

بررسی میزان بروز گیرنده فاکتور رشد فیروبلاستی نوع ۲ و سایر شاخص‌های پیش‌آگهی سرطان پستان

ایران رشیدی^۱، مهین طاهری مقدم^۲، رضا شجاع‌الدین^{۳*}

چکیده

زمینه و هدف: در سال‌های اخیر شاخص‌های متعددی برای بررسی پیش‌آگهی سرطان پستان در دست بررسی می‌باشد. یکی از آنها گیرنده‌های فاکتور رشد فیروبلاستی (fibroblast grow factor receptors) می‌باشد. مطالعه حاضر برای بررسی این ارتباط انجام شد.

روش بررسی: نوع مطالعه در نظر گرفته شده از نوع تحلیلی است. برای انجام تحقیق ابتدا به آرشیو گزارش‌های ثبت شده در مراکز آموزشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز مراجعه شده و نمونه‌های سرطان مهاجم مجرای از نوع طبقه‌بندی نشده Invasive (ductal carcinoma) انتخاب و وارد تحقیق شد. لام‌هایی که حاوی بیشترین حجم سلول‌های سرطانی بودند، از میان بقیه انتخاب شد و بلوک پارافینی مربوط به آن از قسمت نگهداری بلوک‌ها خارج شد و جهت مطالعه ایمونوهیستوشیمی مورد آزمایش قرار گرفت. سپس نمره‌گذاری شده و با چهار شاخص سن، اندازه تومور، متاستاز به غدد لنفاوی زیر بغل و درجه میکروسکوپی (microscopic grading) مقایسه شد. برای تحلیل داده‌ها از روش آزمون‌های مان ویتنی، و همبستگی غیر پارامتریک به نام اسپیرمن استفاده شده است.

یافته‌ها: بین میزان رنگ‌پذیری هسته و سیتوپلاسم با چهار شاخص فوق‌الذکر رابطه معنادار آماری وجود ندارد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعات تاکنون ناهمگون بوده است. برخی به وجود رابطه دلالت داشته و برخی نیز از جمله مطالعه ما رابطه‌ای نیافته است. لذا بهتر است که مطالعه در مقیاس وسیعتر و با افزودن سایر شاخص‌های پیش‌آگهی انجام شود.

کلید واژگان: گیرنده فاکتور رشد فیروبلاستی نوع ۲، سرطان مهاجم مجرای، ایمونوهیستوشیمی.

۱-دانشیار گروه پاتولوژی.

۲-استادیار گروه علوم تشریح.

۳-رزیدنت گروه پاتولوژی.

۱-گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

۲-گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

* نویسنده مسئول:

رضا شجاع‌الدین؛ گروه پاتولوژی،

دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

تلفن: ۰۰۹۸۹۱۶۶۱۲۵۴۱۷

Email:
dr_shojaeddin@yahoo.com

مقدمه

سرطان پستان یکی از شناخته شده ترین سرطان‌ها در جهان است که منجر به مرگ خانم‌ها می‌شود و ۲۳ درصد از کل سرطان‌ها و ۱۴ درصد مرگ را در سال ۲۰۰۸ بخود اختصاص داده است (۱). تغییرات ژنومی در رشد و پیشرفت این سرطان تعیین شده است (۲) و تعدادی از ژن‌ها و پروتئین‌ها نیز به عنوان تعیین کننده‌های پروگنوز و تعدادی نیز در درمان به کار گرفته شده است (۳).

