

## تحقیقی

# وضعیت بیان پروتوانکوژن MDM2 در سرطان اولیه پستان و رابطه آن با برخی عوامل مؤثر در پیش آگهی

دکتر محمدرضا جلالی ندوشن\*<sup>۱</sup>، دکتر علی دواتی<sup>۲</sup>، دکتر شهاب باقرزاده شهیدی<sup>۳</sup>

۱- متخصص آسیب‌شناسی و دانشیار دانشکده پزشکی شاهد، تهران. ۲- متخصص پزشکی اجتماعی و استادیار دانشکده پزشکی شاهد، تهران. ۳- پزشک عمومی.

## چکیده

**زمینه و هدف:** سرطان پستان شایع‌ترین سرطان در زنان می‌باشد. اخیراً عوامل شناخته شده در پیش‌آگهی سرطان پستان افزایش یافته است که یکی از این عوامل حضور ژن MDM2 در بعضی کارسینوم‌ها، سارکوم‌ها و لوکمی‌ها می‌باشد. هدف از این مطالعه تعیین حضور ژن MDM2 در بیماران با سرطان اولیه پستان و ارتباط آن با درجه بدخیمی، مرحله پیشرفت و درگیری گره لنفاوی زیربغل بود.

**روش بررسی:** این مطالعه توصیفی - تحلیلی روی ۷۵ نمونه از بیماران با سرطان پستان اولیه در طی سال‌های ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۴ مراجعه کننده به بیمارستان مصطفی خمینی تهران صورت گرفت. در این مطالعه از بلوک‌های پارافینی باگانی شده دو برش بافتی از هر نمونه تهیه گردید که لام اول با روش هماتوکسیلین و انوزین رنگ‌آمیزی شد و در لام دوم MDM2 با روش آنتی‌بادی پلی‌کلونال با روش ایمونوهیستوشیمی مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با کمک آزمون کای دو، من‌ویتنی و به وسیله نرم‌افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل گردید.

**یافته‌ها:** میانگین و انحراف معیار سنی بیماران  $54 \pm 12/5$  تعیین شد. ۵۸/۷ درصد از تومور بیماران از نظر پیشرفت تومور در مرحله II و ۴۲/۷ درصد تومور بیماران از نظر درجه بدخیمی در مرحله III قرار داشت. بین درجه بدخیمی تومور بیماران و ژن MDM2 ارتباطی وجود نداشت، ولی از طرف دیگر ۶۹/۳ درصد بیماران دارای درگیری گره لنفاوی و ۳۲ درصد آنها MDM2 مثبت بودند. بین ظهور ژن MDM2 با مرحله تومور و درگیری گره لنفاوی ارتباط معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه نشان داد که ژن MDM2 می‌تواند به عنوان عامل مؤثری در پیش‌آگهی سرطان پستان در نظر گرفته شود.

**کلید واژه‌ها:** ژن MDM2، درجه بدخیمی، مرحله تومور

\* نویسنده مسؤول: دکتر محمدرضا جلالی ندوشن، پست الکترونیکی: [jalali@shahed.ac.ir](mailto:jalali@shahed.ac.ir)

نشانی: تهران، بلوار کشاورز، خیابان شهید عبدالله زاده، پلاک ۲۹، دانشکده پزشکی شاهد، تلفن: ۸۸۹۶۳۸۴۹ (۰۲۱)، نمابر: ۸۸۹۶۹۳۱۰

