

مقایسه تظاهر P27، Ki67، P53 در کارسینوم سلول سنگفرشی، کراتوز آکتینیک و بیماری بوون

شهبلا تلقینی: گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
منیره حلیمی: گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
حسین بایبوردی: گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

Email: dr_baybordi@yahoo.com

دریافت: ۲۳/۱/۸۸، پذیرش: ۱۶/۲/۸۹

چکیده

زمینه و اهداف: مرز بین یک ضایعه درجا و مهاجم چیست؟ پاسخ به این سوال گاهی از نظر هیستولوژیکی مشکل است. در این مطالعه ما بروز مارکرهای P27، Ki-67، P53 را در کارسینوم سلول سنگفرشی و کراتوز آکتینیک و بیماری بوون ارزیابی می‌کنیم.

روش بررسی: در این بررسی ۶۰ نمونه بیوبسی پوستی توسط رنگ آمیزی ایمونوهیستوکمیکال برای یافتن P27، Ki-67، P53 آزمایش می‌شود. از کل ۶۰ بیمار ۱۵ بیمار مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی، ۱۵ بیمار مبتلا به بیماری بوون و ۱۵ بیمار مبتلا به کراتوز آکتینیک بوده‌اند. باید متذکر شد که ۱۵ مورد از پوست نرمال بیمارانی که ماموپلاستی شده‌اند برداشته شده است.

یافته‌ها: شاخص Ki-67 در نمونه‌های بافت طبیعی، کراتوز آکتینیک، بیماری بوون و کارسینوم سلول سنگفرشی بترتیب در ۰/۸، ۲۳/۷، ۱۲/۳ و ۱۹/۳ درصد مثبت بود. بر این اساس مثبت شدن شاخص Ki-67 در نمونه‌های بافت طبیعی بطور معنی داری کمتر از نمونه‌های دیگر است. شاخص P27 در نمونه‌های بافت طبیعی، کراتوز آکتینیک، بیماری بوون و کارسینوم سلول سنگفرشی بترتیب در ۲۳/۴، ۲۶/۲، ۲۵/۹ و ۴/۵ درصد مثبت بود. بر این اساس شاخص P27 در نمونه‌های کارسینوم سلول سنگفرشی بطور معنی داری کمتر از نمونه‌های دیگر مثبت شده است. شاخص P53 در نمونه‌های کراتوز آکتینیک، بیماری بوون و کارسینوم سلول سنگفرشی بترتیب در ۲۶/۶، ۴۱/۸ و ۵۴/۶ درصد مثبت بود. در نمونه‌های بافت طبیعی مورد مثبتی از این نظر وجود نداشت. بر این اساس شاخص P53 در نمونه‌های بافت طبیعی کمتر از نمونه‌های دیگر و در نمونه کارسینوم سلول سنگفرشی بیشتر از نمونه‌های دیگر مثبت شده است.

نتیجه گیری: براساس نتایج مطالعه ما، بررسی کمی و کیفی (الگوی انتشار) بروز P27، Ki-67، P53 می‌تواند در افتراق ضایعات بدخیم و غیربدخیم ایپیدرمی کمک کننده باشد.

کلمات کلیدی: کارسینوم سلول سنگفرشی، کراتوز آکتینیک، بیماری بوون، نشانگر Ki-67، نشانگر P27، نشانگر P53

مقدمه

گردد و یا بر روی برخی ضایعات پیش سرطانی از قبل موجود (مانند کراتوز آکتینیک) سوار شود (۱-۳). کراتوز آکتینیک شایع ترین ضایعه جلدی پره مالیگنانت ناشی از تماس با آفتاب است (۴،۵). بیماری بوون در ابتدا یک نوع کارسینوم سلول سنگفرشی

کارسینوم سلول سنگفرشی دومین نوع سرطان پوست از نظر شیوع است که معمولا در نواحی در معرض آفتاب و در سنین میانسالی به بعد دیده می‌شود. این یک نوع تومور بدخیم کراتینوسیت‌های ایپیدرمی است که ممکن است بطور اولیه ایجاد

