مقاله پژوهشی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال بیست و هفتم/شماره ۹۵/تیر ۱۳۸۸

بررسی کارایی آزمون بافتی CD44 و P53 در میزان عود کانسر ترانزیشنال سطحی منفرد و low grade مثانه

دکتر محمد یزدانی [*]، دکتر احمد رضا رفعتی [**]، دکتر مهتاب ضرغام [***]،
دکتر سیّد یعقوب صهری [**]، دکتر محمد هاتف خرمی [****]

[*] متخصص اورولوژی، دانشیار اورولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

[**] دستیار اورولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

[***] متخصص اورولوژی، استادیار اورولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

[****] متخصص اورولوژی، استادیار اورولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۱۰

تاریخ پذیرش: ۸۷/۶/۱۱

چکیده

مقدمه: تاکنون فاکتورهای پروگنوستیک زیادی جهت ارزیابی سیر بالینی و احتمال عود TCCهای سطحی low grade مثانه مطرح شده‌اند که مهمترین آنها grade و stage تومور می‌باشد. امروزه شناسایی پروتئین‌های بیش از حد تولید شده سلول‌های کانسری به کمک رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی جایگاه ویژه‌ای در تعیین پروگنوز کانسرهای مختلف پیدا کرده است.

روش‌ها: این مطالعه historical cohort بر روی بیمارانی که در فاصله زمانی بهمن ۸۲ تا مرداد ۸۵ در بیمارستان خورشید اصفهان با TURB تشخیص تومور سطحی منفرد low grade مثانه در آنها مطرح شد انجام گردید. بلوک‌های پارافینی ۶۰ بیمار مبتلا به TCC سطحی منفرد low grade مثانه با روش ایمنوهیستوشیمیایی از نظر CD44 و P53 بررسی و پیگیری بیماران با سیتوسکوپی‌های مکرر (هر ۳ ماه یک‌بار در سال اول، هر ۶ ما یک‌بار در سال دوم و سپس سالانه) انجام شد و موارد عود تومور مشخص CD44 و P53 و کارسینوم سلول ترانزیشنال (TCC)، رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمیایی شدند. سپس میزان عود تومور در هر یک از موارد P53 منفی و CD44 مثبت و CD44 منفی مشخص و با یکدیگر مقایسه شد.

یافته‌ها: از بین ۹۵ بیمار بررسی شده، ۶۰ بیمار (۴۹ مرد و ۱۱ زن) دارای تومور پاپیلری منفرد و low grade بودند. میانگین سنی بیماران ۵۹/۷ سال بود. از ۶۰ بیمار مورد مطالعه ۳۲ بیمار دچار عود شدند (۵۳٪). میانگین فاصله زمانی از عمل جراحی تا زمان عود ۴/۶ ± ۸/۸ ماه بود. درصد عود در بیماران P53 مثبت ۶۴/۵۲٪ و در گروه P53 منفی ۴۱/۲۸٪ بود (P = ۰/۰۷). درصد عود در بیماران CD44 مثبت ۷۲٪ و در گروه CD44 منفی ۴۰٪ بود (P < ۰/۰۲). اما مهمتر این که درصد عود تومور در بیمارانی که نتیجه هر دو تست آنها مثبت بود ۸۷/۵٪ و در بیمارانی که نتیجه هر دو تست منفی بود ۴۰٪ بود (P < ۰/۰۲).

نتیجه‌گیری: CD44 فاکتور پروگنوستیک سودمندی برای پیش‌بینی عود تومورهای سطحی منفرد low grade مثانه می‌باشد اما P53 از این نظر ارزش ندارد.

واژگان کلیدی: **CD44، P53، کارسینوم سلول ترانزیشنال (TCC)، رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمیایی**

تعداد صفحات: ۱۶

تعداد جدول‌ها: ۵

تعداد نمودارها: –

تعداد منابع: ۳۷

آدرس نویسندهٔ مسئول: دکتر سیّد یعقوب صهری، دستیار اورولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
E-mail: dr_sehri@yahoo.com

www.mui.ac.ir

مقدمه

اپیدمیولوژی

کانسر مثانه در هر سنی حتی در بچه‌ها ممکن است ایجاد شود، امّا بیشتر بیماری دوران میانسالی و پیری است. سن متوسط هنگام تشخیص در مردان ۶۹ سال و در خانم‌ها ۷۱ سال است (۱) و بروز آن با افزایش سن افزایش می‌یابد. در بالغین ۴۰-۳۰ سال کانسر مثانه بیشتر با هیستولوژی مطلوب و با رفتار کمتر تهاجمی نسبت به افراد مسن بروز می‌کند و پروگنوز بهتری دارد.

این بدخیمی در مردان ۳ برابر شایع‌تر از زنان است امّا به نظر می‌رسد که سیر آن در زنان مهاجم‌تر بوده، بقای عمر ۵ ساله ناشی از کانسر در مردان مبتلاء بیشتر از زنان است (۱). این اختلاف به‌خصوص در زنان سیاهپوست بارزتر است. کانسر مثانه از نظر بروز چهارمین کانسر شایع در مردان (پس از کانسرهای پروستات، ریه و کولورکتال) است و از نظر شیوع دومین کانسر شایع در مردان پس از کانسر پروستات محسوب می‌شود (۲). در خانم‌ها کانسر مثانه هشتمین کانسر شایع محسوب می‌شود و ۶/۲٪ از کل بدخیمی‌های مردان و ۲/۵٪ از کل بدخیمی‌های زنان را تشکیل می‌دهد (۳).

شیوع کانسر مثانه رو به افزایش است. این افزایش شیوع شاید مربوط به تغییر عادات زندگی، تماس بیشتر با مواد شیمیایی و صنعتی، مصرف دخانیات و افزایش طول عمر و متوسط سن جمعیت سالخوردگان باشد.

از نظر مرگ و میر نیز، کانسر مثانه ۲/۹٪ مرگ‌های ناشی از بدخیمی در مردان و ۱/۵٪ مرگ‌های ناشی از بدخیمی در خانم‌ها را تشکیل می‌دهد و هفتمین علّت مرگ ناشی از بدخیمی در مردان آمریکایی است (۳).

اتیولوژی و عوامل خطرساز

در مورد علّت و عوامل خطرساز ایجاد کانسر مثانه مجموعه‌ای از عوامل محیطی، عوامل ژنتیک، تغییرات مولکولی دخیل می‌باشند. از میان عوامل محیطی بیش از همه بر روی تماس‌های شغلی، مصرف سیگار و دخانیات و مصرف بی‌رویه‌ی مسکن‌های حاوی فناستین تأکید می‌شود. تماس‌های شغلی در ۲۰٪ موارد کانسر مثانه در آمریکا دخیل است (۴). مهمترین مواد شیمیایی که در کانسرهای مثانه ناشی از تماس شغلی مقصر شناخته شده‌اند عبارتند از رنگ‌های آنیلینی، ۲-نفتیل آمین، ۴-آمینوبای فنیل، گازهای حاصل از احتراق و دوده‌ی زغال سنگ، هیدروکربن‌های آلیفاتیک کلرینه و آلدئیدهایی مانند آکدولین که در رنگ‌های شیمیایی، صنایع لاستیک و منسوجات به کار می‌روند.

به نظر می‌رسد سیگار مهمترین عامل محیطی ایجاد کانسر مثانه است به طوری که خطر بروز کانسر مثانه در سیگاری‌های ۴ برابر غیر سیگاری‌ها است (۵) و حدود یک سوم موارد کانسر مثانه را با سیگار مرتبط می‌دانند (۶). مهمترین مواد کارسینوژن موجود در سیگار که آنها را در ایجاد کانسر مثانه مقصر دانسته‌اند نیتروزآمین‌ها، ۲-نفتیل آمین و به ویژه ۴-آمینوبای فنیل می‌باشد. پس از ترک سیگار خطر ایجاد کانسر مثانه تا ۲۰ سال بعد باقی خواهد ماند که این زمان بسیار طولانی‌تر از موارد مشابه برای بیماری کاردیوواسکولر و کانسر ریه می‌باشد. سایر اشکال مصرف تنباکو (غیر از سیگار) با افزایش ریسک کمتری همراهی دارند.