وصول مقاله: ۸۶/۷/۲۲، اصلاح نهایی: ۸۶/۱۲/۲۰، پذیرش مقاله: ۸۷/۳/۲۰

## مقدمه

هیچ سرطانی برای زنان مانند سرطان پستان نگران کننده نمی‌باشد (۱). این سرطان در زنان شایع‌ترین سرطان بوده و بیشترین میزان مرگ مربوط به آن در سن ۴۰ تا ۴۴ سالگی رخ می‌دهد (۲). بر طبق ارزیابی انجام شده در سال ۲۰۰۱ به وسیله انجمن سرطان آمریکا در ایالات متحده، تعداد ۱۹۲۲۰۰ مورد سرطان پستان مهاجم یافت شده که از این تعداد ۴۰۸۶۰ نفر فوت کرده‌اند. این میزان سرطان پستان را بعد از سرطان ریه به عنوان دومین سرطان عامل مرگ معرفی می‌کند (۱). در ایران براساس آخرین گزارش کشوری ثبت موارد سرطانی، سرطان پستان پس از سرطان پوست شایع‌ترین بدخیمی را در زنان و مردان تشکیل می‌دهد. به طوری که سرطان پوست ۱۵/۷ درصد و سرطان پستان ۱۵ درصد از کل موارد بدخیمی را در دو جنس تشکیل می‌دهد. براساس این مطالعه بیشترین شیوع در استان بوشهر (۳۵/۸ درصد) و کمترین آن در استان کردستان (۸/۶ درصد) بوده است (۳).

سرطان پستان ۳۳ درصد سرطان‌های زنان را شامل می‌شود که ۲۰ درصد از این موارد به مرگ منجر می‌گردد (۱). این بدخیمی یک بیماری وابسته به هورمون است که تعداد زیادی از عوامل خطر آن شناخته شده است (۴). از جمله این عوامل خطر می‌توان به گوناگونی جغرافیایی، سن، تاریخچه فامیلی، تاریخچه حاملگی، بارداری، بیماری خوش خیم پستان، استروژن‌های آگروژن، داروی ضد بارداری خوراکی، چاقی، رژیم با چربی بالا، مصرف الکل، کشیدن سیگار و پرتوتابی به قفسه‌سینه اشاره نمود (۵و۶). همچنین عوامل مؤثر در پیش‌آگهی شامل اندازه کارسینوم اولیه، درگیری گره‌های لنفاوی و تعداد گره‌های لنفاوی همراه با متاستاز، درجه‌بندی کارسینوم، مرحله پیشرفت تومور، نوع هیستولوژیک کارسینوم، تهاجم عروقی لنفی، حضور گیرنده‌های استروژن یا پروژسترون، میزان پرولیفراسیون سرطان، آناپلوئیدی و انکوژن‌ها و ژن‌های سرکوبگر تومور می‌باشند که در مورد نقش آنها در ایجاد سرطان پستان نظرات متفاوتی وجود دارد (۷و۸). MDM2 یک پروتئوکوزن معرفی شده در بافت‌های نرم مانند پستان، گلیوم و سارکوم می‌باشد. همچنین ژن MDM2 در تومورهای با منشأ غیر اپیتلیال به خصوص در آن

بافت‌هایی که از مزانشیم مشتق شده‌اند، یافت می‌شود. تقویت حضور MDM2 در نزدیک به ۲۰ درصد در تومورهای بافت نرم شامل استئوسارکوم، لیوسارکوم و در حدود ۹ درصد در گلیوم و ۱۲ درصد در تومورهای سلولی بافتی بیضه‌ای یافت شده است (۹). از آنجا که در این خصوص نظرات متفاوتی عنوان می‌گردد، لذا این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ظهور ژن MDM2 با سرطان پستان و رابطه آن با عوامل دیگر موثر در پیش‌آگهی بررسی شد.

## روش بررسی

این مطالعه توصیفی-تحلیلی از نوع مقطعی بود. ۷۵ زن مبتلا به سرطان پستان که در بیمارستان شهید مصطفی خمینی تهران از ابتدای سال ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۴ بستری شده و با تشخیص کارسینوم داکتال مهاجم تحت عمل جراحی ماستکتومی قرار گرفته بودند، بررسی شدند. اطلاعات دموگرافیک بیماران به وسیله چک لیست از پرونده بیماران استخراج گردید. ابتدا نمونه‌ها برش داده شد و مشخصات ماکروسکوپی به ویژه اندازه تومور و تعداد گره‌های لنفاوی جدا شده، تعیین گردید. پس از فیکساسیون نمونه‌ها با فرمالین بافره ۱۰ درصد، از تومور و گره‌های لنفاوی برش به عمل آمد و آماده‌سازی گردید. ضمن آن که کنترل مثبت بافت طبیعی پستان و کنترل منفی استرومای همبند پستان بود.