شاهد از بین نمونه های رسیده به بخش پاتولوژی مرکز آموزشی-درمانی سینای تبریز که پس از بررسی توسط دو پاتولوژیست با اپیدرم سالم تشخیص داده شده اند، بطور تصادفی انتخاب گردیده اند. سایر موارد از بین نمونه های رسیده به بخش پاتولوژی مرکز آموزشی-درمانی سینای تبریز که پس از بررسی پاتولوژیک توسط دو پاتولوژیست تشخیص قطعی داده شده بودند، بطور تصادفی انتخاب شده اند. نمونه های قالب پارافینی کارسینوم سلول سنگفرشی (تهاجم قطعی کراتینوسیت های آتیپیک بدون درم)، کراتوز آکتینیک، بیماری بوون و نمونه های پوست طبیعی به روش ایمونوهیستوشیمی رنگ آمیزی شده و مورد بررسی قرار گرفتند. برشهای ۶ میکرونی از بلوکهای مورد نظر تهیه گردیده و رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی (روش avidine biotin peroxidase) در مورد هر یک از این برشها بعمل آمد. سپس بررسی لامهای آماده شده بوسیله میکروسکوپ نوری (۴۰۰ برابر بزرگنمایی) صورت گرفت. الگوی پخش رنگ آمیزی هسته ای مثبت Ki-67 در سه دسته تعریف گردید: محیطی (بصورت رنگ آمیزی هسته ای مثبت در لایه های بازال و پارابازال، بدون درگیری لایه گرانولر)، منتشر (بصورت رنگ آمیزی هسته ای مثبت در اکثریت سلول ها در سراسر ضخامت کامل اپیتلیوم) و تکه تکه^۶ یا موضعی (۱۲). شاخص طبقه بندی P27 از طریق شمارش هسته های رنگ شده و نشده با استفاده از میکرومتر grid-shaped eyepiece محاسبه گردید (۱۴). مطالعات ایمونوهیستوشیمی با استفاده از آنتی بادی مونوکلونال موشی ضد P53 صورت گرفت و درصد سلول های مثبت از نظر P53 تعیین شد. رنگ گرفتن قهوه ای تیره هسته های سلولی بعنوان نتیجه مثبت تلقی گردید (۱۳). با توجه به طبقه بندی شدت AK بصورت درگیری خفیف^۷ (گرفتاری یک سوم عمقی اپیدرم)، درگیری متوسط^۸ (گرفتاری دو سوم عمقی اپیدرم) و درگیری شدید^۹ (گرفتاری کل اپیدرم) (۹)، در نمونه های AK و شاهد بررسی سلول های دو ناحیه دوسوم سطحی و یک سوم عمقی اپیدرم بصورت جداگانه از نظر بروز نشانگرها صورت گرفت. بدلیل بی معنی بودن تقسیم بندی نمونه های SCC از این نظر، طبقه بندی مربوطه در این گروه صورت نگرفت. بدلیل اینکه نمونه های گروه شاهد از بین نمونه های رسیده به بخش پاتولوژی که پس از بررسی توسط دو پاتولوژیست "با اپیدرم سالم" گزارش شده اند، انتخاب شده اند، مورد خاص اخلاقی وجود نداشته است. این مطالعه به تصویب کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی تبریز رسیده است. داده های به دست آمده بصورت میانگین ± انحراف معیار و نیز فراوانی و درصد بیان شده است. برنامه آماری بکار رفته SPSSTM نسخه ۱۵ است. متغیرهای کمی با استفاده از One-way ANOVA مقایسه شدند. مقایسه در مورد متغیرهای کیفی توسط Contingency Tables و با استفاده از Chi-Square Test و یا Fisher's Exact Test بر حسب شرایط صورت گرفته است. در تمامی موارد مورد مطالعه، نتایج در صورت دارا بودن $P \leq 0.05$ از نظر آماری معنی دار شناخته شدند.

درجا محسوب می گردید که پتانسیل گسترش جانبی دارد. امروزه پره نئوپلاستیک بودن این ضایعه کمرنگ شده است (۸-۶). در آتیپیک های کراتینوسیتی، ورود سلولهای غیرطبیعی بدون درم رتیکولر و جداشدگی آشیانه های منفرد کراتینوسیتی از لایه های تحتانی اپیدرم، معیارهایی هستند که عموماً جهت شناسایی تهاجم بکار می روند (۹). راهبرد سنتی "عبور سلول های بدخیم از غشاء پایه، متمایز کننده کارسینوم سلول سنگفرشی مهاجم از آکانتوز آکتینیک" در وضعیت هایی که در آن نتوان غشاء پایه را براحتی تعریف نمود، کاربرد ندارد. بافت متلاشی^۱، وجود ارتشاح شدید التهابی و یا کوچک بودن نمونه از جمله این وضعیت ها می باشند (۱۱، ۱۰). برخی ترکیبات کیناز سیکلینی یا وابسته به سیکلین، نقش بسیار مهمی در تنظیم چرخه سلولی ایفاء می کنند. P27 می تواند تعدادی از این کینازهای وابسته به سیکلین را مهار نماید. بنابراین ممکن است باعث توقف سلولهای یوکاریوتی در مرحله خاموشی^۲ گردد. از طرف دیگر، آنتی بادی مونوکلونال Ki-67، آنتی ژنی هسته ای بنام Ki-67 را شناسایی کرده است که در ارتباط نزدیک با تکثیر سلولی می باشد. این آنتی ژن در تمامی مراحل تکثیر سلولی (فاز G1, S, G2, M) تظاهر یافته و در سلول های در حال استراحت (G0 Phase) دیده نمی شود (۱۲). بررسی وجود P27، بعنوان نشانگر سکوت سلولی، و Ki-67، بعنوان نشانگر تکثیر آن، اخیراً در برخی مطالعات جهت بررسی این دسته از آتیپیک های وابسته به اپیدرم خصوصاً در ضایعات مبهم از نظر تشخیصی بکار رفته اند. از نظم خارج شدن عملی ژن سرکوب کننده تومور با نام P53 بعنوان مکانیسم اصلی از دست رفتن کنترل چرخه سلولی در بسیاری از بدخیمی های انسانی مطرح شده است (۱۳). تا جایی که ما بررسی نمودیم تاکنون مطالعه ای به بررسی تغییرات این ژن در سه بیماری مورد نظر ما نپرداخته است. با توجه به مطالب مذکور و نیز بدیع بودن موضوع، بر آن شدیم تا در یک مطالعه به بررسی این سه نشانگر (P27, Ki-67, P53) در نمونه های کارسینوم سلول سنگفرشی، کراتوز آکتینیک و بیماری بوون و قابلیت استفاده از آنها در افتراق ضایعات درجا از مهاجم پردازیم.