از سایر عوامل محیطی مولّد کانسر مثانه می‌توان به عفونت‌های مزمن مثانه (مانند افرادی که به مدت طولانی کاتتر مجرا داشته‌اند)، عفونت‌های شیستوزومیایی مثانه، پرتوتابی به لگن (در بیمارانی که به دلیل بدخیمی دیگری در لگن تحت پرتوتابی لگن قرار گرفته‌اند) و استفاده از سیکلوفسفامایید اشاره نمود.

www.mui.ac.ir

در مورد نقش توارث در ایجاد کانسرمثانه هنوز اختلاف نظر وجود دارد. اگر چه در برخی مطالعات رایج TCC مثانه در اقوام بیماران مبتلا به کانسر مثانه بیشتر بوده است (۷)، امّا به علت کثرت عوامل مخدوشگر (از جمله سیگار) در این مطالعات نمی‌توان به طور قطعی از نقش توارث در ایجاد کانسر دفاع نمود.

از تغییرات ژنتیکی که منجر به کانسر مثانه می‌شوند، می‌توان به فعّال شدن برخی از انکوژن‌ها (مثل انکوژن P21RAS) یا غیر فعّال شدن برخی ژن‌های سرکوب‌کننده‌ی ایجاد تومور (مثل ژن‌های Rb، PS3) اشاره نمود (۹-۸).

نوع سوّم مکانیسم‌های ژنتیکی ایجاد کانسر مثانه، بروز بیش از حد (Over expression) ژن‌های سالمی است که در تولید فاکتورهای رشد یا رسپتور آنها نقش دارند مانند ژن ERBB1 (که در بروز بیش از حد رسپتور EGF نقش دارد) و ژن ERBB2.

پاتولوژی

شایع‌ترین نوع کانسر مثانه در تمام سنین، تمام مناطق جغرافیایی و هر دو جنس، کانسر ترانزیشنال مثانه (TCC) است، به طوری که ۹۰٪ موارد کانسر مثانه را TCC تشکیل می‌دهد. انواع دیگر کانسر مثانه عبارتند از کارسینوم سلول سنگفرشی (SCC) و آدنوکارسینوم که شیوع آنها بسیار کمتر از TCC است. رشد تومور ترانزیشنال مثانه ممکن است با نمای گل‌کلمی و پایه‌دار (پاپیلری)، بدون پایه (Sessile) ارتشاحی و نفوذکننده (infiltrating)، ندولر، رشد مسطح داخل لایه‌ی اپی‌تلیال (CIS) و یا مخلوطی از نماهای فوق باشد. شایع‌ترین نمای رشد TCC مثانه، نمای پاپیلری است که ۷۰٪ موارد را تشکیل می‌دهد. نوع ندولر ۱۰٪ و نوع Mixed نیز ۲۰٪ موارد را تشکیل می‌دهند.

درجه‌بندی (grading) تومور ترانزیشنال مثانه بر اساس میزان آناپلازی سلول‌های تومور و تعداد لایه‌های اپی‌تلیوم در محل ضایعه است. بر این اساس تومورهای ترانزیشنال مثانه را به انواع TCC با تمایز خوب (گرید یک)، TCC با تمایز متوسط (گرید دو) و TCC با تمایز بد (گرید سه) تقسیم می‌کنند. ارتباط قوی بین گرید تومور با سرنوشت بیمار وجود دارد، به طوری که هر چه گرید بالاتر باشد عود و تهاجم تومور بیشتر است.

تومورهای با تمایز خوب و متوسط (low grade) منشأ مولکولی کاملاً متفاوتی از تومورهای با تمایز بد (Highgrade) دارند.

Staging

گسترش تومور مثانه ممکن است به طور مستقیم (با تهاجم به بافت‌های زیرین و بافت‌های اطراف مثانه و پروستات) یا از طریق متاستاز عروقی یا لنفاوی صورت گیرد. شایع‌ترین محل متاستاز لنفاوی، کبد و ریه است. همچنین کاشته شدن سلول‌های توموری در محل برش شکمی، اپی‌تلیوم برهنه شده‌ی مثانه (در اثر نمونه‌گیری از مخاط مثانه یا موارد دیگر)، حفره‌ی به‌جا مانده از رزکسیون اندوسکوپیک پروستات و یا مجرای آسیب دیده حین اعمال آندوسکوپیک گزارش شده است.

برای مرحله‌بندی (staging) گسترش تومور مثانه از سیستم TNM استفاده می‌شود. بر این اساس تومورهای ترانزیشنال مثانه به صورت زیر تقسیم‌بندی می‌شوند.

۱- **T** (تومور اوّلیه)

Ta: تومور پاپیلری محدود به اپی‌تلیوم مثانه

Tis: کارسینوم مثانه درجا

T1: تومور با تهاجم به لامیناپروپریا

T2: تومور با تهاجم به عضلات دیواره‌ی مثانه

T3: تومور با تهاجم به چربی اطراف مثانه

www.mui.ac.ir

T4: تومور با تهاجم به احشای لگنی، دیواره‌های لگنی یا احشای شکمی

N–۲ (درگیری غدد لنفاوی)

N1: فقط یک غده‌ی لنفاوی و درگیری با قطر کمتر یا مساوی ۲ سانتی‌متر

N2: درگیری چند غده‌ی لنفاوی که همگی قطر کمتر از ۲ سانتی‌متر یا درگیری فقط یک غده‌ی لنفاوی که قطر بزرگتر از ۲ و کمتر از ۵ سانتی‌متر دارند.

N3: درگیری غده‌ی لنفاوی با قطر بزرگتر از ۵ سانتی‌متر

M –۳ (متاستاز دور دست)

M0: فقدان متاستاز دوردست

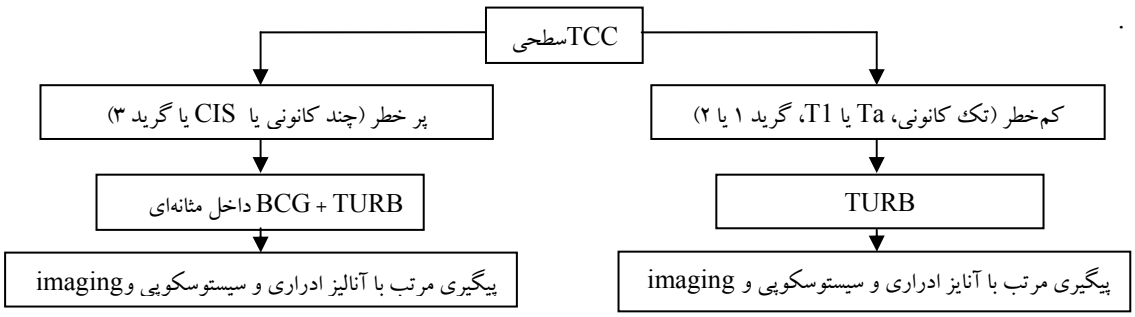
M1: وجود متاستاز دوردست

فاکتورهای پروگنوستیک

کانسرهای ترانزیشنال مثانه که در آنها درگیری عضلات دیواره‌ی مثانه رخ نداده است (یعنی Tis و T1 و Stage Ta) را کانسر سطحی یا non muscle invasive و در مقابل کانسرهایی که در آنها تهاجم به عضله رخ داده است (T2 Stage و بالاتر) را کانسر مهاجم (invasive) می‌نامند.

انواع Tcc سطحی را به دو دسته‌ی کم‌خطر (low risk) و پرخطر (high risk) تقسیم می‌کنند. گروه کم‌خطر (low risk) شامل TCCهای سطحی تک کانونی با T1 یا stage Ta و گرید ۱ یا ۲ می‌باشد و گروه پرخطر (high risk) Tccهای سطحی چند کانونی یا CIS یا گرید ۳ را شامل می‌شود. این تقسیم‌بندی به سرنوشت نهایی بیمار اشاره دارد زیرا رفتار این دو گروه بسیار با هم متفاوت و میزان تهاجمی شدن در گروه پرخطر بسیار بیشتر است و بر همین اساس درمان این دو گروه نیز با هم متفاوت است (نمودار ۱).

