مقاله پژوهشی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و چهارم/شماره ۸۳/زمستان ۱۳۸۵

ارتباط بین اندکس پروتئینی MDM_2 و گریدینگ هیستولوژیک تومورهای آستروسیتیک مغزی

دکتر پروین محزونی*، دکتر مسعود یزدی زاده**، دکتر محمدحسین صانعی***

* دانشیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
** دستیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
*** استادیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۷/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۵/۱۱/۱۱

چکیده:

مقدمه: فاکتور پروتئینی MDM_2 در سال‌های اخیر شناخته شده و موجب مهار آپوپتوز وابسته به پروتئین‌های سرکوب کننده تومور می‌شود. هدف مطالعهٔ حاضر، بررسی ارتباط بین MDM_2 و گریدینگ هیستولوژیک آستروسیتوما های مغزی برای کاهش ابهامات تشخیصی می‌باشد.

روش ها: تعداد ۱۰۴ نمونه آستروسیتوم مغزی شامل هر ۴ گرید هیستولوژیک، به طور اتفاقی از نمونه‌های جراحی افراد مبتلا طی سال‌های ۸۴-۸۰ در بیمارستان الزهرا (س) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مورد بررسی قرار گرفتند. از بلوک‌های پارافینی مربوطه برش‌های ۴ µm تهیه و رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی برای MDM_2 بر روی آن ها انجام شد.

یافته ها: میزان شدت رنگ‌پذیری هسته‌ها (Intensity) برای مارکر MDM_2 با گریدینگ هیستولوژیک دارای رابطهٔ معنی‌دار بود (p=۰/۰۲). بین درصد رنگ‌پذیری هسته‌ها و گریدینگ هیستولوژیک رابطهٔ معنی‌داری یافت نشد. بین درصد مثبت شدن مارکر MDM_2 و گریدینگ هیستولوژیک رابطه مثبت معنی‌دار وجود داشت (p=۰/۰۰۷). حاصل ضرب شدت در درصد رنگ‌پذیری نیز به صورت رتبه‌ای محاسبه و میان گریدهای مختلف مقایسه شد که براساس روش آنالیز ROC Curve فقط برای افتراق گلیوبلا ستوم مولتی فرم از بقیه گریدها با ویژگی ۹۵/۳٪ در نقطه Cut point= ۶ مفید بود.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نقش فاکتور MDM_2 را به عنوان یک انکوژن در تشدید تومورهای آستروسیتیک مغزی نشان می‌دهد. لذا، با استفاده از فاکتور MDM_2 تنها می‌توان با ویژگی بالایی گرید IV تومورهای آستروسیتیک مغز را از سایر گریدها جدا کرد.

واژگان کلیدی: تومورهای آستروسیتیک مغز، فاکتور پروتئینی MDM_2، گریدینگ هیستولوژیک

تعداد صفحات: ۹
تعداد جدول ها: ۴
تعداد شکل ها: ۲
تعداد منابع: ۱۶

آدرس نویسندهٔ مسئول: دکتر پروین محزونی، گروه آسیب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
E-mail: mahzouni@med.mui.ac.ir

www.mui.ac.ir

مقدمه

فراوانی تومورهای آستروسیتیک مغز از نقاط مختلف دنیا گزارش شده و هشتاد درصد تومورهای اولیهٔ مغزی در بالغین را تشکیل می‌دهد(۱). این تومورها شامل گونه‌های مختلف هیستولوژیک بوده که دارای ویژگی‌های بافت شناسی، سیر بالینی، توزیع و پیش‌آگهی متفاوتی هستند. این تومورها براساس معیارهای سازمان جهانی بهداشت (WHO) به چهار کلاس I تا IV تقسیم می‌شوند. در یک سر طیف، آستروسیتوم پیلوسیتیک (WHO Class I) با میانگین بقاء حدود ٤٠ سال و در سوی دیگر گلیوبلاستوم مولتی فرم با متوسط بقاء ۱۰-۸ ماه بعد از تشخیص قرار دارند(۲).

خصلت دیگر این گروه تومورها تمایلشان برای پیداکردن آناپلازی بیشتر در طول زمان است؛ به عبارت دیگر توموری در یک گرید پاتولوژیک خاص ممکن است در طول زمان دارای نمای هیستولوژیک و بالینی ثابت بوده و یا اینکه با سرعت متفاوتی به گریدهای بالاتر هیستولوژیک صعود نماید(۲-۱).