در سال‌های اخیر شاخص‌های متعددی برای بررسی پیش‌آگهی سرطان پستان در دست بررسی می‌باشد. یکی از آنها گیرنده‌های فاکتور رشد فیروبلاستی (fibroblast grow factor receptors) می‌باشد. در پستانداران ۴ گیرنده برای FGF شناسایی شده است که از بین آنها FGFR2 نقش به‌سزایی در تکامل غدد پستانی و سرطان دارد (۴). این گیرنده بر اساس نوع سلول و یا محیط اطراف آن نقش میتوزی، موتاسیونی یا آنژیوژنیک دارد. همچنین در مطالعات بر روی رده‌های سلولی نقش این گیرنده در ایجاد تومورها نشان داده شده است. در مطالعات اخیر این گیرنده به‌عنوان یکی از محدود ژن‌های مستعد در سرطان پستان تعیین شده است. همچنین نقش این گیرنده در سرطان پستان در خانم‌های اروپایی و آسیایی نشان داده شده است (۵، ۶). با وجود این، بیان پروتئین FGFR2 در سرطان پستان هنوز مورد سؤال است، به همین منظور در این مطالعه ارتباط بین بروز پروتئین FGFR2 و شاخص‌های پیش‌آگهی سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی

برای انجام تحقیق ابتدا به آرشیو گزارش‌های ثبت شده مراکز آموزشی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز مراجعه شده و نمونه‌های سرطان مهاجم مجرای از نوع طبقه‌بندی نشده انتخاب و وارد تحقیق شد.

سپس لام‌های تهیه شده مورد بررسی قرار گرفت و لام‌هایی که حاوی بیشترین حجم سلول‌های سرطانی بودند، از میان بقیه انتخاب شد و بلوک پارافینی مربوط به آن از قسمت نگهداری بلوک‌ها خارج گردید و جهت مطالعه ایمنو هیستوشیمی مورد آزمایش قرار گرفت. این نمونه‌ها مورد بازبینی مجدد قرار گرفته و شاخص‌های لازم ثبت شد سپس بر روی لام‌های مشخص شده که دارای سلول‌های بدخیم بودند، رنگ‌آمیزی ایمنو هیستوشیمی صورت گرفت. رنگ‌آمیزی ایمنو هیستوشیمی:

آنتی‌بادی که در این روش استفاده شد، آنتی‌بادی پلی‌کلونال بر علیه FGFR2 از شرکت سانتاکروز است. همه نمونه‌ها به روش استاندارد رنگ‌آمیزی شدند. برش‌های ۴ میکرونی از نمونه‌های فیکس شده با فرمالین و آغشته با پارافین تهیه شده و سپس برش با زیل، پارافین‌زدایی و توسط الکل هیدراته می‌شد و با بافر فسفات (PBS) شست‌وشو می‌شدند. سپس نمونه در بافر سترات سدیم با PH:6 در ۱۰۰ درجه به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده می‌شد. بعد از آن به مدت یک شبانه‌روز در دمای ۴ درجه در آنتی-بادی اولیه anti-FGFR2 آنکوبه می‌شدند و با بافر فسفات شست‌وشو و با آنتی‌بادی ثانویه بیوتینه-استرپتوئیدین-پراکسیداز به مدت ۳۰ دقیقه آنکوبه می‌شدند. اسلایدها توسط DAB و هیدروژن پراکسیداز به مدت ۱۰ دقیقه رنگ می‌شدند و برای کنترل منفی آنتی‌بادی اولیه حذف شده و به جای آن بافر فسفات به کار برده می‌شود. ارزیابی کمی:

برای ارزیابی کمی نمونه‌های رنگ شده نمونه‌ها بر اساس شدت و میزان وسعت رنگ‌آمیزی مورد درجه‌بندی (scoring) شدند. به طوری که نمونه‌هایی که ۱-۲۰ درصد رنگ گرفتند، درجه ۱، ۲۰-۵۰ درصد معادل ۲ و ۵۰-۱۰۰ درصد معادل ۳ لحاظ شد. شدت رنگ‌پذیری نیز بدین شکل انجام شد که: عدم رنگ‌پذیری: صفر، رنگ‌پذیری خفیف: ۱،