خوشبختانه حدود ۶۰٪ کانسرهای ترانزشینال مثانه که برای اولین‌بار تشخیص داده می‌شوند از گروه کم‌خطر هستند (۱۰) و درمان استاندارد فعلی برای این تومورها تراشیدن تومور از راه مجرا (TURB) است (۱۱). درمان‌های اضافه‌تر مثل تزریق BCG داخل مثانه برای این گروه انجام نمی‌شود و موضوع مطالعه‌ی ما همین گروه است. در مقابل، برای TCCهای سطحی پرخطر (چند کانونی یا CIS یا گرید ۳) علاوه بر TURB نیاز به درمان با BCG داخل مثانه‌ای نیز هست زیرا میزان عود و تهاجمی شدن تومور در این گروه بسیار بیشتر از گروه کم‌خطر است. حتی برخی پا را از این فراتر گذاشته، در TCCهای سطحی پرخطر از همان ابتدا یا در صورت شکست درمان اولیه، درمان‌های تهاجمی از قبیل خارج کردن مثانه (سیستکتومی) را توصیه نموده‌اند (۱۱).



نمودار ۱. نمای برخورد با تومورهای سطحی مثانه

www.mui.ac.ir

اما متأسفانه اکثر بیماران مبتلا به TCC سطحی کم‌خطر (۷۰-۵۰ ٪ بیماران) که فقط تحت TURB قرار می‌گیرند دچار عود تومور می‌شوند (۱۲) و در ۲۵-۱۶٪ از این موارد عود، تومور سطحی با گرید بالاتری عود می‌کند (۱۳) و اکثر این عودها طی یک سال اول پس از TURB رخ می‌دهند (۱۴). بنابراین اکثر صاحبنظران با پیگیری این بیمار را با سیستوسکوپی وآنالیز ادراری به طور مرتب (هر ۳ ماه یک‌بار) در طی سال اول پس از درمان توصیه می‌کنند و در صورت عدم عود، پزشک می‌تواند بر حسب قضاوت بالینی خود، فواصل پیگیری را افزایش دهد. از آن جا که رفتار این تورموهای سطحی بسیار متفاوت است (از عدم عود تا عود سریع با گرید یا stage بالاتر)، فاکتورهای پروگنوستیک متعددی ذکر شده‌اند که به اختصار ذکر می‌شوند:

الف) پارامترهای بالینی و پاتولوژیک

این فاکتورها مفیدترین عوامل پیشگویی‌کننده رفتار آینده‌ی تومور از نظر عود بپیشرفت هستند و مهمترین آنها عبارتند از Stage تومور، grade تومور، تعداد ضایعات توموری، وجود یا عدم وجود تهاجم لنفوواسکولار و وضعیت یوروتلیوم باقی‌مانده از نظر وجود بافت توموری و کانسر insitu (۱۷-۱۵، ۱۲).

ب) پارامترهای آزمایشگاهی

بررسی ادرار از نظر وجود سلول‌های ترانزیشنال بدخیم یکی از روش‌های تشخیصی در TCC مثانه است. سلول‌های توموری هسته‌های بزرگ با کروماتین خشن و نامنظم دارند. مشاهده‌ی سلول‌های ترانزیشنال غیرطبیعی (توموری) می‌توانند در ادراری که بیمار به طور طبیعی تخلیه می‌کند یا در مایع حاصل از شستشوی مثانه صورت گیرد که روش دوم دقیق‌تر و احتمال کشف کانسر مثانه در این روش بیشتر است. به طوری که حساسیت یک نمونه‌ی حاصل از شستشوی مثانه را معادل ۳ نمونه‌ی ادرار تخلیه شده طبیعی دانسته‌اند.

اساس این تست، کشف سلول‌های جدا شده از تومور در ادرار است و چون دیده شده که در تومورهای با گرید بالاتر احتمال مثبت شدن سیتولوژی ادرار بیشتر است. برخی چنین مطرح کرده‌اند که هر چه تومور تمایز یافته‌تر باشد چسبندگی سلول‌های توموری به یکدیگر و احتمال مثبت شدن سیتولوژی ادرار کمتر خواهد بود.

پ) آنتی‌ژن‌های وابسته به تومور

آنتی‌ژن‌های توموری مختلفی به‌عنوان فاکتور پروگنوستیک در TCC مثانه مطرح شده‌اند، که معروفترین آنها عبارتند از

۱- M344: روی سلول‌های توموری که به داخل ادرار ریزش کرده‌اند یافت می‌شود این آنتی‌ژن در ۷۰٪ کانسرهای سطحی مثانه یافت می‌شود و به ندرت در کانسرهای مهاجم وجود دارد (۱۸) یعنی وجود آن به نفع پروگنوز بهتر و تهاجم کمتر تومور است.

۲- T138: این آنتی‌ژن نیز روی سلول‌های ریزش کرده‌ی توموری یافت می‌شود و وجود آن با افزایش عود و کاهش بقای عمر بیمار مرتبط است (۱۹).

A211 19: این آنتی‌ژن روی ۲۵٪ سلول‌های چتری طبیعی مثانه نیز وجود دارد و اگر روی سلول‌های تومور سطحی مثانه مشاهده گردد با کاهش عود و افزایش بقای عمر بیمار مرتبط است (۲۰).

ت) ماتریکس خارج سلولی و مولکول‌های چسباننده‌ی سلول‌ها به یکدیگر

۱- فیبرونکتین: فیبرونکتین یکی از اجزای ماتریکس خارج سلولی در بافت مثانه است که به طور عمده در لایه‌ی پایه و زیر مخاط مثانه یافت می‌شود و در سطح ژمینال سلول‌های یوروتلیوم وجود ندارد، به همین دلیل وجود و افزایش فیبرونکتین ترشحی در ادرار، دلیل تهاجم تومور به بافت‌های عمقی‌تراست و دیده شده

www.mui.ac.ir

است، بیمارانی که قبل از TURB و درمان با BCG، سطح فیبرونکتین کمتری در ادرار داشته‌اند، احتمال این که یک سال پس از درمان فوق عاری از تومور باشند بسیار بیشتر از کسانی است که سطح فیبرونکتین ادرار آنها بالاتر بوده است (۲۱).

۲- لامینین: لامینین نیز یکی از اجزای ماتریکس خارج سلولی است که در لایه‌ی پایه یوروتلیوم وجود دارد و تخریب موضعی آن توسط تومور مثانه با افزایش عود تومور پس از TURB و کاهش زمان تومور و افزایش خطر متاستاز همراه است.

۳- Adhesionهای بین سلولی: وجود مولکول‌های چسباننده‌ی سلول‌ها به یکدیگر از جمله خانواده‌ی Cadherinها و ineegrinها سدهای محکمی در مقابل تهاجم تومور به بافت‌های عمقی‌تر هستند.

این مولکول‌های هم در سطح سلول‌های طبیعی و هم در سطح سلول‌های توموری یافت می‌شوند و دیده شده است که کاهش میزان آنها در سطح سلول‌های توموری با افزایش تهاجم تومور و کاهش بقای عمر بیمار همراه است. DC44 نیز نوعی گلیکوپروتئین Trnasmembrane از دسته molecular adhesion می‌باشد که در مقابل سلول ماتریکس نقش دارد که موضوع اصلی مطالعه‌ی ما می‌باشد و به طور کامل توضیح داده می‌شود.

CD44 از مولکول‌های چسباننده‌ی سطح سلول است. (cell surface adhesion molecula) ساختمان ژنوم این مولکول شامل ۲۰ اکسون می‌باشد که ۵ اکسون ابتدایی و ۵ اکسون انتهایی ثابت هستند در حالی که ۱۰ اکسون که بین آنها قرار دارند متغیر است. ۱۰۰ متغیر در این ۱۰ اکسون همراه با N-glycosylation، O – glycosylation و glycosaminoglycanation (با هپارین سولفات یا کندروئیتین سولفات) باعث ایجاد گونه‌های مختلف (حداقل ۲۰ گونه) با سایزهای مختلف (85-230 KD) می‌شود.

کوچکترین مولکول CD44 که فاقد تمام نواحی متغیر است CD44 استاندارد (CD 44 s) است. از آن جایی که این ژن به طور عمده روی سلول‌های با منشأ خونی بروز می‌کند به‌عنوان hematopoietic CD44 (CD44H) نیز نامیده می‌شود. CD44s یک مولکول تک زنجیره است که شامل بخش خارج سلولی (بخشی که به لیگاند متصل می‌شود)، بخش Transmembrane و یک دم سیتوپلاسمی می‌باشد (۲۲).

مهمترین لیگاند CD44 هیالورونیک است که یک جزء مهم ماتریکس خارج سلولی نیز می‌باشد. سایر لیگاندهای CD44 شامل کلاژن، فیبرونکتین، لامینین و کندروئینین سولفات هستند (۲۲).