معیارهای هیستولوژیک گریدینگ عبارتند از میزان سلولاریتی، میتوز، نکروز و پرولیفراسیون عروقی که همگی معیارهای وابسته به سلیقهٔ آسیب‌شناس می‌باشند، بنابراین در برخی موارد قرار دادن یک تومور در یک گرید هیستولوژیک خاص مشکل بوده و استفاده از دیگر معیارها از جمله استفاده از رنگ‌آمیزی ایمونو هیستوشیمی (IHC) بر علیه مارکرهای مختلف توموری می‌تواند به این امر کمک نماید. بنابراین، در این مطالعه به بررسی نقش MDM2 برای گریدینگ هیستولوژیک آستروسیتوماها پرداخته می شود. انجام گریدینگ هیستولوژیک دقیق برای طراحی یک برنامه دقیق درمانی و توان پیش بینی نسبی روند بیماری توسط کلینیسین بسیار مهم بوده به طوری که جراحان مغز و اعصاب به گریدینگ دقیق این تومورهای مغزی از لحاظ سیستم WHO اهمیت فراوانی می‌دهند.

باتوجه به نقش روزافزون ایمونوهیستوشیمی در آسیب‌شناسی نوین و تأکید فراوانی که بر اهمیت آن گردیده است، پروتئین Mouse Double minute 2 (MDM_2) و ارتباط آن با گریدینگ هیستولوژیک را بررسی نمودیم تا خود رهیافتی به انجام هرچه صحیح‌تر این گریدینگ به ویژه در موارد دشوار تشخیص باشد.

MDM_2 یک پروتئین ٤٩١ اسیدآمینه‌ای است که در سال‌های اخیر شناسایی شده است. وظیفهٔ این پروتئین ارتباط نزدیکی با عملکرد P_{53} و P_{73} داشته و موجب مهار توقف تقسیم سلولی و آپوپتوز توسط این دو فاکتور می‌گردد. این عمل توسط اتصال MDM_2 به محل‌های Transcription این دو فاکتور صورت می‌گیرد. علاوه بر این MDM_2 موجب خروج P_{53} از هسته و پروتئولیز وابسته به پروتئازوم آن می‌گردد. از عناصر مهم برای MDM_2 عنصر روی بوده و محل آن در هسته و سیتوپلاسم است که بیشتر در نوکلئوپلاسم بروز می‌نماید(۳).

در مورد ارتباط فاکتور MDM_2 با درجات مختلف آستروسیتوما نظرات متفاوتی وجود دارد. در بعضی مطالعات ارتباط چندانی میان این تومورها حتی در مراحل پیشرفته با MDM_2 یافت نشده(٥-٤) و در مطالعات دیگری صرفاً به ارتباط MDM_2 با بعضی از گریدهای آستروسیتوم مغزی اشاره شده است(٦). برخی پژوهش‌ها به رابطه مثبت و معنی‌دار بین بروز MDM_2 و گریدینگ هیستولوژیک این تومورها اشاره

www.mui.ac.ir

نموده‌اند اما میزان مفیدبودن این رابطه جهت کمک به انجام گریدینگ هیستولوژیک کم‌تر مورد بررسی قرار گرفته است(۷،۱۱).

هدف مطالعهٔ حاضر آن است که درصورت یافتن رابطهٔ معنی‌دار بین میزان مثبت شدن MDM_2 و گریدینگ هیستولوژیک تومورهای آستروسیتیک مغزی، از این رابطه برای گریدینگ دقیق‌تر مواردی که ابهام در روش‌های معمول بررسی میکروسکوپی روی اسلایدهای رنگ‌آمیزی شده به روش هماتوکسیلین-ائوزین وجود دارد، استفاده شود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت توصیفی- تحلیلی گذشته‌نگر و با روش نمونه گیری تصادفی اجرا شد. تعداد نمونه با حدود اطمینان بالای ۹۵٪ شامل ۱۰٤مورد آستروسیتوم مغزی از گریدهای مختلف هیستولوژیک برآورد گردید. نمونه‌های آستروسیتوم مغزی که طی سال‌های ۱۳۸٤-۱۳۸۰ در بیمارستان الزهرا (س) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تشخیص داده شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند.

