار واقعی تومور در پیشرفت به سمت گرید بالاتر، عود و یا تهاجم به مغز استفاده کرد.

Ki 67 یک معیار پرولیفراسیون سلولی است که نشانه‌ای از تکثیر سلول‌های تومورال است. هر چه گرید تومور بالاتر باشد، سرعت رشد تومور و امکان عود آن بیشتر است. زیرا درصد بیشتری از سلول‌های تومور در حال میتوز و در فاز تکثیر هستند (۲).

در نتیجه به نظر می‌رسد که بیان پایین مارکر ki 67 در مننژیوم حاکی از رفتار بهتر تومور می‌باشد و میزان بیان بالای آن در گریدهای بالاتر تومور یا تهاجم به مغز بوده و می‌تواند به عنوان یک فاکتور پروگنوستیک منفی رفتار کند که در این موارد نیاز به پیگیری دقیق‌تر تومور توسط پزشک معالج است.

امید است با انجام مطالعات تحلیلی از نوع کوهورت یا کارآزمایی بالینی و همچنین حجم بیشتری از گریدهای مختلف مننژیوم نتایج بهتری حاصل گردد.

در مورد مارکر p53، این تحقیق نشان داد که گریدهای تومور با مارکرp53 ارتباطی ندارند. در بین مطالعات انجام شده بر روی بیانp53 در مننژیوم تاکنون نتیجه مشابه با مطالعه ما حاصل نشده که احتمالا ناشی از حجم کم نمونه این مطالعه است.

در بررسی که توسط Johnson M و همکاران در سال ۲۰۱۰ بر روی ۹۶ مورد مننژیوم با گریدهای مختلف انجام شد، حدود ۱۰٪ از گریدهای یک و دو به صورت ضعیف برای P53 رنگ گرفتند، ولی تومورهای گرید سه به شدت با این مارکر رنگ شدند (۶). البته در این مطالعه، تنها از معیار شدت رنگ برای بیان مارکر استفاده شده بود، نهH.score، در نتیجه درصد سلول‌های تومورال رنگ شده را لحاظ نکرده بود.

در مطالعه Vishwa Jeet در سال ۲۰۰۱ که بر روی ۱۰۰ مورد مننژیوم گرید یک تا سه انجام شد، ۱۵٪ از تومورهای گرید یک p53 را نمایان کردند، در حالی که تمام آناپلاستیک مننژیوم‌ها از نظر p53 مثبت بودند (۴). در این مطالعه p53 تنها به صورت وجود یا عدم وجود بررسی شد.

در تحقیق ما ارتباط آماری معنی‌داری بین بیان p53 و گرید تومور مشاهده نشد (P=۰/۰۸۴)، با این حال میانگین بیان p53 همچنان در تومورهای با تهاجم به مغز و گریدهای دو و سه بیشتر از گرید یک بود. حجم کم نمونه به ویژه در گریدهای بالای تومور و با تهاجم به مغز در این مطالعه از نقاط ضعف آن و بررسی کمی مارکر به صورت H.score که امکان مقایسه بین تومورهای p53 مثبت را ممکن می‌سازد از نقاط قوت آن است.

P53 مارکر سرکوب کننده تومور است که نقش آن در تعدادی از سرطان‌های انسانی به ویژه پستان اثبات شده است که جهش در ژن آن باعث مهار سرکوب تومور و در نتیجه رشد و تکثیر بیشتر آن می‌شود (۲).

در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که به نظر می‌آید، برخلاف سرطان پستان، در مننژیوم ارتباطی بینp53 و گرید تومور وجود ندارد.

پیشنهاد می‌شود با توجه به حجم کم تومورهای با گرید بالا در مطالعه ما، مطالعات گسترده و ترجیحا تحلیلی جهت دستیابی به نتایج صحیح‌تر انجام می‌شود.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]

تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه اساتید گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، همکاران مرکز تحقیقات ایمونوپاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران واحد پردیس و هم‌چنین جناب آقای مهندس ولایی، مشاور آمار، تشکر و قدردانی می شود. این مطالعه برگرفته از پایان نامه است.

REFERENCES

1. de Robles P, McIntyre J, Kalra S, Roldán G, Cairncross G, Forsyth P, et al. Methylation status of MGMT gene promoter in meningiomas. Cancer Genet Cytogenet 2008; 187:25-27.
2. Robinson JC, Challa VR, Jones DS, Kelly DL Jr. Pericytosis and edema generation: a unique clinicopathological variant of meningioma. Neurosurgery 1996; 39:700-706.
3. Thompson J A. Semi quantitative IHC, Techniques and the value in pathology. Med Pathol 1992;31:611-27
4. Amatya VJ, Takeshima Y, Sugiyama K, Kurisu K, Nishisaka T, Fukuhara T, et al. Immunohistochemical study of Ki-67 (MIB-1), p53 protein, p21WAF1, and p27KIP1 expression in benign, atypical, and anaplastic meningiomas. Hum Pathol 2001; 32:970-75.
5. Hardell L, Carlberg M, Hansson Mild K. Pooled analysis of two case-control studies on the use of cellular and cordless telephones and the risk of benign brain tumours diagnosed during 1997-2003. Int J Oncol 2006; 28:509-18.
6. Jääskeläinen J, Haltia M, Laasonen E, Wahlström T, Valtonen S. The growth rate of intracranial meningiomas and its relation to histology. An analysis of 43 patients. Surg Neurol 1985; 24:165-72.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-13]