CD44 یک رسپتور multifunctional است که در رشد و تکثیر سلول‌ها و نیز up take هیالورونیک اسید نقش دارد (۲۲). در حالی که بعضی تومورها مانند گلیوم‌ها تنها فرم استاندارد CD44 را Express می‌کنند سایر نئوپلاسم‌ها مانند کانسرهای گوارش، کانسر مثانه، کانسر سرویکس رحم و کانسر برست واریانت‌های مختلف Cd44 را express می‌کنند.

از این رو واریانت‌های مختلف CD44 می‌توانند به عنوان مارکرهای تشخیصی و پروگنوستیک، حداقل در تعدادی از بدخیمی‌های انسان مورد استفاده قرار گیرند (۲۲). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۲ انجام شد، Overexpression واریانت‌های خاصی از CD44 (CD44v8-10) در تومورهای بدخیمی متعددی مشاهده شد که آن را با پیشرفت بیماری مرتبط دانستند (۲۳).

مطالعه‌ی Woodman و همکاران در سال ۲۰۰۰ در انگلستان نشان داد که یافتن دقیق سطوح افزایش یافته‌ی CD44 در سلول‌های یوروتلیال exfoliated در تشخیص و مونیتورینگ کانسر اوّلیه و عود کرده‌ی مثانه

www.mui.ac.ir

مفید است (۲۴)؛ در مطالعه‌ی دیگری که در سال ۱۹۹۸ در چین انجام شد نیز CD44 over expression با تهاجمی بودن و عود تومورهای مثانه مرتبط بود (۲۵).

در سال ۲۰۰۰ مطالعه‌ای در اسپانیا انجام شد که ارزش پروگنوستیک beta-caterin، E-cadherin و CD44 در تومورهای مثانه بررسی شد. در این مطالعه، کاهش E-cad و beta–cad به‌طور بارزی با تهاجم و گرید بالای تومور و Overexpression PS3 ارتباط داشت ولی هیچ ارتباطی بین CD44 و پاتولوژی تومور وجود نداشت (۲۶).

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۹ در چین انجام شد، ارتباط آشکاری بین CD44 over expression در تومورهای مثانه مشاهده شد. در این مطالعه کاهش E-cad و beta-cad به‌طور بارزی با تهاجم و گرید بالای تومور PS3 over expression ارتباط داشت ولی هیچ ارتباطی بین CD44 و پاتولوژی تومور دیده نشد (۲۶).

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۹ در چین انجام شد ارتباط آشکاری بین CD44 Overexpression و فنوتیپ بدخیم و متاستاز در کانسر مثانه نشان داده شد و نتیجه گرفتند که واریانت‌های CD44 می‌توانند تومور مارکرهای ایده‌آلی در تشخیص زودرس کانسر مثانه و متاستازهای آن باشند (۲۷).

در مطالعه‌ی دیگری که در سال ۱۹۹۸ در فنلاند انجام شد، مشخص شد که expression شدید CD44 در سلول‌های تومورال non-basal با پیش‌آگهی نامطلوبی همراه بود ولی expression شدید در CD44 v6 در سلول‌های بازال و غیر بازال پیش‌آگهی مطلوبی داشت (۲۸).

در مطالعه‌ی دیگری در سال ۲۰۰۴ مشخص شد که CD44v8-10 over exp در کانسر مثانه باعث کاهش تداخل آنها با HA می‌شود و در نتیجه در پیشرفت و عود تومور موثر است (۲۹). در مطالعه‌ی Gontero در سال ۲۰۰۴ در ایتالیا بین نتایج CD44 و پیشرفت و عود تومور مثانه ارتباطی وجود نداشت (۳۰).

در سال ۲۰۰۰ در آمریکا مطالعه‌ای در مورد ارتباط بین CK20 و CD44 با گرید تومور در کانسرهای مثانهTa و Stage T1 انجام شد و بررسی ۱۲۰ کیس نشان داد که کاهش CD44 و افزایش CK20 به‌طور بارزی با افزایش گرید تومور همراه است (۳۱). بر خلاف اغلب مطالعات که CD44 over expression را ریسک فاکتور عود و پیشرفت کانسر مثانه می‌دانند در بعضی مطالعات نیز کاهش CD44 را با این مساله مرتبط می‌دانند (۳۲-۳۱).

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۷ توسط Naor انجام شد، نشان داده شدکه در مدل‌های حیوانی تزریق ترکیباتی که با لیگاند CD44 تداخل می‌کنند از رشد موضعی تومور و انتشار آن ممانعت می‌کنند. لذا شناسایی واریانت‌های CD44 که تنها در سلول‌های بدخیم و نه در سلول‌های سالم express می‌شوند می‌تواند منجر به گسترش ترکیبات anti-CD44 شود که در درمان کانسر مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۲).

ث) فاکتورهای رشد و گیرنده‌های آنها

۱-گروه TGF-β (Transforming growth factor–β) شامل پروتئین‌های وابسته به یکدیگر می‌شود که در مهار تکثیر و پرولیفراسیون سلول‌ها نقش دارند. دیده شده است که تورموهایی که با افزایش میزان TGF –β همراهند، پرولیفراسیون آهسته‌تر دارند. البته از طرف دیگر، به علّت خواص آنژیوژنیک، این فاکتورهای رشد ممکن است اثری معکوس داشته، با افزایش تهاجم تومور همراه گردند.

۲- C-erb-B2: افزایش محصول این انکوژن ارتباطی قوی با میزان پیشرفت تومور مثانه دارد.

۳- عامل رشد سلول اندوتلیال مشتق از پلاکت

www.mui.ac.ir

(PDE CGF): یک تیمیدین کیناز با فعالیت آنژیوژنیک (رگسازی) قوی است که غلظت آن در بافت توموری با grade و stage تومور ترانزیشنال مثانه نسبت به مستقیم ارتباط دارد.

ج) اختلالات کروموزومی و ژنتیکی:

اختلالات کروموزومی از جمله اختلالات تعداد کروموزوم‌ها (آناپلوئیدی و هیپودیپلوئیدی)، شکل و سایز کروموزوم‌ها و حذف یا جهش برخی ژن‌ها ممکن است با افزایش عود و پیشرفت TCC همراه باشند.

معروف‌ترین این اختلالات عبارتند از:

۱- افزایش تعداد کروموزم ۷: با افزایش گرید تومور مثانه همراه است.

۲- حذف تمام یا قسمتی از کروموزوم ۹: یکی از شایع‌ترین اختلالات کروموزومی در کانسر ترانزیشنال مثانه و پیش‌بینی کننده‌ی افزایش عود تومور پس از درمان و شکست درمان با BCG داخل مثانه‌ای است.

۳- از دست رفتن بازوی کوتاه کروموزوم ۱۳: از دست رفتن این ناحیه که ژن Rb روی آن است با پرولیفراسیون مهار نشده‌ی سلول‌های توموری همراه است، پیش‌بینی کننده‌ی عود و تهاجم بیشتر تومور خواهد بود.

۴- حذف در بازوی بلند کروموزم ۱۷: حذف در این ناحیه که حاوی ژن P53 می‌باشد با پیشرفت تومور و کاهش پاسخ به شیمی درمانی همراه است. از آن جا که P53 موضوع اصلی مورد مطالعه ما می‌باشد راجع به آن به طور مفصل بحث خواهد شد.

ژن P53 شایع‌ترین ژنی است که در کانسرهای انسان تغییر می‌یابد. پروتئین ژن غیر بوتان که Wild type P53 نامیده می‌شود عملکردهای مختلفی دارد که مهار پرولیفراسیون و ایجاد آپوپتوز در سلولی که DNA آن آسیب دیده از آن جمله است.

موتاسیون P53 باعث ناپایداری ژنتیکی و موتاسیون‌های بیشتر در تکثیرهای جدی سلولی می‌شود، لذا کانسرهایی که ابنورمالیتی P53 دارند رفتار تهاجمی‌تری خواهند داشت.

محصول P53 طبیعی باعث تولید TSP-1 (thrombospondin-1) که مهار کننده‌ی قوی آنژیوژنز است می‌شود، لذا ابنورمالیتی یا موتاسیون P53 باعث کاهش تولید TSP1 و نئوآنژیوژنز می‌شود. محصول P53 طبیعی منجر به ترمیم آسیب DNA ناشی از داروهای شیمی درمانی مثل سیسپلاتین می‌شود امّا موتاسیون P53 باعث می‌شود سلول‌های تومورال در اثر شیمی درمانی اختلال بیشتری در DNA پیدا کنند لذا به شیمی درمانی مقاوم‌ترند.

