Medical Journal
of
Tabriz University of Medical Sciences and Health Services

Original Article

Immunohistochemical study of COX-2 in melanocytic skin lesions

Effat Khodaeiani[1], Ashraf Fakhrjou[2], Armaghan Ghareaghaji Zare[1]*, Shahla Talghini[2], Mehdi Amirnia[1]

[1]Department of Dermatology, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[2]Department of Pathology, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
*Corresponding author; E-mail: armaghan.g.zare@gmail.com

Received: 19 June 2014 Accepted: 24 July 2014 First Published online: 26 February 2017
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 April;39(1):38-43

Abstract

Background: cyclooxygenase-2 (cox-2) is involved in pathogenesis of various tumors and possibly malignant skin tumors including malignant melanoma; however, there is not enough information about cox-2 expression in benign melanocytic lesions. In the present study we compared the expression levels of cox-2 in malignant melanoma and benign melanocytic lesions.

Methods: In this analytical study, 42 malignant melanoma from all 4 subtypes and 38 benign melanocytic lesions including dysplastic nevus, Spitz nevus and atypical nevus were evaluated for cox-2 expression using immunohistochemistry staining and intensity of cell staining (quantitatively and qualitatively).

Results: Malignant melanoma compared to benign melanocytic lesions had significantly higher levels of staining ($p<0.001$), and much more intense coloration ($p<0.001$) and higher overall staining score ($p<0.001$). Regarding the cox-2 staining between malignant melanoma subtypes, all four subtypes mostly had staining intensity over 60%. Also in terms of quality, the most intense staining was in the ALM, and LM and NM had moderate staining intensity. With increasing depth of involvement, cox-2 staining increases. Intensity of cell staining was also higher in cases with tumor depth of 2-4 mm.

Conclusion: The results indicate the effectiveness of cox-2 in differentiating between malignant melanoma and benign melanocytic lesions. cox-2 expression correlated with the depth of invasion. Although cox-2 alone cannot be used to differentiate melanoma from benign lesions, it can be helpful in combination with other methods, in determining the prognosis and future targeted therapies.

Keywords: Cycloxygenase-2, Malignant melanoma, Benign melanocytic lesion, Immunohistochemistry

How to cite this article: Khodaeiani E, Fakhrjou A, Ghareaghaji Zare A, Talghini Sh, Amirnia M. [Immunohistochemical study of cox-2 in melanocytic skin lesions]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2017 April;39(1):38-43. Persian.

© 2017 The Author(s). This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

بیان سیکلواکسیژناز-۲ در ضایعات ملانوسیتیک پوست به روش ایمونوهیستوشیمیایی

عفت خدائیانی[۱]، اشرف فخرجو[۲]، ارمغان قره‌آغاجی زارع[۱*]، شهلا تلقینی[۲]، مهدی امیرنیا[۱]

[۱]گروه پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۲]گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
* نویسنده رابط؛ ایمیل: armaghan.g.zare@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۳/۳/۲۹ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۲ انتشار برخط: ۱۳۹۵/۱۲/۸
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. فروردین ۱۳۹۶؛ ۳۹(۱): ۳۸-۴۳

چکیده

زمینه: سیکلواکسیژناز-۲ (COX-2) در پاتوژنز تومورهای مختلف و احتمالا در تومورهای بدخیم پوست از جمله ملانوم بدخیم نقش دارد؛ با این حال اطلاعات موجود در مورد بیان COX-2 در موارد ضایعات خوش‌خیم کامل نمی‌باشد. در مطالعه حاضر به مقایسه میزان بیان COX-2 در ضایعات ملانوم بدخیم و ضایعات ملانوسیتیک خوش‌خیم می‌پردازیم.