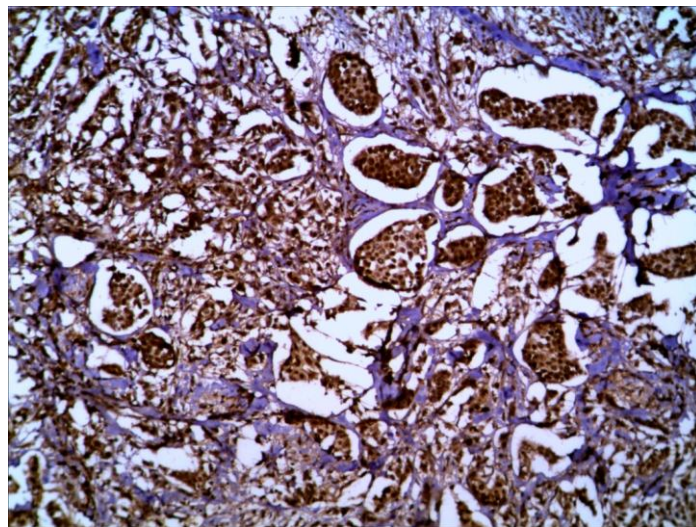
گزارش قید نشده بود. از نظر درجه پیشرفت (grade) تومورها از تعداد ۲۵ بیمار، ۱۵ مورد (۶۰ درصد) در درجه پیشرفت ۲ و ۱۰ مورد (۴۰ درصد) در درجه پیشرفت ۳ بودند. همچنین متوسط اندازه تومورها ۳/۱۸ سانتی متر بود. در رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی نمونه‌ها مشاهده شد که هم سیتوپلاسم و هم هسته سلول‌های سرطانی به خوبی FGFR2 را دارند (شکل ۱ و ۲). اما از نظر آماری ارتباط معناداری بین شدت رنگ‌آمیزی سیتوپلاسم و پارامترهای کلینیکال پاتولوژی مشاهده نشد، به طوری که از نظر سن بیماران $Pvalue < 0/769$ ، از نظر اندازه تومور $Pvalue < 0/120$ ، از نظر متاستاز به غدد لنفاوی نیز $Pvalue < 0/688$ و از نظر درجه پیشرفت تومورها نیز $Pvalue < 0/309$ می‌باشد.

همچنین از نظر آماری ارتباط معناداری بین شدت رنگ‌آمیزی هسته و پارامترهای کلینیکال پاتولوژی مشاهده نشد. به طوری که از نظر سن $Pvalue < 0/974$ ، از نظر اندازه تومور $Pvalue < 0/236$ ، از نظر متاستاز به غدد لنفاوی نیز $Pvalue < 0/756$ و از نظر درجه پیشرفت تومورها نیز $Pvalue < 336$ می‌باشد.

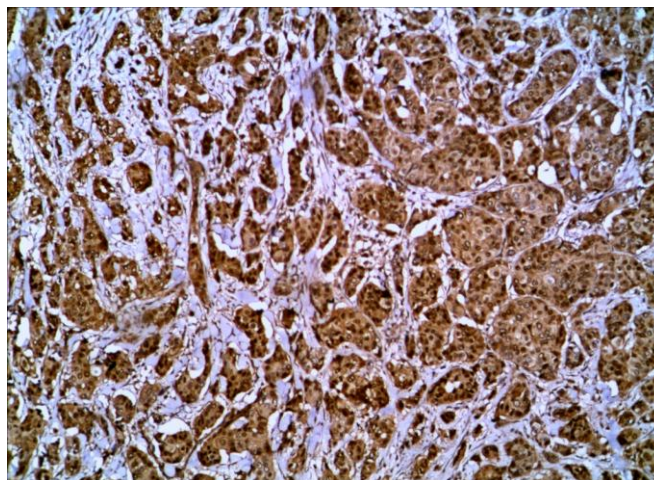
رنگ‌پذیری متوسط: ۲، رنگ‌پذیری شدید: ۳. سپس نمره شدت در نمره وسعت ضرب شد (۷). در مرحله بعد، شاخص‌های مرتبط با پیش‌آگهی که عبارت‌اند از: سن، اندازه تومور اولیه، درجه تومور، و متاستاز به غدد لنفاوی. در مورد هر نمونه مطالعه شده، گزارش آسیب‌شناسی آن نمونه استخراج شد و به کمک نرم‌افزار محاسباتی مورد آنالیز قرار گرفت. روش‌های آماری تجزیه و تحلیل نتایج: تحلیل داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۸ نرم‌افزار SPSS و از آزمون مان ویتنی و نیز آزمون همبستگی غیر پارامتریک اسپیرمن استفاده شده است.