پروتئین ژن غیر موتاسیون به طور معمول به روش ایمنوهیستوشیمی قابل شناسایی نیست. نیمه عمر این پروتئین ۶ تا ۳۰ دقیقه می‌باشد امّا به‌دنبال موتاسیون ژن P53 نوعی پروتئین غیرطبیعی ساخته می‌شود که نیمه عمر طولانی دارد، بنابراین درون هسته تجمع می‌یابد. تولید زیاد این پروتئین با پروگنوز بد برخی از کانسرها ارتباط دارد.

در بعضی مطالعات نیز هیچ ارتباطی بین افزایش بروز ژن P53 و عود تومور وجود نداشته است (۳۳) که این مسأله شاید به دلیل تفاوت در آنتی‌بادی‌ها، آماده‌سازی بافتی و ترشولدهای مثبت بودن باشد.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۳ در آمریکا انجام شد، موتاسیون ژن P53 در تومورهای سطحی و مهاجم ارتباط قوی با عود تومور داشت (۳۴). در مطالعه‌ی دیگری که در سال ۱۹۹۳ انجام شد، ژن موتاسیون یافته‌ی P53 با افزایش گرید و استیج تومور همراه بود (۳۶). در مطالعه‌ای دیگر میزان موتاسیون ژن P53 در کانسرهای مهاجم مثانه ۲/۵ برابر بیشتر از کانسرهای سطحی مثانه گزارش شده است (۳۶). در مطالعه‌ی Tetu و همکاران در سال ۱۹۹۶، P53 در ۱۴٪

www.mui.ac.ir

تومورهای مثانه مثبت شد و به طور بارزی با عود تومور مرتبط بود، اما این ارتباط مستقل از سایر فاکتورهای پروگنوستیک نبود (۳۷).

چ) نشانگرهای تکثیر سلولی (prdiferation markers): بدیهی است که هر چه تکثیر سلول‌های تومور بیشتر باشد، تهاجم آن بیشتر خواهد بود. بنابراین برخی از محققین، این مارکرهای پرولیفراسیون سلولی را به عنوان نشانگری از تهاجمی بودن تومور به‌کار برده‌اند. از جمله‌ی این مارکرهای پرولیفراسیون می‌توان به موارد زیر اشاره نمود:

افزایش اشکال میتوتیک سلول‌های توموری، افزایش سلول‌های غیر دیپلوئید در فلوسیتومتری ادرار، افزایش سلول‌هایی که در فاز S (سنتز DNA) هستند و افزایش آنتی‌ژن‌های مربوط به فاز پرولیفراسیون سلولی (از قبیل PCNA و Ki 67).

طبق آنچه گفته شد و با توجه به این‌که Tcc مثانه یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها و یکی از مهمترین علل مرگ ناشی از کانسر در هر دو جنس است و از آن جا که Tccهای سطحی مثانه پس از TURB رفتار بسیار متفاوتی از خود نشان می‌دهند (از عدم عود به مدت طولانی تا عود مکرر با فواصل کوتاه)، کشف عوامل احتمالی که در پیش بینی این رفتار و احتمال عود یا تهاجمی شدن این تومورها نقش دارند، می‌تواند حایز اهمیت باشد. از آن جا که ارتباط بین CD44 و P53 با رفتار تومورهای سطحی و مهاجم مثانه نشان داده شده است، مطالعه‌ی حاضر جهت بررسی رابطه‌ی تومور مارکرهای CD44 و P53 با میزان عود کانسرهای Low risk مثانه پس از TURB طراحی شده است.

همان طور که گفته شد هر چه grade یا stage یا تعداد کانون‌های TCC مثانه بیشتر باشد، احتمال عود آن پس از TURB بیشتر است، امّا اگر عوامل فوق را ثابت نگه داریم یعنی اگر دو تومور تک کانونی با گرید و Stage مشابه را در نظر بگیریم چگونه می‌توان رفتار آنها را پس از TURB پیش‌بینی کرد. در این مطالعه ما می‌خواهیم بدانیم آیا در بیمار با TCC سطحی low stage (T1 یا Ta) و low grade (گرید ۱ یا ۲) و تک‌کانونی مثانه (که در کل به آن low risk TCC می‌گوییم) اگر نتیجه‌ی CD44 و P53 مثبت باشد، رفتار تومور و میزان عود آن پس از TURB با بیمار مشابهی که نتیجه‌ی CD44 و P53 او منفی است تفاوتی دارد یا خیر. به عبارت دیگر می‌خواهیم نقش پروگنوستیک تومور مارکرهای CD44 و P53 را در عود کانسرهای ترانزیشنال low risk مثانه بررسی نماییم.

چنانچه با استفاده از این مطالعه بتوان آن گروه از بیماران با Low risk TCC را که در معرض عود بیشتر پس از TURB هستند قبل از عود تشخیص داد، شاید بتوان با درمان‌های اضافه‌تر علاوه بر TURB (مانند تجویز BCG داخل مثانه‌ای مانند آنچه که در تومورهای high risk) انجام می‌شود، پروگنوز بیماران را بهبود بخشید.

روش‌ها

این مطالعه‌ی نوع تحلیلی آینده‌نگر (historical cohort) در مقطع زمانی بهمن ۸۲ تا مرداد ۸۵ انجام شد. کلیه‌ی بیمارانی که در بررسی‌های قبل از عمل کانسر مثانه در آنها مطرح بود (بر اساس شرح حال، معاینه، سونوگرافی، IVP و CT scan) تحت سیستوسکوپی قرار می‌گرفتند و در صورتی‌که تشخیص تومور مثانه تأیید می‌گردید TURB انجام می‌شد.

پس از TURB نیز بافت تومور برای تأیید تشخیص، تعیین نوع بافت‌شناسی، تعیین گرید و استیج به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال می‌شد. اگر در سیستوسکوپی، تشخیصی غیر از تومور مثانه مطرح و یا بیش از یک کانون توموری مشاهده می‌شد، بیمار از

www.mui.ac.ir

مطالعه خارج می‌گردید. همچنین اگر نتیجه‌ی پاتولوژی بافتی غیر از TCC بود یا گرید آن بیشتر از ۲ یا Stage آن بالاتر از T1 بود یا بیمار پیگیری مرتب با سیستوسکوپی را انجام نمی‌داد از مطالعه خارج می‌شد.

در بیمارانی‌که دارای TCC تک کانونی با T1 یا Stage Ta و ۱ یا ۲ grade بودند، رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی به شیوه‌ی زیر انجام شد.

۱- از بلوک‌های پارافینه توسط میکروتوم برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و روی لام‌های مخصوص گذاشته شد.

۲- آنتی بادی اولیه‌ی (CD44 یا P53) به مدت ۳۰-۱۰ دقیقه روی بافت ریخته و در دمای اتاق انکوبه شد.

۳- توسط محلول بافر فسفات (PBS) آنتی‌بادی شسته شد.

۴- پلیمر نشان‌دار شده‌ی آلکالین فسفاتاز به مدت ۳۰-۱۰ دقیقه روی بافت ریخته و در دمای اتاق انکوبه شد.

۵ – توسط محلول بافر فسفات شستشوی مجدد انجام شد.

۶- محلول سوبسترای رنگزا (fast red) به مدت ۳۰-۵ دقیقه روی بافت ریخته و در دمای اتاق انکوبه شد.

۷- شستشو با آب مقطر انجام شد.

۸- توسط چسب مخصوص و لامل بافت‌ها فیکس و سپس زیر میکروسکوپ نوری بررسی شد. در مورد مارکر P53 در صورتی‌که هسته‌ها رنگ قرمز به خود گرفته بودند، آزمایش مثبت تلقی گردید و در مورد CD44 در صورتی‌که غشای سلول رنگ قرمز به خود می‌گرفت نشانه‌ی مثبت بودن آزمایش بود.

نتیجه‌ی رنگ‌آمیزی CD44 و P53 در همه‌ی نمونه‌ها توسط پاتولوژیست به‌صورت مثبت یا منفی گزارش گردید.

کلیه‌ی بیماران مذکور پس از TURB تحت برنامه‌ی پیگیری استاندارد (سیستوسکوپی هر ۳ ماه یک بار طی سال اوّل پس از TURB و سپس هر ۶ ماه تا پایان سال دوّم و سپس سالیانه یک بار) قرار گرفتند. در هر بار سیستوسکوپی در صورت عود، زمان تا عود تومور مثبت می‌گردید و نمونه بار دیگر گرفته می‌شد.