روش کار: در این مطالعه تحلیلی، تعداد ۴۲ نمونه ملانوم بدخیم از هر ۴ ساب تایپ و ۳۸ ضایعه ملانوسیتیک خوش‌خیم شامل خال دیسپلاستیک، Spitz nevus و خال غیر آتیپیک از نظر میزان بیان COX-2 با استفاده از رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی و شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها (به صورت کمی و کیفی) مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: گروه ملانوم بدخیم نسبت به گروه ضایعات ملانوسیتیک خوش‌خیم بطور بارزی میزان درصد رنگ‌پذیری بالاتر (P<۰/۰۰۱)، میزان رنگ‌پذیری شدیدتر (P<۰/۰۰۱) و مجموع امتیاز رنگ‌پذیری بالاتری داشتند (P<۰/۰۰۱). بین ساب تایپ‌های ملانوم بدخیم از نظر شدت رنگ‌پذیری COX-2، هر چهار ساب تایپ عمدتا دارای درصد رنگ‌پذیری بالای ۶۰٪ بودند. همچنین از نظر کیفی، شدیدترین رنگ‌پذیری در گروه ملانوم بدخیم Acral Lentiginous (ALM) بود و گروه ملانوم بدخیم لنتیگو (LMM) و ملانوم ندولر (NM) رنگ‌پذیری متوسط داشت. با افزایش عمق درگیری، درصد رنگ-پذیری COX-2 افزایش می‌یافت. شدت رنگ‌پذیری سلول نیز در تومورهای با ضخامت ۴-۲ میلی‌متر بیشتر بود.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر نشانگر کارآیی COX-2 در شناسایی موارد ملانوم بدخیم نسبت به ضایعات خوش‌خیم ملانوسیتیک است. بیان بالاتر COX-2 هم، مرتبط با عمیق‌تر بودن تهاجم می‌باشد. گرچه COX-2 به تنهایی نمی‌تواند برای افتراق ملانوم بکار رود اما در ترکیب با سایر روشها و در تعیین پیش آگهی و استفاده از درمان‌های هدفدار می‌تواند مفید واقع شود.

کلید واژه‌ها: سیکلواکسیژناز ۲، ملانوم بدخیم، ضایعه خوش‌خیم ملانوسیتی، ایمونوهیستوشیمی

نحوه استناد به این مقاله: خدائیانی ع، فخرجو ا، قره آغاجی زارع، تلقینی ش، امیرنیا م. بیان سیکلواکسیژناز-۲ در ضایعات ملانوسیتیک پوست به روش ایمونوهیستوشیمیایی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز. ۱۳۹۶؛ ۳۹(۱): ۳۸-۴۳.

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تبریز تحت مجوز کریتو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

ملانوم یک بدخیمی برخاسته از ملانوسیت‌ها می‌باشد. میزان کلی مرگ و میر ناشی از این بیماری در دهه‌های اخیر در حال افزایش بوده است. در بالغین جوان یکی از شایعترین بدخیمی‌ها می باشد و از این میان حدود ۲۰ درصد افراد، بیماری متاستاتیک دارند که اغلب منجر به مرگ می شود. تشخیص زودرس و جراحی مناسب ضایعات در مراحل اولیه در بیش از ۹۰ درصد بیماران باعث بهبودی کامل می‌گردد (۱). روش ایمونوهیستوشیمی برای ارزیابی تشخیصی در مواردی از ملانوم اولیه که از نظر تشخیصی مشکل هستند و تومورهای متاستاتیک با منشا نامشخص کاربرد دارد. انواع وسیعی از آنتی‌ژن های مرتبط با ملانوم برای تشخیص بکار رفته است که از آن جمله می توان به gp100/HMB45، تیروزیناز، MART-MELAN اشاره کرد (۲). امروزه گیرنده‌های سطحی دخیل در چسبندگی سلول‌ها، ژن‌ها یا محصولات ژنی که در تنظیم سیکل سلولی نقش دارند به عنوان مارکرهای بیولوژیک برای ملانوم، به صورت گسترده و وسیع در حال ارزیابی هستند (۳). سیکلواکسیژنازها (COX) از آنزیم‌های دخیل در متابولیسم اسید آراشیدونیک و تولید پروستاگلاندین هستند. COX-2 اصلی‌ترین ایزوآنزیم COX است که به اشعه UV پاسخ می‌دهد و در آپوپتوز و التهاب پوست ناشی از UV نقش دارد (۴). محصول اصلی آن PGE2 می‌باشد که در پیشرفت بدخیمی‌های وابسته به بیان COX-2 دخیل است. در حقیقت PGE2 باعث سرکوب پرولیفراسیون لنفوسیت‌ها و فعالیت NK Cells می‌شود که این عوامل برای مقاومت میزبان علیه پیشرفت تومور لازم هستند (۴). سیکلواکسیژناز-۲ (COX-2) یک آنزیم قابل القاء می‌باشد که در تولید پروستاگلاندین در پروسه‌های متعدد التهابی دخیل می‌باشد. همچنین گزارش شده است که COX-2 دارای نقش در پاتوژنز تومورال در ارگان‌های مختلف شامل کارسینوم‌های کولورکتال، معده، پستان، مثانه و ریه می‌باشد. بطور مشابه مطالعات متعددی بیان COX-2 را در تومورهای بدخیم پوست از جمله کارسینوم سلول سنگفرشی، کارسینوم سلول بازال، بیماری Bowen، کراتوز آکتینیک و ملانوم بدخیم نشان داده اند (۹-۴). حتی اخیرا COX-2 به عنوان مارکری برای ملانوم بدخیم پیشنهاد شده است (۱۱و۱۰). گزارش شده است که درمان با مهارکننده‌های COX-2 یا داروهای غیر استروئیدی ضد التهابی (NSAIDS) در درمان ملانوم بدخیم (۱۳و۱۲)، دیگر بدخیمی‌های پوست (۱۵و۱۴)، و انواع دیگری از کارسینوم‌ها (۱۹-۱۶) مؤثر می‌باشند. با توجه به اینکه مطالعات مختلف با نتایج متنوع در این رابطه در سراسر جهان انجام گرفته و با توجه به اهمیت موضوع، بر آن شدیم تا با انجام مطالعه‌ای میزان بیان Cox-2 را در ضایعات ملانوم بدخیم در بیماران منطقه خود مورد بررسی قرار دهیم و نتایج آن را با بیان Cox-2 در ضایعات ملانوسیتیک خوش-خیم مقایسه نماییم.