یافته‌ها

برای بررسی بروز FGFR2 در بیماران مبتلا به سرطان پستان، ۳۰ فرد مورد مطالعه قرار گرفتند که متوسط سن آنها ۴۷ ساله بود. از این تعداد ۲۰ مورد (۶۶ درصد) دارای متاستاز به غدد لنفاوی و ۶ مورد (۲۰ درصد) هم منفی گزارش شده و ۴ مورد هم وضعیت متاستاز آنها در



شکل ۱: نمونه رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی FGFR2 در هسته سلول‌های سرطانی پستان با درجه ۹



شکل ۲: نمونه رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی FGFR2 در سیتوپلاسم سلول‌های سرطانی پستان با درجه ۹

بحث

همچنین مارتین (Martin) و همکارانش نیز با تأیید وجود FGFR2 در هسته سلول‌های سرطانی پیشنهاد می‌کنند که این پروتئین در تکامل پستان و سرطان آن نقش دارد (۷). در مطالعه حاضر ارتباط بین شدت بروز پروتئین FGFR2 با سایز تومور و متاستاز آن نیز بررسی گردید که از نظر آماری ارتباط معناداری بین آنها دیده نشد. در حالی که در مطالعه سان (Sun) و همکارانش در سال ۲۰۱۲ که در ۱۲۵ نمونه سرطان پستان انجام شد، این ارتباط معنادار گزارش شد.

($P.value < 0/02$) که محدودیت حجم نمونه و شاید تفاوت ژنتیک سلولی جمعیت‌های مورد آزمایش علت تفاوت در نتایج باشد. آنها نیز پیشنهاد می‌کنند که این پروتئین می‌تواند بیومارکر مناسبی برای تشخیص افرادی که پروگنوز بسیار ضعیفی دارند، باشد (۹).

در آخر با وجود اینکه این مطالعه ارتباط معناداری بین پارامترهای کلینیکال پاتولوژی سرطان پستان و فاکتور FGFR2 را نشان نمی‌دهد، اما بررسی این ارتباط نیازمند انجام مطالعات جامع‌تری جهت تعیین نقش واقعی این فاکتور در سرطان پستان می‌باشد تا بتوان در درمان سرطان پستان از آن استفاده نمود.

FGFR2 دسته بزرگی از مولکول‌های سیگنالینگ است که در چندین فرایند فیزیولوژیک از جمله تکثیر سلولی، تمایز و رگ‌زایی دخالت دارد. عملکرد غیر کنترلی این مولکول می‌تواند منجر به تکامل سرطان‌ها شود، به طوری که بروز بیش از حد این فاکتور در رده‌های سلولی سرطان پستان نیز دیده شده است و مهار آن می‌تواند مانع از تکثیر سلول‌های توموری پستانی شود. از آنجایی که در سال‌های اخیر، مطالعاتی در مورد این فاکتور به عنوان یکی از کاندیداها در امر ایجاد سرطان پستان مورد بحث قرار گرفته است، به همین منظور ما نیز بر آن شدیم تا در این مطالعه ارتباط بروز پروتئین FGFR2 و وضعیت پاتولوژیک سرطان پستان به طریق ایمنوهیستوشیمی را مورد بررسی قرار دهیم. در مطالعه حاضر بروز پروتئین FGFR2 در سیتوپلاسم و هسته سلول‌های سرطانی پستان مشاهده گردید که این نتیجه با مطالعه‌ای که Tannheimer و همکارانش در سال ۲۰۰۰ بر روی بروز این پروتئین در رده سلولی سرطانی انسانی انجام شد، هم‌خوانی داشته و آنها بیان داشتند که این پروتئین در سرطان پستان نیز فعال می‌شوند (۸).