همان طور که پیشتر گفته شد از آن جا که اکثر موارد عود کانسرهای ترانزیشنال سطحی مثانه در سال اوّل رخ می‌دهد مدت پیگیری در این بیماران حداقل یک سال در نظر گرفته شد. کلیه‌ی بیماران پس از اولین TURB در صورت داشتن سابقه‌ی مصرف سیگار آن را مطرح می‌کردند.

در پایان مدت پیگیری میزان عود تومور در کسانی‌که $CD44^+$ بودند با افراد $CD44^-$ و نیز میزان عود تومور در کسانی‌که $P53^+$ داشتند با افراد $P53^-$ به وسیله آزمون Chi-square مورد مقایسه قرار گرفت.

به علاوه میزان عود تومور در کسانی‌که همزمان $P53^+$ و $CD44^+$ بودند با بیمارانی‌که $P53^-$ و $CD44^-$ بودند، مقایسه شد.

یافته‌ها

در مدّت مذکور از مجموع ۹۵ بیمار که تومور سطحی (non muscle invasive) مثانه داشتند، ۷۵ بیمار در گروه low risk قرار گرفتند (یعنی T1 یا Stage Ta و ۱ یا ۲ grade) و وارد مطالعه شدند، ولی تنها ۶۰ بیمار پیگیری منظم با سیستوسکوپی جهت بررسی عود را انجام می‌دادند. از ۶۰ بیمار مورد مطالعه ۴۹ بیمار (۸۱/۶۷٪) مرد و ۱۱ بیمار (۱۸/۳۳ ٪) زن بودند. TURB در تمام بیماران انجام شد در گروهی که عود داشتند میانگین فاصله‌ی زمانی از عمل جراحی تا زمان عود ۴/۶ ± ۸/۸ ماه بود. در گروهی که عود نداشتند

www.mui.ac.ir

حداقل به مدت ۱۸ ماه پیگیری شدند تا از عدم عود آنها مطمئن شویم.

میانگین سن بیماران ۵۹/۷ سال بود و میانگین سن افرادی که تومور مثانه در آنها عود کرده بود ۵۶ سال و میانگین سن افرادی‌که عود نداشتند ۶۳ سال بود به این معنی که در افرادی که عود تومور مثانه داشتند، میانگین سنی ۷ سال بیشتر بود.

جدول ۱. میانگین سن بر حسب عود

	میانگین سن	Std.err	(95 % conf. Interval)	
عدم عود	۵۶	۲/۷	۵۰/۵	۶۱/۴
عود	۶۲/۹	۲/۲	۵۸/۳	۶۷/۴

از ۶۰ بیمار مورد مطالعه ۳۶ بیمار دچار عود شدند (۵۳٪) که از این تعداد ۴ بیمار زن و ۲۸بیمار مرد بودند. افزایش واضحی در عود تومور مثانه در مردان مشاهده شد که این مسأله شاید به‌دلیل حجم کم نمونه و تعداد بیشتر مردان در مطالعه موجود باشد.

جدول ۲ . فراوانی (درصد) عود بر حسب جنس

	کل	عود	عدم عود	جنس
مؤنث	۷(۲۵)	۴(۱۲/۵)	۱۱(۱۸/۳۳)	
مذکر	۲۱(۷۵)	۲۸(۸۷/۵)	۴۹(۸۱/۷)	
کل	۲۸(۱۰۰)	۳۲(۱۰۰)	۶۰(۱۰۰)	

درصد عود در بیمارانی که نتیجه تست P53 آنها مثبت بوده است ۵۲-۶۴٪ و در بیمارانی‌که نتیجه‌ی تست P53 در آن‌ها منفی بوده است ۴۱/۲۸ ٪ بود که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (P = ۰/۰۷).

جدول ۳. فراوانی (درصد) عود تومور بر حسب تومور مارکر P53

P53	عدم عود	عود	کل
منفی	۱۷(۵۸/۶۲)	۱۲(۴۱/۳۸)	۲۹(۱۰۰)
مثبت	۱۱(۳۵/۴۸)	۲۰(۶۴/۵۲)	۳۱(۱۰۰)
کل	۲۸(۴۶/۶۷)	۳۲(۵۳/۳۳)	۶۰(۱۰۰)

رگرسیون تک متغیره‌ی لجستیک نشان می‌دهد در صورت مثبت بودن P53 شانس عود مجدد تومور ۳/۵۸ برابر بیشتر از زمانی است که نتیجه‌ی تست منفی باشد.

(OR = ۲/۵۸ ،P = ۰/۰۷ ،CI ٪۹۵ = ۰/۹۱–۷/۳۱)

به عبارت دیگر شانس پیش‌بینی عود تومور هنگامی‌که پاسخ P53 مثبت باشد ۵۸ ٪ افزایش می‌یابد و این افزایش شانس وقتی رگرسیون لجستیک برای سن و جنس کنترل می‌شود کاهش یافته، به ۱/۶٪ می‌رسد.

(OR = ۲/۰۶ ،P = ۰/۱۹ ،CI ٪۹۵ = ۰/۶–۶/۲)

درصد عود در بیمارانی‌که نتیجه‌ی تست CD44 آنها مثبت بوده است ۷۲٪ و در بیمارانی‌که نتیجه‌ی تست CD44 آن‌ها منفی بوده است ۴۰٪ می‌باشد. آزمون تک متغیره‌ی مجذور کای اختلاف معنی‌داری را بین این دو گروه نشان می‌دهد (P < ۰/۰۲).

جدول ۴. فراوانی (درصد) عود تومور بر حسب تومور مارکر CD44

CD44	عدم عود	عود	کل
منفی	۷(۲۸)	۱۲(۴۰)	۳۵(۱۰۰)
مثبت	۷(۲۸)	۱۸(۷۲)	۲۵(۱۰۰)
کل	۲۸(۴۶/۶۷)	۳۲(۵۳/۳۳)	۶۰(۱۰۰)

رگرسیون تک متغیره‌ی لجستیک نشان می‌دهد در صورت مثبت بود CD44 شانس پیش‌بینی عود تومور ۳/۸۶ برابر زمانی است که این تست منفی است.

(OR = ۳/۸۶ ،P < ۰/۰۲ ،CI ٪۹۵ = ۱/۲-۱۱/۶)

به عبارت دیگر در صورتی که CD44 مثبت باشد ۲۸۵٪ شانس پیش‌بینی عود تومور افزایش می‌یابد و این افزایش شانس هنگامی‌که رگرسیون لجستیک برای سن و جنس کنترل شود، افزایش یافته، به ۳/۷٪ می‌رسد.

(OR = ۴/۰۷ ،P < ۰/۰۲ ،CI ٪۹۵= ۱/۲-۱۳/۱)

درصد عود تومور در بیمارانی که نتیجه‌ی هر دو تست آنها مثبت بود ۸۷/۵٪ و در بیمارانی که نتیجه‌ی هر دو تست منفی بود ۴۰٪ به دست آمد. آزمون تک

www.mui.ac.ir

متغیره‌ی مجذور کای اختلاف معنی‌داری را بین درصد عود تومور بین این دو گروه نشان داد (P < ۰/۰۲).

جدول ۵. فراوانی (درصد) عود تومور بر حسب تومور مارکرهای CD44 و P 53

P53 و CD 44	عدم عود	عود	کل
سی امین منفی	۱۲	۸	۲۰
هر دو وضعیت	۶۰	۴۰	۱۰۰

رگرسیون تک متغیره‌ی جنسیت که نشان می‌دهد شانس پیش‌بینی عود تومور در صورتی‌که هر دو تست مثبت باشند ۱۰/۵ برابر بیشتر از زمانی است که نتیجه‌ی هر دو تست منفی باشد.

(OR = ۱۰/۵ ،P = ۰/۰۰۸ ،CI ٪۹۵ = ۰/۸-۵۹/۲)

این افزایش شانس هنگامی که رگرسیون لجستیک برای سن و جنس کنترل شود تا ۱۱ برابر افزایش می‌یابد.