مواد و روشها

در یک مطالعه توصیفی-تحلیلی، نمونه های پوست از ۶۰ نفر در ۴ گروه ۱۵ نفری نمونه کارسینوم سلول سنگفرشی^۳، نمونه کراتوز آکتینیک^۴، نمونه بیماری بوون^۵ و نمونه سالم (گروه شاهد) مورد بررسی قرار گرفتند. مکان انجام پژوهش درمانگاه و بخش پاتولوژی مرکز آموزشی-درمانی سینای تبریز بوده است. مدت زمان انجام مطالعه ۱۳ ماه بوده است (۱۳۸۷-۱۳۸۶). در این مطالعه، جمعیت مورد بررسی (هدف) تک تک سلولها بوده اند که آیا Ki67 و P27 را بروز می دهند یا نه و آیا واکنش ایمنی ژن P53 وجود دارد یا خیر و نظر به اینکه در هر نمونه بیوپسی مورد بررسی بیش از ۵۰۰ سلول قابل بررسی می باشد، عملاً جمعیت تحت مطالعه (سلولها) بالغ بر ۳۰۰۰ سلول بوده است. نمونه های

- | | |
|----------------------------------|----------------|
| 1. fragmented | 6. Patchy |
| 2. Go Phase | 7. Mild AK |
| 3. Squamous Cell Carcinoma (SCC) | 8. Moderate AK |
| 4. Actinic Keratosis (AK) | 9. Severe AK |
| 5. Bowen Disease (BD) | |

نتایج

مشخصات بیماران بررسی شده در جدول شماره ۱ خلاصه شده است. بر این اساس تفاوت معنی دار آماری بین سه گروه وجود نداشت.

Ki67

از نظر بروز Ki67 در نمونه های اخذ شده از دوسوم سطحی اپیدرم، در گروه AK از مجموع ۸۶۴ سلول، ۷۳ (۸/۴ درصد) مورد و در گروه BD از مجموع ۴۴۱۰ سلول، ۵۷۲ (۱۳ درصد) مورد مثبت بودند. در گروه شاهد از مجموع ۱۱۲۵ سلول مورد مثبت وجود نداشت. درصد فراوانی موارد مثبت از نظر Ki67 در بررسی سلول های دو سوم سطحی در گروه BD از همه بیشتر و در گروه شاهد از همه کمتر بود ($p < 0/001$). در نمونه های بررسی شده در یک سوم عمقی اپیدرم، در گروه AK از مجموع ۲۶۳۲ سلول، ۷۵۷ (۲۸/۸) مورد، در گروه BD از مجموع ۱۲۵۵۲ سلول، ۱۵۱۱ (۱۲) مورد و در گروه شاهد از مجموع ۶۲۶۱ سلول، ۶۲ (۱) مورد از نظر Ki67 مثبت بودند. درصد فراوانی موارد مثبت از نظر Ki67 در بررسی سلول های یک سوم عمقی در گروه AK از همه بیشتر و در گروه شاهد از همه کمتر بود ($p < 0/001$). درون گروهی از نظر میزان بروز Ki67، در گروه AK درصد موارد مثبت در قسمت عمقی بطور معنی داری بیشتر از قسمت سطحی بود ($p < 0/001$)؛ در گروه BD از این نظر تفاوت معنی داری بین قسمت عمقی و سطحی وجود نداشت ($p = 0/105$) و در گروه شاهد درصد سلول های مثبت در قسمت عمقی بطور معنی داری بیشتر از قسمت سطحی بود ($p < 0/001$). بطور کلی در گروه SCC از مجموع ۴۸۷۱ سلول ۹۴۲ (۱۹/۳) مورد، در گروه AK از مجموع ۳۴۹۸ سلول ۸۳۰ (۲۳/۷) مورد، در گروه BD از مجموع ۱۶۹۶۲ سلول ۲۰۸۳ (۱۲/۳) مورد و در گروه شاهد از مجموع ۷۳۸۶ سلول ۶۲ (۰/۸) مورد از نظر Ki67 مثبت بودند. بر این اساس درصد فراوانی موارد مثبت از نظر Ki67 در گروه AK از همه بیشتر و در گروه شاهد از همه کمتر بود ($p < 0/001$). درصد فراوانی موارد مثبت از نظر بروز Ki67 در یک سوم عمقی گروه AK بطور معنی داری بیشتر از گروه SCC و در قسمت عمقی گروه BD و شاهد بطور معنی داری کمتر از گروه SCC بود (در تمام موارد $p < 0/001$).