ابتدا تومورهای آستروسیتیک فوق با بررسی اسلایدهای رنگ‌آمیزی شده به روش هماتوکسیلین-ائوزین تحت گریدینگ هیستولوژیک براساس معیارهای WHO قرار گرفتند. سپس رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی برای مارکر MDM_2 بر روی بلوک‌های پارافینی نمونه‌های فوق صورت گرفت. آنتی‌بادی MDM_2 مورد استفاده، دارای شماره کد M7146 و کلون SMP14 از شرکت DAKO کشور دانمارک می‌باشد. ابتدا برش‌هایی به ضخامت ٤ میکرون تهیه شده و سپس با چسب Poly-l-lysine برروی اسلاید تثبیت شد و رنگ‌آمیزی طی مراحل زیر انجام گرفت:

۱- مرحلهٔ هیدروژن پر اکسیداز

۲- آنتی‌بادی اولیه MDM_2 به مدت ۳۰دقیقه همراه با کنترل مثبت و منفی

۳- مرحلهٔ biotinylated link (آنتی‌بادی ثانویه) به مدت ۱۰ دقیقه

٤- مرحلهٔ (Horse-Radish Peroxidase) (Streptavidin-HRP)

۵- محلول سوبسترا کروموژن DAB (Diamino Benzidine)

در هریک از ۵ مرحله به دنبال مجاورت با مواد ذکرشده، اسلاید در محلول بافر یا آب مقطر شستشو داده شد. جهت رنگ‌آمیزی تکمیلی از هماتوکسیلین استفاده شد و در نهایت جهت شفاف‌کردن از آب آمونیاک ۰/۵٪ بمدت ۲ دقیقه استفاده گردید.

سپس اسلایدهای رنگ‌آمیزی شده با مارکر MDM_2 در زیر میکروسکوپ نوری و بدن آگاهی از یافته‌های هیستوپاتولوژیک بررسی شدند. در مورد MDM_2 سلول‌های تومورال واکنش هسته‌ای مثبت دارند. اسلایدهای رنگ‌آمیزی شده براساس شدت (Intensity) و درصد رنگ‌پذیری مورد بررسی قرار گرفتند. جهت بررسی مثبت بودن مارکر MDM_2 از جدول شمارهٔ ۱ استفاده گردید.

جدول شمارهٔ ۱. معیارهای ارزیابی مثبت بودن برای شاخص پروتئینی MDM_2

گرید	درصد MDM2 مثبت	جمع
I (پیلوسیتیک استروسیتوما)	۵	۲۰
II (فیبریلاری استروسیتوما)	۷/۱	۱٤
III (اناپلاستیک استروسیتوما)	۲۲/۲	۹
IV (گلیوبلاستوما مولتی فرم)	۳۸/۷	٦۱
جمع	۲٦/۷	۱۰٤

www.mui.ac.ir

در مرحلهٔ بعد ارتباط بین پارامترهای زیر مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت:

۱- رابطهٔ میزان مثبت بودن MDM_2 و گریدینگ هیستولوژیک.

۲- رابطهٔ بین شدت رنگ‌پذیری هسته‌ها توسط MDM_2 و گریدینگ هیستولوژیک

۳- رابطهٔ بین درصد رنگ‌پذیری هسته‌ها و گریدینگ هیستولوژیک

٤- رابطهٔ بین حاصلضرب درصد رنگ‌پذیری در شدت آن با گریدینگ هیستولوژیک (p=۰/۰۰۷).

پس از جمع‌آوری اطلاعات، نرم افزار رایانه‌ای SPSS (SPSS, Inc. Chicago, IL) و آزمون‌های آنالیز واریانس (ANOVA) و ROC Curve جهت تحلیل آماری یافته‌ها استفاده شد.

یافته ها

در این مطالعه، ۱۰٤ مورد آستروسیتوم مغزی از ٤ گرید WHO به‌صورت اتفاقی مورد مطالعه قرار گرفتند. میانگین سنی مبتلایان ٤٤/۰۵ سال (۲ تا ۸۵ سال) بود. درمجموع ٤۷٪ مبتلایان مؤنث و ۵۳٪ مذکر بودند. میزان مثبت شدن MDM_2 برای گرید یک (پیلوسیتیک آستروسیتوما) ۵٪، گرید دو ۷/۱٪، گرید سه ۲۲/۲٪ و گرید چهار ۳۸/۷٪ بود (جدول شمارهٔ۲) که از نظر آماری این اختلاف معنی‌دار بود (p=۰/۰۰۷).

بررسی مارکر پروتئینی MDM_2 هم براساس شدت رنگ‌پذیری و هم درصد سلول‌های رنگ گرفته صورت گرفت (جدول شمارهٔ ۱).