روش کار

این مطالعه مقطعی تحلیلی شامل ۴۲ نمونه ملانوم بدخیم از هر ۴ ساب تایپ و ۳۸ ضایعه ملانوسیتیک خوش‌خیم، اعم از خال دیسپلاستیک، Spitz nevus و خال غیر آتیپیک آزمایشگاه پاتولوژی آذربایجان و آزمایشگاه پاتولوژی مرکز آموزشی درمانی سینا از سال ۱۳۸۱-۱۳۹۱ هجری شمسی بود. انتخاب نمونه‌ها بر اساس جدول اعداد تصادفی از نمونه های موجود در آرشیو دو آزمایشگاه فوق، با تشخیص قطعی ضایعات خوش‌خیم و بدخیم ملانوسیتیکی بعد از بازنگری دوباره لام ها و تایید تشخیص قبلی به دقت صورت گرفت. معیارهای ورود به مطالعه همخوانی تشخیص پاتولوژیک اولیه با تشخیص نمونه بازبینی شده و در دسترس بودن پرونده بیمار جهت وارد کردن اطلاعات فردی بود. همچنین معیارهای خروج از مطالعه وجود سابقه بدخیمی احشایی و سایر بدخیمی-های پوستی است بود. تعداد ۴۲ بلوک پارافینی با تشخیص پاتولوژیک ملانوما از آرشیو بخش پاتولوژی آزمایشگاه‌های ذکر شده (به روش فوق از هر چهار ساب تایپ به تعداد مساوی) انتخاب و بعد از برش و رنگ آمیزی H&E و تایید مجدد تشخیص توسط دو پاتولوژیست، ضخامت تومور و سطح درگیری بر اساس Clark level تعیین گردید. تعداد ۳۸ نمونه دیگر با تشخیص‌های خال دیسپلاستیک، Spitz nevus و خال غیر آتیپیک نیز به روش مذکور انتخاب و بازبینی شدند. مجددا بلوک‌های پارافینی فیکس شده در فرمالین را با ضخامت ۳ میکرون برش داده در بافر EDTA قرار داده و به ماکروویو انتقال دادیم؛ پس از چند مرحله شستشو با بافر (TBS) اسلایدها را با آنتی‌بادی ضد COX-2 مونوکلونال اولیه پوشانده و در اتاقک مرطوب قرار دادیم؛ پس از آن سطح بافت‌ها را با آنتی بادی ثانویه و پلیمر لیبل شده با پراکسیداز پوشانده و در نهایت ردیابی را با روش EnVision (Dako Cytomation Protocol) و رنگ‌آمیزی، انجام داده و مشاهده نمودیم. رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی به صورت کمی نمره‌دهی شد؛ شش فیلد جداگانه از هر نمونه با درشت نمایی ۶۰ رویت و در هر فیلد ۱۰۰ سلول شمارش گردید. مثلا در مورد ملانوم بدخیم ۲ فیلد اپیدرمال، ۲ درمال و ۲ فیلد از درم میانی و عمقی انتخاب گردید. در مورد خال‌های غیر آتیپیک تنها دو فیلد اپیدرمال و درمال بررسی شدند و با بررسی مناطق مختلف میانگین کلی محاسبه گردید. ملاک مثبت بودن، رنگ گرفتن حداقل ۱۰ درصد سلول های تومورال بود. در واقع، رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی COX-2 برای تمام نمونه ها انجام شده و شدت آن به صورت کمی بیان گردید (۲). در موارد مثبت Scoring به صورت ۳۰-۱۰، ۶۰-۳۱ و ۶۱ درصد به بالا در Score های ۱، ۲ و ۳ تقسیم‌بندی شدند و برای هریک از Score ها خفیف (+)، متوسط (++) و قوی (+++) بودن شدت رنگ‌آمیزی (در سلول های تومورال و سلول‌های التهابی اطراف) ثبت گردید