برش‌های بافتی تومور و همچنین برش بافتی از گره‌های لنفاوی با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی گردید و نوع تومور، درجه بدخیمی براساس معیارهای Natingham Modification of Bloom-Richardson در سه درجه I و II و III و تعداد گره‌های لنفاوی درگیر، با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین و براساس روش استاندارد انجام شده در بخش‌های آسیب‌شناسی تعیین و به وسیله میکروسکوپ نوری بررسی شد.

برش تهیه شده با استفاده از دستورالعمل کیت مورد استفاده شرکت DAKO برای بررسی بیان ژن MDM2 به روش ایمنو هیستوشیمی رنگ‌آمیزی گردید و به وسیله میکروسکوپ نوری از نظر مثبت یا منفی بودن این مارکر بررسی گردید. تمامی لام‌ها به وسیله یک نفر آسیب‌شناس بررسی شدند.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS وارد رایانه

جدول ۲: فراوانی پروتوانکوژن MDM2 براساس پیشرفت تومور

MDM2		مرحله بندی
مثبت	منفی	
تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	
۰ (۰)	۲۲ (۱۰۰)	I
۲۱ (۴۷/۷۲)	۲۳ (۵۲/۲۷)	II
۳ (۳۳/۳۳)	۶ (۶۶/۶۶)	III
۲۴ (۳۲)	۵۱ (۶۸)	جمع

برای تعیین ارتباط پروتوانکوژن MDM2 با درگیری غددلنفاوی از آزمون آماری کای دو استفاده گردید و نشان داد که این ارتباط نیز معنی دار است ( $P < 0.05$ ). به نظر می رسد که با درگیری غددلنفاوی میزان ظهور پروتوانکوژن MDM2 نیز افزایش می یابد (جدول ۳).

جدول ۳: فراوانی پروتوانکوژن MDM2

براساس درگیری غددلنفاوی

MDM2		درگیری غددلنفاوی
مثبت	منفی	
تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	
۰ (۰)	۲۳ (۱۰۰)	ندارد
۲۴ (۴۶/۱۵)	۲۸ (۵۳/۸۴)	دارد
۲۴ (۳۲)	۵۱ (۶۸)	جمع

### بحث

مطالعه ما روی ۷۵ نمونه سرطان اولیه پستان صورت گرفت که در آن بیان ژن MDM2 در ۳۲ درصد از نمونه ها مثبت شد. در مورد بیان ژن MDM2 در سرطان پستان، پس از بررسی بانک های اطلاعاتی موجود در داخل کشور مطالعه مشابه ای یافت نشد.

Fontana حضور ژن MDM2 را در ارتباط با سرطان پستان مورد بررسی قرار دادند که در آن مطالعه از ۲۳۹ بیمار مورد بررسی ۲۵ نفر (۱۰ درصد) دارای ژن MDM2 بودند. در آن مطالعه هیچ ارتباطی بین ژن مربوطه و عوامل دیگر مانند مرحله، درجه بدخیمی و گره لنفاوی یافت نشد (۱۰). با توجه به این که در مطالعه ما ۳۲ درصد از نمونه ها دارای ژن مربوطه

گردید. در قسمت توصیفی مطالعه از بیان درصد و در قسمت تحلیلی داده ها با استفاده از آزمون کای دو و من ویتنی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

### یافته ها

میانگین سن افراد ۵۴/۰۱ با انحراف معیار ۱۲/۵۲ سال بود. به طوری که جوان ترین فرد ۲۷ سال و مسن ترین آنان ۸۱ سال داشت. همچنین از نظر درجه بدخیمی بیشتر نمونه های مورد بررسی در مرحله III (۴۲/۷ درصد) و از نظر میزان پیشرفت تومور بیشتر نمونه های مورد بررسی در مرحله II (۵۸/۷ درصد) قرار داشتند.