در این مرحله اسلایدهای رنگ آمیزی شده براساس درصد سلول‌های رنگ گرفته (۵٪>، ۱۰-۵٪، ۵۰-۱۰٪، ۵۰٪<) از ۱ تا ٤ و براساس شدت رنگ‌پذیری از ۰ تا ۳ درجه‌بندی شدند. جهت تفسیرمثبت یامنفی بودن مارکر MDM_2، ازجدول شمارهٔ ۱ استفاده شد.

پس از بررسی نمونه‌ها از نظر مثبت یا منفی بودن برای MDM_2 طی چند مرحله، تحلیل آماری ارتباط پارامترهای مختلف به دست آمده با گریدینگ هیستولوژیک و معنی‌دار بودن این ارتباط مورد بررسی قرار گرفت. این پارامترها شامل:

۱- شدت رنگ‌پذیری هسته‌ها

۲- درصد رنگ‌پذیری هسته‌ها و

۳- حاصلضرب شدت در درصد رنگ‌پذیری هسته‌ها بودند (جدول شمارهٔ ۲).

جدول شمارهٔ۲. رابطهٔ بین میزان مثبت شدن MDM_2 و گریدینگ هیستولوژیک تومورهای استروسیتیک مغزی

شدت رنگ‌پذیری‌هسته ها	درصد رنگ پذیری هسته ها			
	٪ ۵۰>	۵۰-۱۰ ٪	۱۰-۵ ٪	٪ ۵ >
+۳	+	+	+	-
+۲	+	+	-	-
+۱	+	-	-	-
۰	-	-	-	-

شدت رنگ‌پذیری همان گونه که گفته شد از ۳-۰ رتبه‌بندی گردید و چنانچه در جدول شمارهٔ ۳ نیز نشان داده شده ارتباط مثبت و معنی‌داری بین این پارامتر (Intensity) و گریدینگ هیستولوژیک وجود داشت (p=۰/۰۲).

میان درصد رنگ پذیری هسته‌ها به تنهایی با گریدینگ هیستولوژیک رابطهٔ معنی‌داری یافت نشد. بین سن مبتلایان و میزان مثبت شدن MDM_2 نیز رابطهٔ معنی‌دار وجود نداشت.در بررسی رابطه بین جنس

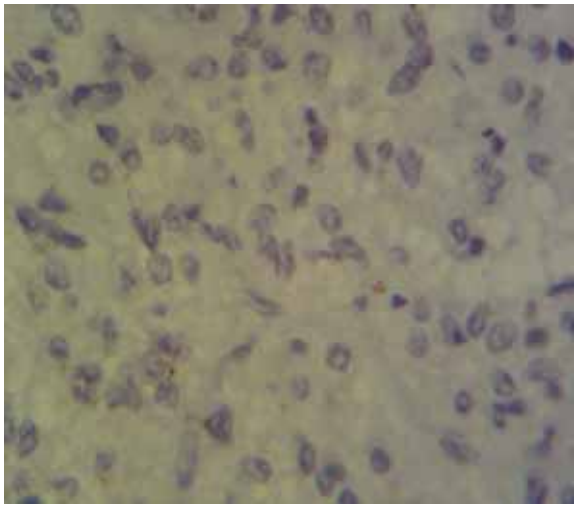
www.mui.ac.ir

جدول شماره ۳. شدت رنگ پذیری هسته‌ها برحسب گریدینگ هیستولوژیک تومورهای آستروسیتیک مغزی