(۶). که در نهایت به صورت Score های ۶-۲ (مجموع درصد و شدت رنگ‌پذیری) مشخص شد. پس از آن تفاوت شدت بیان COX-2 بین دو گروه خوش‌خیم و بدخیم، انواع ساب تایپ‌های ملانوما و نیز براساس عمق ملانوم بدخیم ارزیابی شدند. تمام اطلاعات بکار رفته در مورد بیماران در این مطالعه محرمانه بوده است. این مطالعه بر روی نمونه پاتولوژیک قبلی بیمار بوده و تمامی موارد اخلاقی مربوط به استفاده از مدارک و پرونده بیماران رعایت شده است. با توجه به اینکه در این مطالعه مداخله ای انجام نمی‌گیرد و نیازی به پروسه تشخیصی و درمانی بر روی بالین بیمار نیست لذا نیاز به اخذ رضایتنامه کتبی از بیماران جهت انجام طرح مرتفع شده است و تنها از طریق تماس تلفنی (شماره تلفن درج در پرونده) رضایت شفاهی از بیماران کسب شده است. تمام داده‌های مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS17 مورد تحلیل و آنالیز قرار گرفتند. جهت بررسی‌های آماری از روش‌های آماری توصیفی (فراوانی، درصد) استفاده شد. برای مقایسه یافته‌های کمی از آزمون independent t test برای موارد با توزیع نرمال استفاده شد. همچنین برای مقایسه یافته‌های کیفی از آزمون Chi square و یا آزمون دقیق فیشر، در صورت نیاز استفاده شد. مقدار p کمتر از ۰/۰۵ در این مطالعه معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر ۸۰ بیمار شامل ۳۴ مذکر و ۴۶ مؤنث با میانگین سنی ۲۴/۶۷±۴۹/۳۷ سال با ضایعات ملانوسیتیک پوست مورد بررسی قرار گرفتند. ۴۲ بیمار دچار ملانوم بدخیم و ۳۸ بیمار دارای ضایعه ملانوسیتیک خوش‌خیم بودند. بیماران دچار ملانوم بدخیم به طور بارزی میانگین سنی بالاتری داشتند (P<۰/۰۰۱). گروه ملانوم بدخیم شامل ۲۴ مورد مذکر (۵۷/۱٪) و ۱۸ مورد مؤنث (۴۲/۹٪) و گروه دارای ضایعات ملانوسیتیک خوش‌خیم شامل ۱۰ مورد مذکر (۲۶/۳٪) و ۲۸ مورد مؤنث (۷۳/۷٪) بودند. مشاهده می‌شود که بیماران مذکر به میزان بیشتری مبتلا به ضایعات ملانوم بدخیم بوده‌اند (P=۰/۰۰۵). ساب تایپ های گروه ملانوم بدخیم به ترتیب شیوع شامل ۲۴ مورد ملانوم ندولر (NM) (۵۷/۱٪)، ۸ مورد (۱۹٪) ملانوم بدخیم acral lentiginous (ALM)، ۶ مورد (۱۴/۳٪) ملانوم بدخیم superficial spreading (SSM) و ۴ مورد (۹/۵٪) ملانوم بدخیم لنتیگو (LMM) بودند. از نظر سطح درگیری بر اساس clark level در گروه ملانوم بدخیم، ۶ مورد (۱۴/۳٪) level II یعنی تهاجم به درم پاپیلری، ۸ مورد (۱۹٪) Level III یعنی تهاجم تا درم رتیکولار سطحی و ۲۸ مورد (۶۶/۷٪) Level IV یعنی تهاجم به درم رتیکولار عمقی داشتند. ضخامت تومور در ملانوم بدخیم بر اساس روش Breslow به ترتیب در ۱۰ مورد (۲۳/۸٪) ۲-۱ میلی‌متر، در ۱۶ مورد (۳۸/۱٪) ۴-۲ میلی‌متر و در ۱۶ مورد (۳۸/۱٪) بیش از ۴ میلی‌متر بود. ضایعات خوش‌خیم نیز شامل خال دیسپلاستیک در ۱۰ مورد (۲۶/۳٪)، خال spitz در ۱۳ مورد (۳۴/۲٪) و خال غیر آتیپیک در ۱۵ مورد (۳۹/۵٪) بودند. گروه ملانوم بدخیم به طور بارزی میزان درصد رنگ‌پذیری از جهت مارکر COX-2 بالاتری داشت، در حالیکه نمونه های بدون رنگ پذیری همگی در گروه ضایعات خوش‌خیم ملانوسیتیک بودند (P<۰/۰۰۱). گروه ملانوم بدخیم بطور بارزی همگی دارای رنگ‌پذیری متوسط تا شدید سلول‌ها بوده، در حالیکه در گروه با ضایعات ملانوسیتیک خوش‌خیم عمدتا بیماران عدم رنگ پذیری یا رنگ پذیری خفیف داشتند. (P<۰/۰۰۱). جدول ۱ درصد رنگ‌پذیری از جهت مارکر COX-2 و نیز شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها را بر اساس ساب تایپ های ملانوم بدخیم نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود بین ساب تایپ‌های ملانوم بدخیم از نظر شدت رنگ‌پذیری COX-2 عمدتا در گروه با شدت رنگ‌پذیری بالای ۶۰٪ قرار دارند. همچنین از نظر رنگ‌پذیری سلول، شدیدترین رنگ‌پذیری در گروه ALM و رنگ‌پذیری متوسط در گروه LM و NM بیشتر می‌باشند.