P27

از نظر بروز P27 در نمونه های اخذ شده از دوسوم سطحی اپیدرم، در گروه AK از مجموع ۱۱۱۱ سلول ۶۵۵ (۵۹) مورد، در گروه BD از مجموع ۶۷۲۳ سلول ۲۱۳۴ (۳۱/۷) مورد و در گروه شاهد از مجموع ۱۱۲۵ سلول ۹۵۷ (۸۵/۱) مورد مثبت بودند. درصد فراوانی موارد مثبت از نظر P27 در بررسی سلول های دوسوم سطحی در گروه شاهد از همه بیشتر و در گروه BD از همه کمتر بود ($p < 0/001$). در نمونه های بررسی شده در یک سوم عمقی اپیدرم در گروه AK از مجموع ۲۶۹۱ سلول ۳۴۰ (۱۲/۶) مورد، در گروه BD از مجموع ۱۴۸۴۱ سلول ۳۴۶۰

(۲۳/۳) مورد و در گروه شاهد از مجموع ۶۲۶۱ سلول ۷۷۲ (۱۲/۳) مورد از نظر P27 مثبت بودند. درصد فراوانی موارد مثبت از نظر P27 در بررسی سلول های یک سوم عمقی در گروه BD از همه بیشتر بود ($p < 0/001$). در مقایسه درون گروهی از نظر میزان بروز P27 در هر سه گروه درصد فراوانی سلول های مثبت در قسمت سطحی بطور معنی داری بیشتر از قسمت عمقی بود (در تمام موارد $p < 0/001$). بطور کلی در گروه SCC از مجموع ۷۹۴۳ سلول ۳۵۵ (۴/۵) مورد، در گروه AK از مجموع ۳۸۰۲ سلول ۹۹۵ (۲۶/۲) مورد، در گروه BD از مجموع ۲۱۵۶۴ سلول ۵۵۹۴ (۲۵/۹) مورد و در گروه شاهد از مجموع ۷۳۸۶ سلول ۱۷۲۹ (۲۳/۴) مورد از نظر P27 مثبت بودند. درصد فراوانی موارد مثبت از نظر P27 در گروه SCC از همه کمتر بود ($p < 0/001$). درصد فراوانی موارد مثبت از نظر بروز P27 در یک سوم عمقی گروه AK، BD و شاهد بطور معنی داری بیشتر از گروه SCC بود (در تمام موارد $p < 0/001$).

P53

از نظر بروز P53 در نمونه های اخذ شده از دوسوم سطحی اپیدرم، در گروه AK از مجموع ۸۶۱ سلول ۶۹ (۸) مورد و در گروه BD از مجموع ۷۶۲ سلول ۲۱۲ (۲۷/۸) مورد مثبت بودند. در گروه شاهد از مجموع ۱۱۲۵ سلول مورد مثبتی وجود نداشت. درصد فراوانی موارد مثبت از نظر P53 در بررسی سلول های دوسوم سطحی در گروه BD از همه بیشتر و در گروه شاهد از همه کمتر بود ($p < 0/001$). در نمونه های بررسی شده در یک سوم عمقی اپیدرم در گروه AK از مجموع ۲۵۵۰ سلول ۸۳۹ (۳۲/۹) مورد و در گروه BD از مجموع ۱۷۱۷ سلول ۸۲۳ (۴۷/۹) مورد از نظر بروز P53 مثبت بودند. در گروه شاهد از مجموع ۶۲۶۱ سلول مورد مثبتی وجود نداشت. درصد فراوانی موارد مثبت از نظر P53 در بررسی سلول های یک سوم عمقی در گروه BD از همه بیشتر و در گروه شاهد از همه کمتر بود ($p < 0/001$). در مقایسه درون گروهی از این نظر، در گروه AK و BD درصد فراوانی سلول های مثبت در قسمت عمقی بطور معنی داری بیشتر از قسمت سطحی بود (در هر دو مورد $p < 0/001$). در گروه شاهد تفاوت معنی داری بین قسمت عمقی و سطحی وجود نداشت ($p = 0/99$). بطور کلی در گروه SCC از مجموع ۵۷۱۲ سلول ۳۱۲۰ (۵۴/۶) مورد، در گروه AK از مجموع ۳۴۱۱ سلول ۹۰۸ (۲۶/۶) مورد و در گروه BD از مجموع ۲۴۷۹ سلول ۱۰۳۵ (۴۱/۸) مورد از نظر بروز P53 مثبت بودند. در گروه شاهد از مجموع ۷۳۸۶ سلول مورد مثبت وجود نداشت.