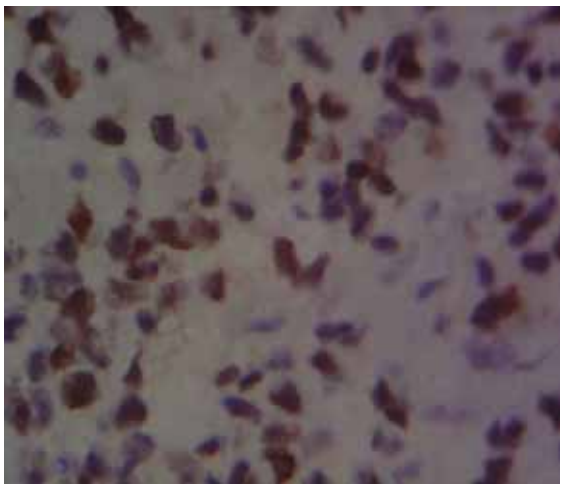
گریدینگ هیستولوژیک	شدت رنگ‌پذیری				جمع
	۰	۱	۲	۳	
WHO Class I پیلوسیتیک آستروسیتوما	۵ (٪۲۵)	۱۳ (٪٦۵)	۱ (٪۵)	۱ (٪۵)	۲۰ (٪۱۰۰)
WHO Class II فیبریلاری آستروسیتوما	۹ (٪٦٤/۳)	۵ (٪۳۵/۷)	۰ (٪۵)	۰ (٪۵)	۱٤ (٪۱۰۰)
WHO Class III آناپلاستیک آستروسیتوما	٦ (٪٦٦/۷)	۲ (٪۲۲/۲)	۱ (٪۱۱/۱)	۰ (٪۰)	۹ (٪۱۰۰)
WHO Class IV گلیوبلاستوم مولتی فرم	۱٦ (٪۲٦/۷)	۲۵ (٪٤۱/۷)	۱٤ (٪۲۳/۳)	۵ (٪۸/۳)	٦۰ (٪۱۰۰)
جمع	۳٦ (٪۳۵)	٤۵ (٪٤۳/۷)	۱٦ (٪۱۵/۵)	٦ (٪۵/٦)	۱۰۳ (٪۱۰۰)

(یکی ازموارد در این انالیز جزو داده های missing می باشد.)

مبتلایان و میزان مثبت شدن MDM_2 رابطه معنی دار یافت نشد.



شکل شماره ۱. رنگ آمیزی منفی هسته‌ها برای مارکر پروتئینی MDM_2 (پیلوسیتیک)



شکل شماره ۲. رنگ آمیزی مثبت هسته‌ای($^{+}$۳=شدت‌رنگ آمیزی) برای مارکر پروتئینی MDM_2.(گلیوبلاستوم مولتی فرم)

آخرین پارامتر بررسی شده S.Score بود که حاصلضرب شدت رنگ‌پذیری هسته‌ها برای MDM_2 به‌صورت رتبه‌ای در درصد هسته‌های رنگ‌گرفته (باز هم به صورت رتبه‌ای) بود. این عدد برای هر نمونه می‌تواند بین ۱۲-۰ باشد میانگین S.Score برای هریک از ٤ گرید WHO به صورت جداگانه مورد محاسبه قرار گرفته و سپس برای بررسی Cut point مناسب، جهت کمک به افتراق این گریدها از هم، نتایج توسط آزمون آماری ROC curve مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. این بررسی نشان داد که استفاده از S.Score به علت هم‌پوشانی وسیع نتایج به‌دست آمده بین گریدهای مختلف هیستولوژیک برای افتراق گریدهای I، II و WHO III از هم، روش مناسبی نمی‌باشد، اما توسط این آزمون می‌توان یک Cut point مناسب (عدد ٦) با ویژگی بیش از ۹۵٪ (٪۹۵/۳) جهت افتراق گرید WHO IV یعنی گلیوبلاستوم مولتی فرم از سایر گریدها تعیین نمود (جدول شمارهٔ ٤).

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان‌دهنده ارتباط معنی‌دار بین گریدینگ هیستولوژیک تومورهای آستروسیتیک مغزی و میزان بروز فاکتور پروتئینی MDM_2 مؤید

www.mui.ac.ir

جدول شمارهٔ ۴. یافته‌های تحلیل آماری (ROC Curve) جهت نتایج ارتباط آماری بین نمره ترکیبی (S.Score) و گریدینگ هیستولوژیک تومورهای آستروسیتیک مغزی

نقاط تعیین کننده	NLR	PLR	Accu	NPV	PPV	Spe	Sen
۱=نمره ترکیبی	۰/۷۸۱	۱/۱۷۷	۰/۵۸۲	۰/۵	۰/٦۳۹	۰/٤۸۸	۰/٦۵
۲=نمره ترکیبی	۰/۹۳۲	۱/۱۱	۰/٤۸٦	۰/۳٤۳	۰/٦۹۵	۰/٦۲۱	۰/٤۲۱
۳=نمره ترکیبی	۰/۷۲۸	۱/٤۵۳	۰/۵۸۲	۰/٤۲۸	۰/۷۵	۰/٦۲۵	۰/۵٤۵
٤=نمره ترکیبی	۰/۷۹۷	۳/۱۲٦	۰/٤۹۲	۰/۳۹٦	۰/۸۵۷	۰/۹۱۳	۰/۲۷۲
٦=نمره ترکیبی	۰/۸۳۹	٤/۲۵۵	۰/۵۱٤	۰/٤٦	۰/۸۵۷	۰/۹۵۳	۰/۲

Sen=حساست Accu=صحت تشخیصی Spe=ویژگی PLR=نسبت درست‌نمایی مثبت PPV=قدرت پیشگویی‌مثبت NLR=نسبت درست‌نمایی منفی

نقش این پروتئین به‌عنوان یک انکوژن می‌باشد به‌نحوی که به‌موازات حرکت قهقرایی یک تومور آستروسیتیک به سمت گریدهای بالاتر میزان بروز MDM_2 افزایش می‌یابد و حتی در موارد گلیوبلاستوم مولتی فرم اولیه نیز این موضوع قابل مشاهده است.