جدول ۱: درصد رنگ‌پذیری از جهت مارکر COX-2 و نیز شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها بر اساس ساب تایپ‌های ملانوم بدخیم

		ALM	NM	LM	SSM
درصد رنگ‌پذیری Cox-2	(I)۱۰-۳۰	صفر	۲(۸/۳٪)	صفر	صفر
	(II)۳۱-۶۰٪	صفر	۴(۱۶/۷٪)	۲(۵۰٪)	۲(۳۳/۳٪)
	(III)≥۶۰٪	۸(۱۰۰٪)	۱۸(۷۵٪)	۲(۵۰٪)	۴(۶۶/۷٪)
شدت رنگ‌پذیری سلول	متوسط(II)	۲(۲۵٪)	۱۶(۶۶/۷٪)	۴(۱۰۰٪)	۲(۳۳/۳٪)
	شدید(III)	۶(۷۵٪)	۸(۳۳/۳٪)	صفر	۴(۶۶/۷٪)

جدول ۲ نیز درصد رنگ‌پذیری از جهت مارکر COX-2 و نیز شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها را بر اساس عمق تهاجم تومور نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش عمق درگیری، درصد رنگ‌پذیری COX-2 افزایش می‌یابد. شدت رنگ‌پذیری سلول نیز در عمق درگیری ۴-۲ میلی‌متر بیشتر بود.

جدول ۲: درصد رنگ‌پذیری از جهت مارکر COX-2 و نیز شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها بر اساس عمق تهاجم تومور

		mm۱-۲	mm۲-۴	mm >۴
درصد رنگ‌پذیری COX-2	(I)۱۰-۳۰٪	صفر	صفر	۲(۱۲/۵٪)
	(II)۳۱-۶۰٪	۴(۴۰٪)	۴(۲۵٪)	صفر
	(III)≥۶۰٪	۶(۶۰٪)	۱۲(۷۵٪)	۱۴(۸۷/۵٪)
شدت رنگ‌پذیری سلول	متوسط(II)	۶(۶۰٪)	۸(۵۰٪)	۱۰(۶۲/۵٪)
	شدید(III)	۴(۴۰٪)	۸(۵۰٪)	۶(۳۷/۵٪)