۶۹/۳ درصد بیماران دارای درگیری غدد لنفاوی بودند. به طوری که درگیری یک غده لنفاوی با ۱۷/۳ درصد بیشترین تعداد را به خود اختصاص داده بود. ضمن آن که در یک نمونه، دو غده لنفاوی درگیر بود. پروتوانکوژن MDM2 که هدف اصلی این مطالعه نیز بود، در ۵۱ نفر از بیماران (۳۲ درصد) مثبت بود و ۶۸ درصد بیماران از نظر این تومور مارکر منفی بودند.

بین پروتوانکوژن MDM2 با درجه بدخیمی ارتباط معنی داری به دست نیامد. ولی می توان با توجه به جدول یک به این نتیجه رسید که با افزایش درجه بدخیمی مقدار مثبت بودن MDM2 افزایش می یابد.

جدول ۱: فراوانی پروتوانکوژن MDM2 براساس درجه بدخیمی

MDM2		درجه بدخیمی
مثبت	منفی	
تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	
۲ (۱۵/۳۸)	۱۱ (۸۴/۶۱)	I
۹ (۳۰)	۲۱ (۷۰)	II
۱۳ (۴۰/۶۲)	۱۹ (۵۹/۳۷)	III
۲۴ (۳۲)	۵۱ (۶۸)	جمع

همچنین به منظور تعیین ارتباط پروتوانکوژن MDM2 با پیشرفت تومور از آزمون آماری من ویتنی استفاده گردید و مشخص شد که بین پروتوانکوژن MDM2 با پیشرفت تومور ارتباط معنی داری وجود دارد ( $P < 0.05$ ) (جدول ۲).

بودند، شاید بتوان تفاوت مشاهده شده را به تفاوت در حجم نمونه، تفاوت‌های نژادی، سنی و یا عوامل دیگر ارتباط داد.

طی مطالعه Marchetti در ۶۶ بیمار مبتلا به کارسینوم اولیه پستان رابطه بین ژن MDM2 و نوع بافت مربوطه، grading، وضعیت گیرنده استروژن، حضور ژن P53 و خاصیت پرولیفراتیو بافتی بررسی شد. ۹ مورد (۱۳/۶ درصد) از ۶۶ بیمار به طور قوی و ۸ مورد (۱۵/۴ درصد) به صورت مرزی ژن MDM2 را حمل می‌نمودند. همچنین در آن مطالعه به جز ارتباط بین ژن MDM2 و گیرنده استروژن رابطه دیگری بین ژن مربوطه با دیگر متغیرها بالینی یافت نشد (۱۱).

با وجود این که در مطالعه ما قدرت مثبت شدن MDM2 مدنظر نبود، ولی یافته‌های ما تقریباً مشابه مطالعه مربوطه بوده و اگر قدرت مثبت بودن را در نظر بگیریم، تقریباً ۲۵ درصد افراد دارای ژن MDM2 می‌باشند. ما در مطالعه خود بین MDM2 و grade ارتباطی پیدا نکردیم و فقط بین MDM2 با stage و گره‌لنفوی ارتباط معنی‌داری یافتیم و چون stage و درگیری گره‌لنفوی عوامل مؤثری در پیش‌آگهی می‌باشند، می‌توانیم پیش‌بینی کنیم که بیماران MDM2 مثبت ممکن است با نتایج بدتری همراه باشند. ولی نظر به این که در مطالعه ما گیرنده استروژن بررسی نشد، نمی‌توان به درستی در مورد آن قضاوت نمود.

در مطالعه Gunther موتاسیون ژن P53 و حضور پروتئین P53 و MDM2 در کارسینوم پستان مهاجم به روش ایمنوهایستوشیمی بررسی شد. ۳۱ بیمار با سرطان پستان به طور تصادفی وارد مطالعه شدند. ارتباط بین stage، grade، وضعیت گیرنده استروژن، درگیری گره‌لنفوی و پلوئیدی DNA با ژن MDM2 بررسی و آنکو پروتئین MDM2 در ۱۰ بیمار (۳۲/۲ درصد) یافت شد و مشخص گردید که تمام بیماران با MDM2 منفی در grade I قرار داشتند (۱۲).