Mawrin و همکارانش روی گریدهای مختلف آستروسیتوما کار کرده و ارتباط آن‌ها را با MDM_2 و چند مارکر دیگر بررسی نمودند که ارتباط معنی‌داری بین انواع تومورهای آستروسیتیک و آمپلیفیکاسیون MDM_2 نیافتند(٤).

Hao و همکارانش با بررسی روی آستروستیومای مغزی متوجه افزایش بیان MDM_2 در این تومورها به موازات افزایش گریدینگ هیستولوژیک گردیدند ولی استفاده ازاین یافته جهت گریدینگ هیستولوژیک دقیق‌تر را بررسی نکردند(۷).

Amit در بررسی خود روی آستروسیتوم‌های مغزی به افزایش آمپلیفیکاسیون MDM_2 به موازات افزایش درجه آناپلازی اشاره کرد(۸).

Collins در بررسی‌های خود بر روی آستروسیتوم‌های گرید II متوجه نقش اساسی جهش P_{53} در ایجاد این تومورها شده ولی مواردی که از نظر MDM_2 بررسی شدند موتاسیون یا ابنورمالیتی را نشان ندادند(۵).

Jeffrey و همکارانش اشاره به ارتباط بین پیشرفت تومورهای آستروسیتیک مغزی و موتاسیون در مسیرهای ملکولی اختصاصی مختلف از جمله P_{53}-MDM_2-P_{21} اشاره نمودند(۹).

Heimberger و همکارانش مهم‌ترین تومور مارکرهای مرتبط با پیشرفت گلیوبلاستوم را MDM_2، و چند مارکر پروتئینی دیگر بیان نمودند. آن ها میزان مثبت شدن MDM_2 را در گلیوبلاستوم های اولیه بیش از ۵۰ درصد و در گلیوبلاستوم‌های ثانویه کم‌تر از ۱۰ درصد مشاهده نمودند(۱۰).

مطالعهٔ دیگری به فقدان amplification یا overexperession فاکتور MDM_2 در گلیوم‌های Low gard و فقط وجود آمپلیفیکاسیون اندک آن در گریدهای III و WHO IV اشاره نموده است(٦).

بررسی انجام شده بر روی GBM به عدم وجود تغییرات P_{53} در GBMهای اولیه و برعکس وجود تغییراتی در جهت غیرفعال کردن ژن‌های سرکوب کنندهٔ تومور مختلف و یا فعال کردن انکوژن هایی مثل MDM_2 در GBM های ثانویه اشاره نموده است(۱۱).

www.mui.ac.ir

یافته‌های مطالعهٔ حاضر مبنی بر ارتباط بین گریدینگ هیستولوژیک و MDM2 با یافته‌های برخی مطالعات قبلی(۸،۱۰-۷) همسو می‌باشد.

به‌دست آمدن ارتباط معنی‌دار آماری در مطالعهٔ حاضر بین شدت رنگ‌پذیری هسته‌ای برای مارکر MDM_2 و گریدینگ هیستولوژیک، همچنین مؤید نقش این پروتئین به‌عنوان یک عامل پیشرفت تومور می‌باشد. در این مورد باید به نقش MDM_2 که فعالیت اصلی خود را در هسته سلول با مهار محل‌های Transcription مربوط به P_{53} و از طرفی خارج کردن P_{53} از هسته و افزایش تخریب وابسته به پروتئازوم آن انجام می دهد تأکید نمود.

عدم وجود ارتباط آماری معنی‌دار بین درصد رنگ‌پذیری هسته و گریدینگ هیستولوژیک می‌تواند بیانگر نقش بروز تجمعی این پروتئین در هسته و رسیدن به آستانه‌ای برای ایجاد اختلال در عملکرد طبیعی P_{53} در جهت حفاظت از جهش‌های تومورزا باشد. این بدان معناست که بروز MDM_2 حتی در تعداد زیادی از سلول‌ها قبل از اینکه به میزان آستانه‌ای مشخص برسد معنی‌داری با شدت درجه بدخیمی تومور (گریدینگ هیستولوژیک) ارتباط ندارد.