جدول شماره ۱: مشخصات بیماران بررسی شده در گروه های مختلف

متغیر	کارسینوم سلول سنگفرشی	کراتوز آکتینیک	بیماری بوون	نمونه طبیعی	p-value
جنسیت	مذکر	۷ (۴۶٪)	۱۰ (۶۶٪)	۳ (۲۰٪)	۰/۰۷
سن (سال)	۵۲/۸۷±۷/۰۵	۵۷/۳۳±۹/۲۳	۵۹/۵۳±۱۴/۲۸	۵۱/۴۰±۱۶/۹۰	۰/۲۵
مدت آغاز بیماری (سال)	۱/۸۰±۰/۹۹	۲/۵۳±۳/۰۴	۲/۶۳±۲/۲۹	-	۰/۵۵

جدول شماره ۲: مقایسه درصد میزان بروز پارامترهای بررسی شده در پوست طبیعی و پوست طبیعی جنب ضایعه

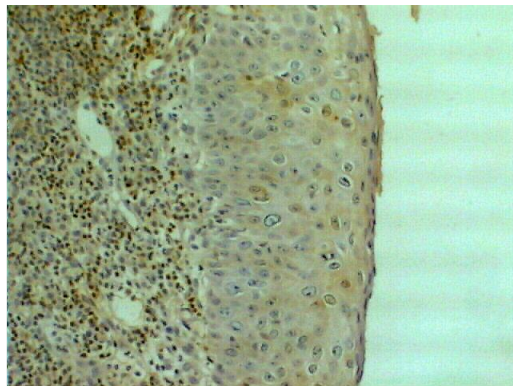
پارامتر	طبیعی	جنب بوون	جنب کراتوز آکتینیک	جنب کارسینوم سلول سنگفرشی	P1	P2	P3
P27	۲۰/۶	۲۲/۲	۲۴	۲۶/۹	۰/۱۶	۰/۰۷	<۰/۰۰۱
Ki-67	۰/۸	۱/۶	۹/۲	۷	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
P53	۰	۰	۰	۰	۱	۱	۱

p<۰/۰۵ معنی دار است.

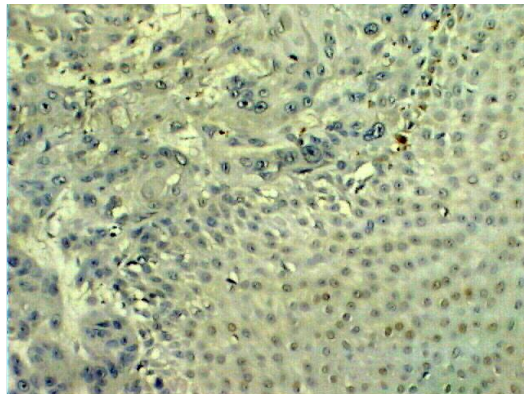
P1: طبیعی × جنب بوون

P2: طبیعی × جنب کراتوز آکتینیک

P3: طبیعی × جنب کارسینوم سلول سنگفرشی



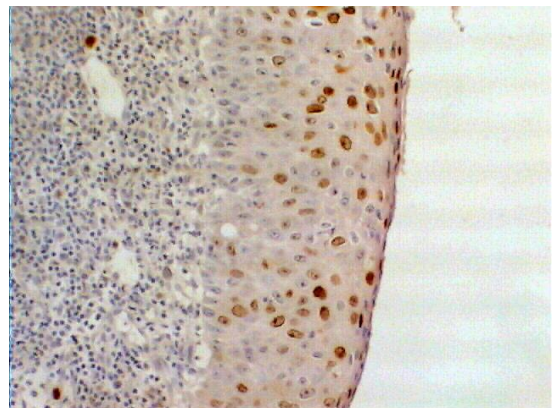
شکل ۲: تومور مارکر P27 در بیماری بوون



شکل ۳: تومور مارکر P27 در اسکواموس سل کامینیرم

درصد فراوانی موارد مثبت از نظر P53 در گروه SCC از همه بیشتر و در گروه شاهد از همه کمتر بود (p<۰/۰۰۱). درصد فراوانی موارد مثبت از نظر بروز P53 در یک سوم عمقی گروه AK, BD و شاهد بطور معنی داری کمتر از گروه SCC بود (در تمام موارد p<۰/۰۰۱).