نکته مورد بحث در این قسمت رابطه یافت شده بین MDM2 و grade می‌باشد که می‌تواند MDM2 را به عنوان یک عامل پیش‌آگهی منفی معرفی نماید و شاید اگر این ارتباط در مطالعه ما پیدا نشده است، مربوط به جهش P53 در بیماران مورد مطالعه ما باشد که تحت بررسی قرار نگرفته است. همچنین بایستی این نکته را مدنظر قرار داد که در مطالعه

انجام شده بیماران MDM2 مثبت دارای درجه بدخیمی ۱ و ۲ بودند که نشان می‌دهد، بیماران MDM2 مثبت دارای grade‌های بالاتر بودند، که MDM2 را به عنوان یک تعیین کننده پیش‌آگهی بد معرفی می‌نماید. البته باید متذکر شد که با وجود این که در مطالعه ما ارتباطی بین ژن MDM2 و grade یافت نشد، ولی میزان مثبت بودن MDM2 در grade‌های بالاتر بیشتر می‌باشد. به گونه‌ای که در grade‌های ۱ و ۲ و ۳ به ترتیب ۲ و ۹ و ۱۳ بیمار دارای MDM2 مثبت می‌باشند که تأییدکننده مطالعه مربوطه است.

در مطالعه Turbin حضور پروتئین MDM2 به عنوان یک مارکر پروگنوستیک منفی در کارسینوم پستان مورد بررسی قرار گرفت. در آن مطالعه ۴۹ بیمار (۱۴ درصد) دارای ژن MDM2 بودند که از آنها ۳۵ بیمار (۱۰ درصد) به صورت ضعیف و ۱۴ بیمار (۴ درصد) به طور قوی مثبت بودند. همچنین در طی این مطالعه بیمارانی که MDM2 مثبت بودند، دارای پیش‌آگهی بدتر بودند و میزان بقای کمتری نسبت به بیماران MDM2 منفی داشتند که در این مطالعه MDM2 به عنوان یک مارکر پروگنوستیک منفی غیروابسته به grade، درگیری گره‌لنفوی، وضعیت گیرنده استروژن و اندازه تومور معرفی گردید (۱۳).

در مطالعه دیگری که Baccouche در مورد وضعیت ایمنوهایستوشیمی‌کال P53، MDM2، bcl2، bax و ER در کارسینوم پستان مهاجم در ۷۰ بیمار تونسی انجام داد، ژن MDM2 در ۴۳ (۶۱ درصد) بیمار مثبت شد. در این مطالعه نیز MDM2 به عنوان مارکر پروگنوستیک بد معرفی گردید (۱۴). مطالعه Hori در ارتباط با تغییرات MDM2 در ۶۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان انسانی و ارتباط آن با نکروز تومور، غدد لنفاوی و سایر یافته‌های کلینیکوپاتولوژیکی انجام شد. در این مطالعه ۷ نوع ژن MDM2 از طریق روش RT-PCR یافت شد که از این میان هیچ ارتباط مشخصی بین MDM2 و اندازه تومور، نوع بافت و وضعیت گیرنده هورمون (استروژن، پروژسترون) یافت نگردید. ولی با این وجود ارتباطی بین ژن MDM2 در مبتلایان با بیماری پیشرفته همراه با درگیری گره‌لنفوی ناحیه آگزیلاری و نکروز گسترده تومور یافت شد و MDM2 به عنوان یک مارکر پروگنوستیک معرفی گردید (۱۵).

عنوان یک عامل مؤثر در پیش آگهی یافتیم که برای به دست آوردن نتایج قطعی و تعیین نقش بیشتر MDM2 در پیش آگهی نیاز به مطالعات کامل تر با حجم نمونه بیشتر و پیگیری طولانی مدت وجود دارد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی بود. بدین وسیله از تمامی کسانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، سپاسگزاری می نمایم.