بحث

همان گونه که پیشتر ذکر شد فاکتورهای پروگنوستیک متعددی برای عود کانسر سطحی مثانه ذکر شده‌اند که مهمترین آن‌ها عبارتند از Stage، grade یک یا چند کانونی بودن تومور، پاپیلری یا بدون پایه بودن تومور و وجود کارسینوم درجا (carcinoma in situ) (۱۲، ۱۵-۱۷).

امّا همه‌ی بیماران با TCC پاپیلری سطحی و تک کانونی گرید پایین سرنوشت مشابهی ندارند. مطالعات نشان داده‌اند که ۷۰-۵۰٪ این بیماران پس از TURB دچار عود می‌گردند و در ۲۵-۱۶٪ موارد این عود با گرید و stage بالاتری است (۱۲-۱۳).

بنابراین عوامل دیگری غیر از فاکتورهای پروگنوستیک ذکر شده نیز باید در عود کانسرهای پاپیلری low grade مثانه دخالت داشته باشند.

در این مطالعه ما تصمیم گرفتیم نقش دو تومور مارکر CD44 و P53 را در میزان عود تومورهای سطحی پاپیلری مثانه، وقتی از لحاظ سایر عوامل پروگنوستیک در وضعیت مشابهی قرار دارند، بررسی کنیم. مطالعات متعددی در این زمینه انجام شده است که پیشتر به آنها اشاره شد.

در این مطالعه میزان کلی عود تومور سطحی low grade مثانه ۵۲٪ بود. یعنی از ۶۰ بیماری که فاکتورهای لازم برای ورود به مطالعه داشتند و تحت TURB قرار گرفته، مطالعه را کامل کردند ۳۲ بیمار دچار عود شدند.

همان‌طور که پیشتر اشاره شد، ژن P53 شایع‌ترین ژنی است که در کانسرهای انسان تغییر می‌یابد. پروتئین ژن غیرموتان عملکردهای مختلفی دارد از جمله‌ی آنها مهار پرولیفراسیون و ایجاد آپوپتوز در سلولیست که DNA آن آسیب دیده است. در مطالعات متعددی که در مورد نقش تومور مارکر P53 در تومورهای سطحی مثانه انجام شده است، اغلب نقش این تومور مارکر را به عنوان یک فاکتور پروگنوستیک قوی در عود افزایش تهاجم تومورهای سطحی مثانه عنوان کرده‌اند (۳۴-۳۶). در برخی نیز هیچ ارتباطی بین مثبت شدن P53 و عود تومور وجود نداشته (۳۳) و یا این که فاکتور پروگنوستیک مستقلی در عود نبوده است (۳۷).

در این مطالعه دیده شد که میزان عود TCC سطحی گرید پایین و پاپیلری مثانه در بیماران با نتیجه‌ی آزمایش P53 بافت تومور منفی ۴۱٪ و در گروه مثبت ۶۴٪ بود. اگر چه در این مطالعه نیز میزان عود از لحاظ بالینی در بیمارانی که P53 مثبت داشتند بیشتر بود، امّا این قضاوت از لحاظ آماری معنی‌دار

www.mui.ac.ir

نبود. شاید این معنی‌دار نبودن از لحاظ آماری مربوط به کم بودن تعداد نمونه بود، با افزایش تعداد بیماران این اختلاف معنی‌دار گردد.

در مورد نقش CD44 در عود تومورهای سطحی مثانه مطالعات مختلفی انجام شده و بر خلاف P53 که اکثریت مطالعات مثبت بودن آن را در TCC واجد ارزش دانسته‌اند، نتایج متنوع در خصوص CD44 بیشتر است. همان طور که به تفصیل شرح داده شد CD44 نوعی گلیکوپروتئین Transmembrane از دسته‌ی Adhesionmolecules می‌باشد که در تقابل سلول ماتریکس نقش دارد.

اغلب مطالعات CD44 over expression را به‌دلیل افزایش رشد و تکثیر سلول‌های توموری و نیز کاهش تداخل با هیالورونیک اسید به عنوان یک جزء مهم ماتریکس خارج سلولی و مهمترین لیگاند CD44، ریسک فاکتور عود و پیشرفت کانسر مثانه می‌دانند (۲۹، ۲۵-۲۱). امّا بعضی مطالعات نیز Loss of CD44 را در این مسأله دخیل می‌دانند (۳۲-۳۱) و برخی نیز هیچ ارتباطی بین مثبت شدن CD44 و پیشرفت و عود تومور پیدا نکرده‌اند (۳۰).

در این مطالعه ۲۵ بیمار از ۶۰ بیمار مورد مطالعه یعنی ۴۲٪ بیماران CD44 مثبت بودند. میزان عود تومور در بیمارانی که با نتیجه‌ی مثبت تست CD44 ۷۲٪ و در بیماران با نتیجه‌ی منفی ۴۰٪ بوده است که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود.

نتیجه‌ی مهم دیگری که در این مطالعه به‌دست آمد این است که مثبت بودن هر دو تومور مارکرهای CD44 و P53 به طور همزمان به احتمال بسیار قوی (۸۷/۵٪) با عود تومور همراه است. به طوری که ارزش پیشگویی‌کننده‌ی آن در عود تومور بسیار بیشتر از مثبت بودن CD44 یا P53 به تنهایی می‌باشد. با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت که چون عود TCC سطحی و گرید پایین مثانه در حضور مثبت شدن CD44 و به ویژه مثبت شدن همزمان CD44 و P53 بیشتر است، بنابراین شاید بهتر باشد از لحاظ درمان و پیگیری با این گروه از بیماران مانند بیماران با گرید یا stage بالاتر (گروه high risk) رفتار شود، به عنوان مثال شاید این گروه از بیماران از شیمی درمانی داخل مثانه‌ای با BCG یا سایر درمان‌های کمکی پس از TURB سود ببرند. همچنین می‌توان بر اساس نتیجه‌ی این دو تست و به ویژه CD44 در بیماران با low risk TCC برنامه‌ی پیگیری را پس از TURB تغییر داد. بدین ترتیب که در بیماران CD44 مثبت و به ویژه بیمارانی که هر دو تومور مارکر CD44 و P53 در آنها مثبت است، به دلیل احتمال عود بیشتر می‌توان سیستوسکوپی‌های بعد از TURB را کمتر کرد و در بیمارانی که نتیجه‌ی این تست‌ها منفی است چون خطر عود کمتر است می‌توان این فواصل را افزود.

References

1. Lynch CF, Cohen MB. Urinary system. Cancer 1995; 75(Suppl 1): 316-29.

2 Feldman AR, Kessler L, Myers MH, Naughton MD. The prevalence of cancer. Estimates based on the Connecticut Tumor Registry. N Engl J Med 1986; 315(22): 1394-7.

3 Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 2000. CA Cancer J Clin 2000; 50(1): 7-33.

4 Cole P, Hoover R, Friedell GH. Occupation and cancer of the lower urinary tract. Cancer 1972; 29(5): 1250-60.

5 Burch JD, Rohan TE, Howe GR, Risch HA, Hill GB, Steele R, et al. Risk of bladder cancer by source and type of tobacco exposure: a case-control study. Int J Cancer 1989; 44(4): 622-8.