در مورد ارتباط آماری معنی‌دار بین حاصلضرب شدت رنگ‌پذیری هسته‌ای و درصد سلول های رنگ‌گرفته (S.Score) نیز به‌علت هم‌پوشانی این پارامتر در گریدهای I الی III استفاده از آن برای کمک به افتراق این سه گرید از هم امکان پذیر نمی‌باشد اما مواردی که این پارامتر(S.Score) حداقل معادل ٦ باشد با ویژگی (۹۵/۳٪) با تشخیص گلیوبلاستوم مولتی فرم هماهنگی خواهد داشت. جهت یافتن Cut point مناسب توجه به چند نکته ضروری است؛ از آنجا که تشخیص گلیوبلاستوم مولتی فرم معادل با شروع درمان های تهاجمی برای بیمار می‌باشد ما برای تعیین Cut point نیاز به نقطه‌ای داریم که دارای ویژگی بالایی باشد تا بدین گونه بیمار را به علت Overdiagnosis گرید IV آستروسیتوما به صورت غیر ضروری با عوارض درمان مواجه نکنیم، از طرفی رسانیدن ویژگی به ۱۰۰٪ موجب کاهش بسیار شدید حساسیت شده و موجب عدم تشخیص بعضی از موارد گلیوبلاستوم مولتی فرم می‌گردد. با درنظر گرفتن مطالب فوق ما به‌دنبال نقطه‌ای هستیم که در عین دارابودن ویژگی قابل قبول برای اهداف درمانی (بالای ۹۵٪) حتی‌الامکان دارای حساسیت بیشتری نیز باشد که تعیین عدد ٦ به عنوان Cut point مناسب در جهت دستیابی به این هدف بوده است.

نتیجه‌گیری: ارتباط معنی‌دار مشاهده شده بین میزان بروز MDM_2 و گریدینگ هیستولوژیک تومورهای آستروسیتیک مغزی با بسیاری از مطالعات قبلی هماهنگی داشته است(۱٦-۱۳، ۷). از طرفی کمک گرفتن از این ارتباط برای انجام گریدینگ صحیح‌تر به‌ویژه در موارد وجود ابهام در تفسیر پاتولوژیک منطقی به‌نظر می‌رسد. با توجه به این مطلب که گلیوبلاستوم مولتی فرم دارای بدترین پیش آگهی برای بیمار است و شروع هرچه سریع‌تر درمان‌های تهاجمی (شامل جراحی، شیمی درمانی و غیره) را می‌طلبد، اهمیت این امر بیش از پیش مشخص می‌شود. یافتن ارتباط معنی‌دار بین شدت رنگ‌پذیری هسته‌ها با گریدینگ هیستولوژیک می‌تواند تأکیدی بر نقش MDM_2 به عنوان انکوژنی که عملکرد اصلی خود را در هسته سلول با خارج کردن و تجزیه P_{53} انجام

www.mui.ac.ir

می‌دهد، باشد. عدم ارتباط معنی‌دار بین درصد سلول‌های رنگ‌گرفته به‌تنهایی با گریدینگ هیستولوژیک نیز می‌تواند بدان علت باشد که رسیدن به آستانه‌ای از تجمع MDM_2 در هسته سلول‌ها که موجب اختلال قابل توجه در عملکرد P_{53} به عنوان عامل آنتی انکوژن گردد، برای تشدید بدخیمی تومور (گریدینگ بالاتر) الزامی است.

منابع

1. Rosai J. Neuromuscular system. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 9th ed. St. Louis: Mosby; 2004: 2503-2522.

2. Lester K. The central Nervous system. In: Kumar V, Fausto N, Abbas A, editors. Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease. New York: W.B. Saunders Company; 2005: 1401-1405.

3. Iwakuma T, Lozano G. MDM2, an introduction. Mol Cancer Res 2003; 1(14):993-1000.

4. Mawrin C, Kirches E, Schneider-Stock R, Boltze C, Vorwerk CK, von Mawrin A et al. Alterations of cell cycle regulators in gliomatosis cerebri. J Neurooncol 2005; 72(2):115-22.

5. Collins VP. Brain tumours: classification and genes. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2004; 75 Suppl 2:ii2-11.