مقایسه میزان بروز پارامترها در پوست طبیعی و پوست طبیعی جنب ضایعه در جدول شماره ۲ خلاصه شده است. بر این اساس در هر سه بیماری از نظر بروز P27 و P53 تفاوتی بین پوست سالم جنب ضایعه و پوست طبیعی وجود نداشت؛ ولی میزان بروز Ki67 در پوست طبیعی جنب ضایعه بطور معنی داری بیشتر بود. در نواحی تمایز یافته^۱ نمونه های SCC، میزان بروز P27 و Ki67 بترتیب ۱۰٪ (۳۰۸ مورد مثبت در ۳۰۷۲ سلول) و ۰/۳٪ (۸ مورد مثبت در ۳۰۷۲ سلول) بود. در مقایسه با میزان بروز این دو فاکتور در یک سوم عمقی اپیدرم در گروه های دیگر، میزان بروز P27 در گروه AK (p=۰/۰۰۲)، BD (p<۰/۰۰۱) و شاهد (p<۰/۰۰۱) در بطور معنی داری بیشتر بود. همچنین میزان بروز Ki67 در یک سوم عمقی اپیدرم این سه گروه بطور معنی داری بیشتر بود (در تمام موارد p<۰/۰۰۱).



شکل ۱: تومور مارکر Ki67 در بیماری بوون

بحث

ما در این مطالعه به بررسی و مقایسه میزان بروز P27, Ki-67 و P53 در سه بیماری بوون (BD)، کراتوز آکتینیک (AK) و کارسینوم سلول سنگفرشی (SCC) و بافت طبیعی پوست پرداختیم. شاخص Ki-67 در نمونه های بافت طبیعی، BD، AK و SCC بترتیب در ۰/۸، ۲۳/۷، ۱۲/۳ و ۱۹/۳ درصد مثبت بود. بر این اساس، مثبت شدن شاخص Ki-67 در نمونه های بافت طبیعی

منوط به انجام بررسی های بعدی می باشد. در مطالعه فعلی شاخص P27 در نمونه های بافت طبیعی، AK، BD و SCC بترتیب در ۲۳/۴، ۲۶/۲، ۲۵/۹ و ۴/۵ درصد مثبت بود. بر این اساس شاخص P27 در نمونه های SCC بطور معنی داری کمتر از نمونه های دیگر مثبت بوده است. با توجه به این موارد می توان نتیجه گیری نمود که استفاده از پارامتر کمی بروز P27 بخوبی می تواند در افتراق اولیه SCC از سایر ضایعات غیربدخیم (درجا) و پوست سالم بکار گرفته شود. بعبارت دیگر پایین بودن بروز این پارامتر احتمال وجود بدخیمی را افزایش می دهد. در مطالعه Oh و همکاران نیز نتیجه مشابهی در این زمینه گزارش شده است. در این مطالعه متوسط میزان بروز P27 در نمونه های SCC بطور معنی داری کمتر از متوسط بروز آن در نمونه های طبیعی، AK و BD بوده است (۱۴). ما در این مطالعه الگوی پخش سلول های P27+ را در دو منطقه سطحی و عمقی اپیدرم در نمونه های AK و BD نیز بطور جداگانه مقایسه نمودیم. نتیجه جالب توجهی که در این زمینه بدست آمد نشان داد که تراکم بروز این پارامتر در نواحی عمقی نمونه های BD از سایر موارد بیشتر است و در نواحی سطحی نیز در پوست نرمال از بقیه موارد بیشتر و در BD کمتر است. از سوی دیگر در مقایسه نتایج بررسی در هر قسمتی از اپیدرم نشان داد که در تمامی موارد درصد بروز P27 در نمونه های AK، BD و بافت سالم بطور معنی داری بیشتر از میزان بروز این پارامتر در نمونه های SCC است. بنابراین بررسی کمی بروز P27 بدون توجه به محل بررسی (یک سوم عمقی اپیدرم باشد یا از دو سوم سطحی نمونه گیری شده باشد) می تواند جهت افتراق بدخیمی از سایر ضایعات بکار گرفته شود. انجام مطالعات بعدی با حجم نمونه بالا در رسیدن به نقاط برش متمایز کننده ضروری است. در این مطالعه شاخص P53 در نمونه های AK، BD و SCC بترتیب در ۲۶/۶، ۴۱/۸ و ۵۴/۶ درصد مثبت بود. در نمونه های بافت طبیعی مورد مثبتی از این نظر وجود نداشت. بر این اساس شاخص P53 در نمونه های بافت طبیعی کمتر از نمونه های دیگر و در نمونه SCC بیشتر از نمونه های دیگر مثبت شده است. Park و همکاران در یک مطالعه به بررسی بروز P53 در نمونه های SCC و AK پرداختند. در این مطالعه تمامی نمونه های SCC از نظر P53 مثبت بودند، در حالی که مثبت شدن سلول های AK از این نظر بطور پراکنده و موضعی گزارش گردید (۱۸). Ortonne و همکاران نیز در یک مطالعه نشان دادند که مثبت شدن سلول ها از نظر P53 در نمونه های SCC و AK بیش از بقیه ضایعات پوستی است (۱۹). در بررسی های صورت گرفته توسط Jonason و Muzio نیز وجود P53 در پاتوزن SCC مهم تلقی شده است (۲۰، ۲۱). با توجه به نتایج مطالعات اشاره شده، بنظر می رسد نتایج مطالعه فعلی نیز در همین راستا قرار دارد. بعبارت دیگر بالا بودن میزان مثبت شدن P53 بیشتر به نفع بدخیمی می باشد. در مقایسه لایه های سطحی نمونه های BD، AK و بافت طبیعی، میزان مثبت شدن P53 در هر دو سطح در نمونه های BD بیشتر از