6 Howe GR, Burch JD, Miller AB, Cook GM, Esteve J, Morrison B, et al. Tobacco use,

www.mui.ac.ir

occupation, coffee, various nutrients, and bladder cancer. J Natl Cancer Inst 1980; 64(4): 701-13.
7 Kiemeney LA, Moret NC, Witjes JA, Schoenberg MP, Tulinius H. Familial transitional cell carcinoma among the population of Iceland. J Urol 1997; 157(5): 1649-51.
8 Czerniak B, Herz F. Molecular biology of common genito-urinary tumors. In: Koss LG, Editor. Diagnostic cytology of the urinary tract. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1995; p. 345-6.
9 Cote RJ, Chatterjee SJ. Molecular determinants of outcome in bladder cancer. Cancer J Sci Am 1999; 5(1): 2-15.
10 Messing EM, Young TB, Hunt VB, Gilchrist KW, Newton MA, Bram LL, et al. Comparison of bladder cancer outcome in men undergoing hematuria home screening versus those with standard clinical presentations. Urology 1995; 45(3): 387-96.
11 Wein AJ, Kavoussi LR, Novicn AC, Partin CA, Peters CA. Campbell-Walsh Urolog. 9th ed. Philadelphia: WB. Saunders; 2006.
12 Lutzeyer W, Rubben H, Dahm H. Prognostic parameters in superficial bladder cancer: an analysis of 315 cases. J Urol 1982; 127(2): 250-2.
13 Prout GR, Jr., Barton BA, Griffin PP, Friedell GH. Treated history of noninvasive grade 1 transitional cell carcinoma. The National Bladder Cancer Group. J Urol 1992; 148(5): 1413-9.
14 Kurth KH, Bouffioux C, Sylvester R, van der Meijden AP, Oosterlinck W, Brausi M. Treatment of superficial bladder tumors: achievements and needs. The EORTC Genitourinary Group. Eur Urol 2000; 37(Suppl 3): 1-9.
15 Althausen AF, Prout GR, Jr., Daly JJ. Non-invasive papillary carcinoma of the bladder associated with carcinoma in situ. J Urol 1976; 116(5): 575-80.
16 Heney NM, Proppe K, Prout GR, Jr., Griffin PP, Shipley WU. Invasive bladder cancer: tumor configuration, lymphatic invasion and survival. J Urol 1983; 130(5): 895-7.
17 Heney NM, Ahmed S, Flanagan MJ, Frable W, Corder MP, Hafermann MD, et al. Superficial bladder cancer: progression and recurrence. J Urol 1983; 130(6): 1083-6.
18 Fradet Y, Cordon-Cardo C. Critical appraisal of tumor markers in bladder cancer. Semin Urol 1993; 11(3): 145-53.
19 Fradet Y, Tardif M, Bourget L, Robert J. Clinical cancer progression in urinary bladder tumors evaluated by multiparameter flow cytometry with monoclonal antibodies. Laval University Urology Group. Cancer Res 1990; 50(2): 432-7.
20 Allard P, Fradet Y, Tetu B, Bernard P. Tumor-associated antigens as prognostic factors for recurrence in 382 patients with primary transitional cell carcinoma of the bladder. Clin Cancer Res 1995; 1(10): 1195-202.
21 Malmstrom PU, Larsson A, Johansson S. Urinary fibronectin in diagnosis and follow-up of patients with urinary bladder cancer. Br J Urol 1993; 72(3): 307-10.
22 Naor D, Sionov RV, Ish-Shalom D. CD44: structure, function, and association with the malignant process. Adv Cancer Res 1997; 71: 241-319.
23 Miyake H, Eto H, Arakawa S, Kamidono S, Hara I. Over expression of CD44V8-10 in urinary exfoliated cells as an independent prognostic predictor in patients with urothelial cancer. J Urol 2002; 167(3): 1282-7.
24 Woodman AC, Goodison S, Drake M, Noble J, Tarin D. Noninvasive diagnosis of bladder carcinoma by enzyme-linked immunosorbent assay detection of CD44 isoforms in exfoliated urothelia. Clin Cancer Res 2000; 6(6): 2381-92.
25 Li B, Li Y, Dai Q, Zhu J, Jia J. [CD44v and nm23-H1 gene product expression and its clinical significance in human recurrent bladder cancer]. Zhonghua Wai Ke Za Zhi 1998; 36(5): 312-3.
26 Garcia dM, X, Torregrosa A, Munoz J, Castellsague X, Condom E, Vigues F, et al. Prognostic value of the expression of E-cadherin and beta-catenin in bladder cancer. Eur J Cancer 2000; 36(3): 357-62.
27 Wu Z, Zhang Y, Liu D. Relationship between the abnormal expression of CD44 gene and bladder cancer. Zhonghua Wai Ke Za Zhi 1996; 34(11): 645-7.
28 Lipponen P, Aaltoma S, Kosma VM, Ala-Opas M, Eskelinen M. Expression of CD44 standard and variant-v6 proteins in transitional cell bladder tumours and their relation to prognosis during a long-term follow-up. J Pathol 1998; 186(2): 157-64.
29 Muramaki M, Miyake H, Kamidono S, Hara I. Over expression of CD44V8-10 in human bladder cancer cells decreases their interaction with hyaluronic acid and potentiates their malignant progression. J Urol 2004; 171(1): 426-30.
30 Gontero P, Banisadr S, Frea B, Brausi M. Metastasis markers in bladder cancer: a review of the literature and clinical considerations. Eur Urol 2004; 46(3): 296-311.
31 Desai S, Lim SD, Jimenez RE, Chun T, Keane TE, McKenney JK, et al. Relationship of cytokeratin 20 and CD44 protein expression with WHO/ISUP grade in pTa and pT1 papillary urothelial neoplasia. Mod Pathol 2000; 13(12): 1315-23.
32 Toma V, Hauri D, Schmid U, Ackermann D, Maurer R, Alund G, et al. Focal loss of CD44 variant protein expression is related to recurrence in superficial bladder carcinoma. Am J Pathol 1999; 155(5): 1427-32.
33 Gontero P, Casetta G, Zitella A, Ballario R, Pacchioni D, Magnani C, et al. Evaluation of P53

www.mui.ac.ir

protein overexpression, Ki67 proliferative activity and mitotic index as markers of tumour recurrence in superficial transitional cell carcinoma of the bladder. Eur Urol 2000; 38(3): 287-96.

34 Smith ND, Rubenstein JN, Eggener SE, Kozlowski JM. The p53 tumor suppressor gene and nuclear protein: basic science review and relevance in the management of bladder cancer. J Urol 2003; 169(4): 1219-28.

35. Esrig D, Spruck CH, III, Nichols PW, Chaiwun B, Steven K, Groshen S, et al. p53 nuclear protein accumulation correlates with mutations in the p53 gene, tumor grade, and stage in bladder cancer. Am J Pathol 1993; 143(5): 1389-97.

36 Lorenzo-Romero JG, Salinas-Sanchez AS, Gimenez-Bachs JM, Sanchez-Sanchez F, Escribano-Martinez J, Segura-Martin M, et al. Prognostic implications of p53 gene mutations in bladder tumors. J Urol 2003; 169(2): 492-9.

37 Tetu B, Fradet Y, Allard P, Veilleux C, Roberge N, Bernard P. Prevalence and clinical significance of HER/2neu, p53 and Rb expression in primary superficial bladder cancer. J Urol 1996; 155(5): 1784-8.

www.mui.ac.ir

Original Article

Journal of Isfahan Medical School
Vol 27, No 95, July 2009

Received: 29.4.2008
Accepted: 1.9.2008

The Evaluation of Tumor Recurrence Markers P53 and CD44 in Low Risk Superficial Transitional Cell Carcinoma of the Bladder

Mohammad Yazdani MD*, Ahmadreza Rafati MD**, Mahtab Zargham MD***, Said Yaghoob Sehri MD**, Mohammad Hatef Khorrami MD****

* Associate Professor, Department of Urology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
** Resident of Urology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
*** Assistant Professor, Department of Urology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
**** Assistant Professor, Department of Urology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

Abstract

Background: This study was designed to evaluate the correlation of superficial, low grade, unifocal bladder TCC recurrences and the level of tumor markers P53 and CD44 in the tumor tissue.

Methods: In 95 patients with primary diagnosis of unifocal superficial TCC of the bladder TURBT was done. Sixty patients (M = 49, F = 11) with unifocal, superficial (stage Ta or T1), low grade (grade 1 or 2) papillary TCC of the bladder without carcinoma in situ were enrolled to the study and completed it. Tumor tissue sections were immunohistochemically stained for P53 and CD44 separately. Follow up cystoscopy was performed every 3 months for the first year and every 6 months for the second year. Recurrence rate of tumor was compared between P53 positive and p53 negative groups and between CD44 positive and CD44 negative groups.

Findings: The mean age of the patients was 59.7 years. The overall recurrence rate was 53%. It was 64.5% in P53 positive and 41.2% in P53 negative group ($P = 0.07$). Recurrence rate in CD44 positive and CD44 negative group was 72% and 40% ($P < 0.02$) and recurrence rate in both positive marker (CD44 and P53) groups was 87.5% and in both negative marker groups was 40 % ($P < 0.02$).

Conclusion: Our results suggest that there is a remarkable relationship between CD44 positive group, specially CD44 and P53 positive group and recurrence rate in low risk superficial TCC, but the relationship between P53 positive group and recurrence is not statistically significant.

Key words: **CD44, P53, Transitional cell carcinoma (TCC), Immunohistochemically.**

Page count: 16
Tables: 5
Figures: -
References: 37

Address of Correspondence: Said Yaghoob Sehri, Resident of Urology, Department of Urology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
E-mail: dr_sehri@yahoo.com

www.mui.ac.ir