6. Ohgaki H, Watanabe K, Peraud A, Biernat W, von Deimling A, Yasargil MG et al. A case history of glioma progression. Acta Neuropathol (Berl) 1999; 97(5):525-32.

7. Ding H, Roncari L, Shannon P, Wu X, Lau N, Karaskova J et al. Astrocyte-specific expression of activated p21-ras results in malignant astrocytoma formation in a transgenic mouse model of human gliomas. Cancer Res 2001; 61(9):3826-36.

8. Verma A. Gemistocytic Astrocytoma. 2000. [cited 2006 May]. Available from URL: www.bcm.tmc.edu/neurol.

9. Jeffrey N, Allen W, Patrick B, Robert C, Francisco T. Astrocytoma. 2006. [cited 2006 Sep]. Available from URL: www.emedicine.com.

10. Heimberger AB, McGary EC, Suki D, Ruiz M, Wang H, Fuller GN et al. Loss of the AP-2alpha transcription factor is associated with the grade of human gliomas. Clin Cancer Res 2005; 11(1):267-72.

11. Kleihues P, Ohgaki H. Primary and secondary glioblastomas: from concept to clinical diagnosis. Neuro Oncol 1999; 1(1):44-51.

12. Newcomb EW, Cohen H, Lee SR, Bhalla SK, Bloom J, Hayes RL et al. Survival of patients with glioblastoma multiforme is not influenced by altered expression of p16, p53, EGFR, MDM2 or Bcl-2 genes. Brain Pathol 1998; 8(4):655-67.

13. Maher EA, Furnari FB, Bachoo RM, Rowitch DH, Louis DN, Cavenee WK et al. Malignant glioma: genetics and biology of a grave matter. Genes Dev 2001; 15(11):1311-33.

14. Biernat W, Kleihues P, Yonekawa Y, Ohgaki H. Amplification and overexpression of MDM2 in primary (de novo) glioblastomas. J Neuropathol Exp Neurol 1997; 56(2):180-5.

15. Weil RJ. Glioblastoma multiforme--treating a deadly tumor with both strands of RNA. PLoS Med 2006; 3(1):e31.

16. Matsumoto T, Fujii T, Yabe M, Oka K, Hoshi T, Sato K. MIB-1 and p53 immunocytochemistry for differentiating pilocytic astrocytomas and astrocytomas from anaplastic astrocytomas and glioblastomas in children and young adults. Histopathology 1998; 33(5):446-52.

www.mui.ac.ir

ORIGINAL ARTICLE **Journal of Isfahan Medical School**
Vol 24, No 83, Winter 2007

Received: 9.10.2006
Accepted: 31.1.2007

The Correlation between MDM_2 Protein and Histologic Grading of Cerebral Astrocytomas

Mahzouni P MD*, Yazdi zadeh M MD**, Sanei MH MD***

* Associate Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan
** Assistant of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan
*** Assistant Professor of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan

Abstract

Background: MDM_2 is a protein factor that plays an improtant role in inhibition of P_{53} and P_{73} related apoptosis**.** The aim of this study was to investigate the correlation between MDM_2 expression and histologic grading of cerebral astrocytomas in order to reduce misdiagnosis of this tumor in controversial cases.

Methods: In this study, 104 cases of astrocytic tumors including 4 different grades were selected randomly. We prepared 4µm sections of paraffin blocks of tumors. Then the slides were stained by anti MDM_2 antibody.

Findings: The intensity of nuclear staining for MDM_2 marker had a statistically significant correlation with histologic grading. There was no significant correlation between percentage of nuclear staining for MDM_2 and histologic grading. The positivity of MDM_2 marker, as well as the multiplication of intensity and percentage of nuclear staining in S.Score had a significant correlation with histologic grading. The S.Score correlation with grading of astrocytic tumors was analysed by ROC Cure analysis method and showed that at the cut off point of 6, this score can be indicative for differentiation of Glioblastom multiform from other grades with specificity of 95.3%.

Conclusion: Our results confirm the role of the MDM_2 protein as a oncogenic factor in progression of astrosytic tumors.Evaluation the MDM_2 experession in astrocytic cerebral tumors can be specifically indicative for distinction of glioblastom multiform from other grades of astrocytic tumors.

Key words: **Cerebral asrocytic tumors, MDM2 protein factor, histologic grading**

Page count: 9
Tables: 4
Figures: 2
References: 16

Address of Correspondence: Parvin Mahzouni MD, Department of Pathology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
E-mail: mahzouni@med.mui.ac.ir

www.mui.ac.ir