بحث

مشاهده شده است که COX-2 با تهاجم و پیش آگهی در برخی تومورها مرتبط می‌باشد (۲۶-۲۰). همچنین نقش بالقوه COX-2 در ایجاد کانسرهای اپی تلیال و ملانوسیتیک پوست نیز غیر محتمل نمی‌باشد، بویژه اینکه COX-2 معمولا در ملانوم‌های

بدخیم (۲۷و۴) و کارسینوم سلول سنگفرشی پوست (۲۹و۲۸) بیان میشود. Kuźbicki و همکاران مشاهده کردند که تغییرات در سطح بیان COX-2 با ایجاد و پیشرفت ملانوم انسانی مرتبط می‌باشد و پروتئین COX-2 می‌تواند یک عامل پروگنوستیک و مارکر پیشگویی‌کننده در ملانوم بدخیم باشد (۱۰). Goulet و همکاران نیز نشان دادند که COX-2 می‌تواند نقش عملکردی در متاستاز ملانوم داشته باشد و درمان با مهار کننده‌های COX-2 ممکن است برای درمان ملانوم بدخیم مؤثر باشد (۸). در مطالعه حاضر نیز ما به بررسی میزان رنگ‌پذیری COX-2 در موارد با ملانوم بدخیم و موارد با ضایعات ملانوسیتیک خوش‌خیم پرداختیم. در این مطالعه مشاهده شد که میزان درصد رنگ‌پذیری COX-2 و نیز شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها در ملانوم بدخیم بطور بارزی بیشتر از ضایعات ملانوسیتیک بود. در گروه ضایعات خوش خیم همچنین در ۲۶/۳٪ از موارد هیچ مورد رنگ‌پذیری از نظر COX-2 وجود نداشت. Denkert و همکاران در یکی از اولین مطالعات در این رابطه مشاهده کردند که خال خوش‌خیم همانند اپی تلیوم نرمال از نظر بیان COX-2 منفی بودند (۴). مشابه مطالعه حاضر، Minami و همکاران مشاهده کردند که گروه ملانوم بدخیم و گروه ضایعات ملانوسیتیک خوش‌خیم تفاوت آماری بارزی در شدت بیان COX-2 داشتند. شدت رنگ‌پذیری نیز در موارد ملانوم بدخیم نسبت به ضایعات خوش خیم بیشتر بود (۲). Lee و همکاران نیز افزایش بارزی در میزان رنگ‌آمیزی COX-2 و PPARγ در ملانوم-ها در مقایسه با ضایعات خوش‌خیم مشاهده نمودند (۲۷). همچنین در مطالعه Chwirot و Kuźbicki مشاهده شد که میانگین بیان COX-2 در ملانوم ها به طور بارزی قوی‌تر از ضایعات خوش‌خیم بود. نیز مشاهده شد که COX-2 امکان تمایز بین ملانوم در مراحل اولیه را از ضایعات ملانوسیتیک خوش‌خیم با حساسیت و اختصاصیت بالایی فراهم می‌آورد (۱۱). نتایج مطالعات فوق بیانگر این نکته است که می‌توان از مارکر یاد شده جهت تشخیص‌های افتراقی ملانوم بدخیم و جهت پیش آگهی بیماری استفاده کرد. در مطالعه حاضر همچنین مشاهده شد که بین ساب تایپ‌های ملانوم بدخیم از نظر شدت رنگ‌پذیری COX-2، هر چهار ساب تایپ عمدتا دارای شدت رنگ‌پذیری بالای ۶۰٪ بودند. همچنین از نظر رنگ‌پذیری سلول، شدیدترین رنگ‌پذیری در گروه ALM و رنگ‌پذیری متوسط در گروه LM و NM بیشتر بود. همچنین با افزایش عمق درگیری، درصد رنگ‌پذیری COX-2 افزایش می‌یابد. شدت رنگ‌پذیری سلول نیز در عمق درگیری در حد ۴-۲ میلی‌متر بیشتر بود. به طور مشابه Minami و همکاران مشاهده کردند که شدت رنگ‌پذیری در اجزاء درمال موارد ملانوم بدخیم نیز با افزایش عمق تومور افزایش می‌یافت (۲). در مطالعه Meyer و همکاران نیز مشاهده شد که COX-2 ارتباط مستقیمی با Clark level پیشرفته و بقای کوتاه مدت داشت. نتایج این مطالعه بیانگر این نکته است که بیان COX-2 با ریسک افزایش یافته بروز تومور همراه می‌باشد (۳۰). در مطالعه Denkert و همکاران مشاهده شد که COX-2 در ۶۸٪ موارد بیان متوسط تا شدید داشت (۴). در حالیکه در مطالعه حاضر ۱۰۰٪ موارد ملانوم بدخیم دارای شدت رنگ‌پذیری متوسط تا شدید بودند. با این حال در مطالعه Kuźbicki و همکاران مشاهده شد که سطح بیان COX-2 مستقل از مرحله و تیپ هیستوپاتولوژیک ملانوم بود. در مجموع، این نتایج بیانگر این نکته می‌باشند که تغییرات در سطح بیان COX-2 با ایجاد و پیشرفت ملانوم انسانی مرتبط می‌باشد (۱۰).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشانگر کارآیی COX-2 در شناسایی موارد ملانوم بدخیم نسبت به ضایعات خوش‌خیم ملانوسیتیک است. شدت رنگ‌پذیری COX-2 هم مرتبط با عمیق تر بودن تهاجم می‌باشد. گرچه COX-2 به تنهایی نمی‌تواند برای افتراق ملانوم بکار رود اما در ترکیب با سایر روش‌های تشخیصی و در تعیین پیش آگهی بیماری و استفاده از درمان‌های هدفدار در آینده می-تواند مفید واقع شود.

قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی را از تمامی پرسنل و به خصوص خانم لیمویی منشی محترم بخش که در انجام کارهای پژوهش سهیم بودند، را دارند.

References

1. Bolognia JL, Jorizzo JL, Rapini RP. *Textbook Dermatology*. 3rd ed. Spain, Mosby. 2012: 1745-1766.
2. Minami S, Lum C, Kitagawa M. Immunohisto chemical expression of cyclooxgenase-2 in melanocytic skin lesions. *Int J Dermatol* 2011; **50**(1): 24-29. doi: 10.1111/j.1365-4632.2010.04628.x
3. Pires I, Garcia J, Prada F. COX-1 and COX-2 expression in canine cutaneous, oral and ocular melanocytic tumours. *J Comp Path* 2010; **143**(2-3): 142-149. doi: 10.1016/j.jcpa.2010.01.016
4. Denkert C, Kubel M, Berger S. Expression of cyclooxgenase-2 in human malignant melanoma. *Cancer Res* 2001; **61**: 303-308.
5. Leong J, Hughes-Fulford M, Rakhlin N. Cyclooxygenases in human and mouse skin and cultured human keratinocytes: association of COX-2 expression with human keratinocyte differentiation. *Exp Cell Res* 1996; **224**(1): 79-87. doi: 10.1006/excr.1996.0113