قدردانی

همچنین از همکاری پرسنل محترم آزمایشگاه‌ها و بیمارستان‌هایی که نمونه‌ها از آنها جمع‌آوری شد، صمیمانه تشکر می‌شود.

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز به دلیل تأمین هزینه قدردانی می‌شود.

منابع

- 1- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011Mar-Apr; 61(2): 69–90.
- 2- Wang N, Ma Q, Wang Y, Ma G, Zhai H. Cacy BP/SIP expression is involved in the clinical progression of breast cancer. *World J Surg* 2010Nov; 34(1): 2545–52.
- 3- Olopade OI, Grushko TA, Nanda R, Hou D. Advances in breast cancer: Pathways to personalized medicine. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 7988–99.
- 4- Dickson C, Spencer-Dene B, Dillon C, Fantl V. Tyrosine kinase signalling in breast cancer: fibroblast growth factors and their receptors. *Breast Cancer Res* 2000; 2: 191–6.
- 5- Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, Pharoah PD, Thompson D, Ballinger DG, "et al". Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 2007; 447:1087–93.
- 6- Hunter DJ, Kraft P, Jacobs KB, Cox DG, Yeager M, Hankinson SE, "et al". A genome-wide association study identifies alleles in FGFR2 associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer. *Nat Genet* 2007Jul; 39(7): 870–4.
- 7- Martin AJ, Grant A, Ashfield AM, Palmer CN, Baker L, Quinlan PR, "et al". FGFR2 protein expression in breast cancer: nuclear localisation and correlation with patient genotype. *BMC Research Notes* 2011Mar, 4(72): 1-7.
- 8- Tannheimer SL, Rehemtulla A, Ethier SP. Characterization of fibroblast growth factor receptor 2 overexpression in the human breast cancer cell line SUM-52PE. *Breast Cancer Res* 2000May; 2(4): 311-20.
- 9- Sun S, Jiang Y, Zhang G, Song H, Zhang X, Zhang Y, "et al". Increased expression of fibroblastic growth factor receptor 2 is correlated with poor prognosis in patients with breast cancer. *J Surg Oncol* 2012 Jun; 105(8): 773–9.

The Relationship between Fibroblast Growth Factor Receptor Type 2 and other Indicators of Breast Cancer

Iran Rashidi¹, Mihan Taheri Moghadam², Reza Shojaodin^{3*}

1-Associate Professor of Pathology.

2-Assistant Professor of Anatomy.

3-Resident of Pathology.

1,3-Department of Pathology, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

2-Department of Anatomy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author:
Reza Shojaodin; Department of Pathology, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tel: +989166125417
Email: dr_shojaeddin@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Nowadays the therapeutic methods are being shifted toward “targeted therapy” which means specific therapy against one expressed factor in cancerous tissue. In recent years several indicators for evaluating the prognosis of breast cancer have been under investigation. One of these is fibroblast growth factor receptor (FGFR2). Fibroblast growth factors play multiple physiological roles and in some studies have been regarded as effective parameter in prognosis of breast cancer while it has not been the case in other studies.

Subjects and Methods: The effects of them are exerted via their receptors. A retrospective study was applied.

Immunohistochemical method was applied. Also, statistical analysis was done.

Results: No statistical correlation between FGFR2 and tumor size, age, microscopic grade and auxiliary lymph node metastasis were found.

Conclusion: We did not find any correlation. It is suggested that the study be performed in larger scale and other parameters be included in the survey. Furthermore, such survey should be performed concerning other common cancers. Also, some pilot medicines must be assessed in a clinical trial.

Keywords: FGFR2, Invasive ductal carcinoma, Immunohistochemistry.

► Please cite this paper as:

Rashidi I, Taheri Moghadam M, Shojaodin R. The Relationship between Fibroblast Growth Factor Receptor Type 2 and other Indicators of Breast Cancer. *Jundishapur Sci Med J* 2015;14(5):599-604.

Received: Jan 7, 2015

Revised: June 21, 2015

Accepted: July 6, 2015