### References

- 1) Kumar V, Robbins S, Cotran R. Robbins Pathologic basis of disease. 7<sup>th</sup>. Philadelphia: Saunders Co. 2003; pp: 705-17.
- 2) Brunicaudi C, Anderson D, Billiar T, Dunn D, Hunter J, Pollock R. Schwartz's principles of surgery. 8<sup>th</sup>. Vol 1. New York. McGraw-Hill. 2005;pp:472-84.
- 3) Center for Diseases Control. Prevention Noncommunicable Deputy. Cancer office. Iranian Annual of National cancer Registration Report. 1<sup>st</sup>. Tehran. Kelk-e-Dirin Publication. 2005; pp: 1-3. [Persian]
- 4) Fauci AS, Braunwald E, Hauser SL, Jameson L, Longo DL, Kasper DL. Harrison's principles of Internal medicine. 16<sup>th</sup>. New York: Mc Grow-Hill. 2005; pp: 516-23.
- 5) Arver B, Du Q, Chen J, Luo L, Lindblom A. Hereditary breast cancer: a review. Semin Cancer Biol. 2000;10(4):271-88.
- 6) Clemons M, Goss P. Estrogen and the risk of breast cancer. N Engl J Med. 2001;344(4):276-85.
- 7) Donegan WL. Tumor-related prognostic factors for breast cancer. CA Cancer J Clin. 1997; 47(1):28-51.
- 8) Clark GM, Harris JR. Prognostic and predictive factors. In: Diseases of the breast. 2<sup>nd</sup>. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2000; pp: 489-515.
- 9) Reles A. Molecular genetic alterations in ovarian cancer – the role of the p53 tumor suppressor gene and the mdm2 oncogene. 2001; pp:1-33. [http://dochostr.rz.hu-berlin.de/habilitationen/reles-](http://dochostr.rz.hu-berlin.de/habilitationen/reles-angela-2001-12-04/HTML/index.html)

همان گونه که مشخص است، نتایج اکثر مطالعات خارج کشور مشابه یافته های ما بوده و برخی از اختلافات نیز به علت روش اجرا و بررسی هم زمان چند متغیر می باشد.

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج سایر مطالعات، به نظر می رسد MDM2 عاملی مؤثر در پیش آگهی سرطان پستان باشد و نظرات متعدد بیشتر مطرح کننده عامل خطر بودن آن است. ما نیز به دلیل ارتباطی که بین MDM2 و stage پیدا کردیم، MDM2 را به

[angela-2001-12-04/HTML/index.html](http://dochostr.rz.hu-berlin.de/habilitationen/reles-angela-2001-12-04/HTML/index.html)

- 10) Fontana X, Ferrari P, Abbes M, Monticelli J, Namer M, Bussièrè F. Study of mdm2 gene amplification in primary breast tumors. Bull Cancer. 1994; 81(7):587-92.
- 11) Marchetti A, Buttitta F, Girlando S, Dalla Palma P, Pellegrini S, Fina P, et al. mdm2 gene alterations and mdm2 protein expression in breast carcinomas. J Pathol. 1995;175(1):31-8.
- 12) Gunther T, Schneider-Stock R, Rys J, Niezabitowski A, Roessner A. p53 gene mutations and expression of p53 and mdm2 proteins in invasive breast carcinoma A comparative analysis with clinico-pathological factors. J Cancer Res clin Oncol. 1997; 123(7): 388-394.
- 13) Turbin DA, Cheangl MCU, Bajdik CD, Gelmon KA, Yoridal E, Lucal AD, et al. MDM2 protein expression is a negative prognostic marker in breast carcinoma. Modern Pathology. 2006; 19 (1):69-74.
- 14) Baccouche S, Daoud J, Frikha M, Mokdad-Gargouri R, Gargouri A, Jlidi R. Immunohistochemical status of p53, MDM2, bcl2, bax, and ER in invasive ductal breast carcinoma in Tunisian patients. Ann N Y Acad Sci. 2003; 1010:752-63.
- 15) Hori M, Shimazaki J, Inagawa S, Itabashi M, Hori M. Overexpression of MDM2 oncoprotein correlates with possession of estrogen receptor alpha and lack of MDM2 mRNA splice variants in human breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2002; 71(1):77-83.