بطور معنی داری کمتر از نمونه های دیگر بوده است. با توجه به این نتیجه، بنظر می رسد استفاده از پارامتر کمی در این زمینه تنها در تمایز بافت طبیعی از بافت غیرطبیعی کاربرد داشته و نمی تواند با دقت بالا معیاری جهت افتراق ضایعات پیش سرطانی و سرطانی بدست دهد. Tili و همکاران در یک مطالعه به بررسی میزان بروز Ki-67 در نمونه های پوست طبیعی، AK و SCC پرداختند. در این مطالعه میزان بروز این پارامتر در پوست نرمال در حدود ۱۱٪، در نمونه AK در حدود ۳۱٪ و در نمونه SCC در حدود ۱۸٪ گزارش گردید (۱۵). همان گونه که ملاحظه می گردد نتایج گزارش شده در این مطالعه (بویژه از نظر برتری سه نمونه بر یکدیگر) با نتایج مطالعه ما تقریباً همخوانی دارد. Hirai و همکاران در یک مطالعه نشان دادند که تفاوتی از نظر بروز Ki-67 بین نمونه های BD و SCC وجود ندارد. همچنین میزان بروز این پارامتر در نمونه های پوست طبیعی کمتر از بقیه موارد بوده است (۱۶). Oh و همکاران در یک مطالعه به بررسی میزان و نحوه بروز Ki-67 در نمونه های BD، AK و SCC پرداختند. در این مطالعه نتیجه گیری شده است که نحوه بروز (الگوی انتشار) Ki-67 می تواند در تمایز این سه دسته از ضایعات کمک کننده باشد. در این مطالعه انتشار سلول های Ki-67+ در نمونه BD بصورت منتشر در کل ضخامت اپیدرم بوده است، در حالی که در نمونه های SCC و AK کل ضخامت درگیر نبوده است. در نهایت نتیجه گیری شده است که استفاده از این الگوی انتشار خاص می تواند در متمایز کردن BD از سایر ضایعات کمک کننده باشد (۱۴). Bordbar و همکاران نیز در یک مطالعه دیگر ۱۴ نمونه پوست سالم، ۱۵ نمونه AK، ۱۰ نمونه BD و ۷ نمونه SCC را از نظر الگوی بروز Ki-67 مورد ارزیابی قرار دادند. در این مطالعه تجمع نسبی سلول های Ki-67+ در پوست نرمال در محدوده نواحی بازال و سوپرابازال، در نمونه های AK در محدوده نواحی بازال و سوپرابازال و نواحی میانی اپیدرم، در نمونه های BD در تمام ضخامت اپیدرم و در SCC بطور پراکنده گزارش شده است (۱۷). ما نیز در این مطالعه جهت بررسی نسبی الگوی انتشار سلول های Ki-67+ در سه نمونه بافت طبیعی، BD و AK، نمونه ها را در دو قسمت سطحی و عمقی اپیدرم بطور جداگانه مقایسه نمودیم. در نمونه های سطحی، تراکم سلول های Ki-67+ در نمونه BD بطور معنی داری بیش تر از AK بود؛ در حالی که در نمونه های عمقی، این برتری با AK بوده است. بعبارت دیگر این یافته همراستا با نتایج مطالعات اشاره شده می باشد؛ یعنی وجود تراکم بالایی از سلول های Ki-67+ در طبقات سطحی اپیدرم مطرح کننده وجود بیماری بوون می باشد. بنابراین، استفاده از پارامتر کمی در مورد بروز Ki-67 جهت افتراق بیماری از بافت طبیعی پوست و استفاده از پارامتر الگوی انتشار سلول های Ki-67+ جهت افتراق بیماری بوون از سایر پاتولوژی ها کمک کننده می باشد. همچنین بروز بالای Ki-67 بویژه در نواحی بازال و پارابازال بیشتر به نفع AK است. با توجه به معدود بودن مطالعات مشابه در زمینه بررسی کمی بروز Ki-67، نتیجه گیری های قطعی

بروز P53 و بویژه P27 می تواند بخوبی جهت افتراق SCC از سایر ضایعات پیش بدخیم کمک کننده باشد. الگوی بروز Ki-67 نیز جهت تمایز اولیه انواع ضایعات پیش بدخیم و بدخیم قابل استفاده می باشد. استفاده از این سه پارامتر بطور همزمان می تواند جهت بررسی نمونه های فراگماتنه و یا فاقد غشاء پایه بکار گرفته شده و نیاز به بیوپسی مجدد را رفع نماید.