6. Kagoura M, Toyoda M, Matsui C. Immunohistochemical expression of cyclooxygenase-2 in skin cancers. *J Cutan Pathol* 2001; **28**(9): 476-481. doi: 10.1034/j.1600-0560.2001.028009476.x
7. Kim KH, Park EJ, Seo YJ. Immunohistochemical study of cyclooxygenase-2 and p53 expression in skin tumors. *J Dermatol* 2006; **33**(5): 319-325.
8. Goulet A-C, Einsphar JG, Alberts DS. Analysis of cyclooxygenase 2 (COX-2) expressions during malignant melanoma progression. *Cancer Biol Ther* 2003; **2**(6): 713-718.
9. Bianchini F, Massi D, Marconi C. Expression of cyclo-oxygenase-2 in macrophages associated with cutaneous melanoma at different stages of progression. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2007; **83**(4): 320-328. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2007.03.003
10. Kuz´bicki Ł, Sarnecka A, Chwirot BW. Expression of cyclooxygenase-2 in benign nevi and during human cutaneous melanoma progression. *Melanoma Res* 2006; **16**(1): 29-36. doi: 10.1097/01.cmr.0000194430.77643a0
11. Chwirot BW, Kuz´bicki Ł. Cyclooxygenase-2 (COX-2): first immunohistochemical marker distinguishing early cutaneous melanomas from benign melanocytic skin tumors. *Melanoma Res* 2007; **17**(3): 139-145. doi: 10.1097/CMR.0b013e3280dec6ac
12. Lejeune FJ, Monnier Y, Rüegg C. Complete and long lasting regression of disseminated multiple skin melanoma metastases under treatment with cyclooxygenase-2 inhibitor. *Melanoma Res* 2006; **16**(3): 263–265.
13. Wilson KS. Clinical activity of celecoxib in metastatic malignant melanoma. *Cancer Invest* 2006; **24**: 740-746. doi: 10.1080/07357900601063790
14. Zhan H, Zheng H. The role of topical cyclo-oxygenase-2 inhibitors in skin cancer: treatment and prevention. *Am J Clin Dermatol* 2007; **8**(4): 195-200 doi: 10.2165/00128071-200708040-00002
15. Patel MJ, Ulrich C, Forschner T. Genetically determined susceptibility to COX-2 inhibitors: a report of exaggerated responders to diclofenac 3% gel in the treatment of actinic keratoses. *Br J Dermatol* 2007; **156** Suppl 3: 57-61. doi: 10.1111/j.1365-2133.2007.07858.x
16. Fenwick SW, Toogood GJ, Lodge JP. The effect of the selective cyclooxygenase-2 inhibitor rofecoxib on human colorectal cancer liver metastases. *Gastroenterology* 2003; **125**(3): 716-729. doi: 10.1016/S0016-5085(03)01061-8
17. Altorki NK, Keresztes RS, Port JL. Celecoxib, a selective cyclo-oxygenase-2 inhibitor, enhances the response to preoperative paclitaxel and carboplatin in early-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2003; **21**(14): 2645-2650.
18. Rini BI, Weinberg V, Dunlap S. Maximal COX-2 immunostaining and clinical response to celecoxib and interferon alpha therapy in metastatic renal cell carcinoma. *Cancer* 2006; **106**(3): 566-575. doi: 10.1002/cncr.21661
19. Mrozek E, Kloos RT, Ringel MD. Phase II study of celecoxib in metastatic differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; **91**(6): 2201-2204. doi: 10.1210/jc.2005-2498
20. Hla T, Neilson K. Human cyclooxygenase-2 cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; **89**(16): 7384-7388.
21. Singh B, Lucci A. Role of cyclooxygenase-2 in breast cancer. *J Surg Res* 2002; **108**(1): 173-179. doi: 10.1006/jsre.2002.6532
22. Trifan OC, Hla T. Cyclooxygenase-2 modulates cellular growth and promotes tumorigenesis. *J Cell Mol Med* 2003; **7**(3): 207–222.
23. Dannenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO. Inhibition of cyclooxygenase-2: an approach to prevention of cancer. *Lancet Oncol* 2001; **2**: 544–551. doi: 10.1016/S1470-2045(01)00488-0
24. Thun MJ, Henley SJ, Gansler T. Inflammation and cancer: an epidemiological perspective. *Novartis Found Symp* 2004; **256**. doi: 10.1002/0470856734.ch2
25. Bucher C, Jordan P, Nickeleit V. Relative risk of malignant tumors in analgesic abusers. Effects of long-term intake of aspirin. *Clin Nephrol* 1999; **51**(2): 67-72.
26. Evans Jilly F, Oshima M, Murai N, Kargman S. Chemoprevention of intestinal polyposis in the Apcdelta716 mouse by rofecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor. *The American Journal of Gastroenterology* 2000; **95**(9): 2533. doi: 10.1016/S0002-9270(00)01572-0
27. Lee C, Ramirez JA, Guitart J. Expression of cyclooxygenase-2 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma during malignant melanoma progression. *J Cutan Pathol* 2008; **35**(11): 989-994. doi: 10.1111/j.1600-0560.2007.00939.x
28. Buckman SY, Gresham A, Hale P, Hruza G, Anast J, Masferrer J. COX-2 expression is induced by UVB exposure in human skin: implications for the development of skin cancer. *Carcinogenesis* 1998; **19**(5): 723-729. doi: 10.1093/carcin/19.5.723
29. Nijsten T, Geluyckens E, Colpaert C. Peroxisome proliferator-activated receptors in squamous cell carcinoma and its precursors. *J Cutan Pathol* 2005; **32**(5): 340-347. doi: 10.1111/j.0303-6987.2005.00345.x
30. Meyer S, Vogt T, Landthaler M. Cyclooxygenase 2 (COX-2) and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPARG) Are Stage-Dependent Prognostic Markers of Malignant Melanoma. *PPAR Res* 2009; **84**: 45-86. doi: 10.1155/2010/848645