دو نمونه دیگر بوده است. مطالعه مشابهی در زمینه بررسی الگوی انتشار سلول های P53+ در نمونه های بررسی شده وجود ندارد. همچنین در مقایسه نمونه های لایه عمقی اپیدرم در AK، BD و بافت طبیعی با میزان بروز این پارامتر در نمونه SCC نشان دهنده برتری بروز در نمونه های بدخیم بوده است. در انتها بر اساس نتایج مطالعه فعلی می توان نتیجه گیری نمود که استفاده از میزان

References:

- of extracellular antimetastatic signals. *Cell* 1994; **78**: 59-66.
13. Fernandez-Figueras MT, Casalots A. Proliferating trichilemmal tumor: P53 immunoreactivity in association with p27 over-expression indicates a low-grade carcinoma profile. *Histopathology* 2001; **38**: 454-457.
 14. Oh CW, Penneys N. P27 and mib1 expression in actinic keratosis, Bowen disease, and squamous cell carcinoma. *Am J Dermatopathol* 2004; **26**(1): 22-26.
 15. Tilli CM, Ramaekers FC, Broers JL, Hutchison CJ, Neumann HA. Lamin expression in normal human skin, actinic keratosis, squamous cell carcinoma and basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2003; **148**(1): 102-119.
 16. Hirai K, Kumakiri M, Fujieda S, Sunaga H, Lao LM, Imamura Y, et al. Expression of granulocyte colony-stimulating factor and its receptor in epithelial skin tumors. *J Dermatol Sci* 2001; **25**(3): 179-188.
 17. Bordbar A, Dias D, Cabral A, Beck S, Boon ME. Assessment of cell proliferation in benign, premalignant and malignant skin lesions. *Appl Immunohistochem. Mol Morphol* 2007; **15**(2): 229-235.
 18. Park H, Min SK, Cho HD, Kim KH, Shin HS, Park YE. Expression profiles of p63, p53, survivin, and hTERT in skin tumors. *J Cutan Pathol* 2004; **31**: 544-549
 19. Ortonne JP. From actinic keratosis to squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol* 1995; **246**(61): 20-29.
 20. Jonason AS, Kunala S, Price GJ. Frequent clones of p53-mutated keratinocytes in normal human skin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 14025-14029.
 21. Muzio LL, Staibano S, Pannone G. Expression of the apoptosis inhibitor survivin in aggressive squamous cell carcinoma. *Exp Mol Pathol* 2001; **70**: 249-255.
 1. Miller DL, Weinstocks MA. No melanoma skin cancer in the United States: incidence. *J Am Acad Dermatol* 1994; **30**(5): 774-778.
 2. Takata M, Saida T. Early cancers of the skin: clinical, histopathological, and molecular characteristics. *Int J Clin Oncol* 2005; **6**: 391-397.
 3. Fernandez-Figueras MT, Puig L, Musulen E, Gilaberte M, Ferrandiz C, Lerma E, et al. Prognostic significance of p27, p45 and ki67 expression profiles in Merkel cell carcinoma, extracutaneous small cell carcinoma, and cutaneous squamous cell carcinoma. *Histopathology* 2005; **46**(6): 614-619.
 4. Cockerell CJ. Histopathology of incipient intraepidermal squamous cell carcinoma ("actinic keratosis"). *J Am Acad Dermatol* 2000; **42**(1): 11-17.
 5. Salasche SJ. Epidemiology of actinic keratoses and squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol* 2000; **42**(1): 4-7.
 6. Arbesman H, Ransohoff DF. Is Bowen's disease a predictor for the development of internal malignancy? *JAMA* 1987; **257**: 516-518.
 7. Jaeger AB, Gramkow A, Hjalgrim H. Bowen disease and risk of subsequent malignant neoplasms. *Arch Dermatol* 1999; **135**: 790-793.
 8. Arlette J, Trotter MJ. Squamous cell carcinoma in situ of the skin: history, presentation, biology and treatment. *Aust J Dermatol* 2004; **45**: 1-11.
 9. Weedon D. *Skin Pathology*. 1st ed. New York, Churchill Livingstone, 1998.
 10. Jones RE. Questions to the editorial board and other authorities. *Am J Dermatopathol* 1984; **6**: 301.
 11. Muzio LL, Pannone G, Leonardi R, Staibano S, Mignogna MD, De Rosa G, et al. Survivin, a potential early predictor of tumor progression in the oral mucosa. *J Dent Res* 2003; **82**(11): 923-928.
 12. Polyak K, Lee MH. Cloning of P27, a cyclin-dependant kinase inhibitor and a potential mediator