

بررسی بیان نشانگر p21 در کارسینوم اوروتلیال مثانه و ارتباط آن با خصوصیات هیستوپاتولوژی

سجاده موحدی نیا^۱، میترا مهرآزما^۲، سهیلا ندرمحمدی^{۳*}، مریم ابوالحسنی^۴، محمد موحدی نیا^۵، زهرا مجد^۴،
مژگان عسگری^۶، فرنوش صداقتی^۶

تاریخ چاپ: ۹۶/۷/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۲۳

تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۱۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: علاوه بر عوامل بالینی و بافت‌شناسی که قادر به افتراق درجات پایین از بالا در تومور اوروتلیال مثانه هستند، تعدادی نشانگر زیستی نیز مطرح شده‌اند که ممکن است در ارزیابی درجه، پیامد و پیش‌آگهی تومور مفید باشند. هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی ارتباط بیان بیش از اندازه نشانگر p21 با درجه هیستولوژیک، پیش‌آگهی و عود کارسینوم اوروتلیال مثانه بود.

شیوه مطالعه: در این مطالعه مقطعی، بلوک‌های پارافینه ۳۵۶ بیمار جمع‌آوری گردید. نقاط توموری بافت از بلوک اصلی انتخاب و بر روی بلوک ریزآرایه بافتی (Tissue microarray یا TMA) گیرنده سوار شد. رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی برای نشانگر p21 انجام گرفت. شدت و گستردگی رنگ‌آمیزی برای این نشانگر با استفاده از روش ترکیبی و نیمه کمی [به نام معیار Histochemical Score (H-Score)] توسط دو پاتولوژیست تعیین شد.

یافته‌ها: بیان p21 در تومورهای درجه بالا و پایین تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشت؛ به طوری که بیان p21 بر اساس H-Score در گروه با تومور درجه بالا به طور معنی‌داری بیشتر از درجه پایین بود ($91/06 \pm 153/85$ در برابر $130/01 \pm 82/20$). مطابق با تحلیل سطح زیر منحنی (ROC) Receiver operating characteristic، بیان نشانگر p21 (بر اساس H-Score) ارزش بالایی در تمایز موارد درجه بالا از درجه پایین داشت ($ROC = 0/596$, $P = 0/002$). بر همین اساس، بهترین نقطه برش برای نشانگر فوق در تمایز این دو، $92/5$ به دست آمد که حساسیت، $67/7$ درصد و ویژگی، $44/7$ درصد بود. با توجه به نتایج تحلیل رگرسیون لجستیک چند متغیره در ارزیابی عوامل مرتبط با عود تومور، وجود الگوی غیر پاپیلری (نسبت احتمال: $6/363$ ، $P = 0/001$) پیش‌بینی کننده عود می‌باشد.

نتیجه‌گیری: با تعیین H-Score نشانگر p21، تمایز درجه بالا و پایین تومور با حساسیت و ویژگی قابل قبولی امکان‌پذیر خواهد بود. وجود الگوی غیر پاپیلری، ارزش بالایی در پیش‌بینی عود تومور دارد.

کلمات کلیدی: کارسینوم اوروتلیال، تومور مثانه، p21، ایمونوهیستوشیمی، نشانگر زیستی، پیش‌آگهی

ارجاع: موحدی نیا سجاده، مهرآزما میترا، ندرمحمدی سهیلا، ابوالحسنی مریم، موحدی نیا محمد، مجد زهرا، عسگری مژگان، صداقتی فرنوش. **بررسی بیان نشانگر p21 در کارسینوم اوروتلیال مثانه و ارتباط آن با خصوصیات هیستوپاتولوژی.** مجله مطالعات بالینی دانشکده پزشکی افضلی پور ۱۳۹۶؛ ۲(۴-۳): ۷۸-۸۸.

۱- پاتولوژیست، مرکز تحقیقات پاتولوژی و سلول‌های بنیادی و گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان و گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۲- استاد، مرکز تحقیقات انکوپاتولوژی و گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۳- پاتولوژیست، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۴- دانشیار، مرکز تحقیقات انکوپاتولوژی و گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۵- دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۶- دستیار، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

Email: nadermohammadi56@yahoo.com

نویسنده مسؤول: سهیلا ندرمحمدی

آدرس: زنجان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، بیمارستان امدادی اهر، بخش پاتولوژی تلفن: ۰۲۴ ۳۵۲۷۷۴۱

مقدمه

سرطان مثانه، ۲ تا ۶ درصد از تمام بدخیمی‌ها را تشکیل می‌دهد و چهارمین سرطان شایع در مردان، هشتمین سرطان شایع در زنان و دومین سرطان شایع اورولوژیک به شمار می‌رود (۱). نسبت ابتلای مردان به این سرطان چهار برابر زنان است. کارسینوم اوروتلیال (Urothelial carcinoma) یا Transitional cell carcinoma (TCC)، شایع‌ترین نوع کارسینوم اولیه مثانه می‌باشد و حدود ۹۰ درصد موارد آن را تشکیل می‌دهد (۲). بر اساس گزارش ثبت سرطان ملی در ایران که در سال ۲۰۰۸-۲۰۰۹ به چاپ رسید، کارسینوم یوروتلیال مثانه، پنجمین سرطان شایع در هر دو جنس و سومین سرطان شایع در مردان محسوب می‌شود (۳).

این کارسینوم به علت عودهای مکرر، اهمیت فراوانی دارد. مخارج سالانه سرطان مثانه حدود ۲/۲ میلیون دلار برآورد شده است که قسمت قابل توجهی از این مخارج، به پایش بیماری جهت بررسی عود اختصاص دارد (۴). ۷۰ درصد بیماران مبتلا به نوع عودکننده بیماری و نیازمند جراحی‌های مکرر می‌باشند و در حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد این نوع از سرطان به صورت تهاجم‌کننده به عضله پیشرفت می‌کند (۵). عودهای مکرر این سرطان، هزینه درمانی زیادی بر سیستم بهداشتی - درمانی تحمیل می‌نماید (۶).

تعیین پیش‌آگهی و میزان گسترش یک تومور و خطر پیشرفت آن به درجه هستیتولوژیک، مرحله و سایر نشانگرهای پیش‌آگهی دهنده تومور بستگی دارد. اکنون پیش‌آگهی اغلب به وسیله سیستم‌های درجه‌بندی هیستوپاتولوژیک تعیین می‌شود (۷). بنابراین، شاخص‌های پیش‌آگهی دهنده قابل اعتماد که بتوانند بین بیماران دارای کارسینوم خطر بالا و خطر کم افتراق قابل شوند، در تعیین برنامه پیگیری بیماران نقش مهمی دارد و پزشکان را قادر می‌سازد تا برای هر فردی با توجه به میزان خطر، روش پیگیری

مناسبی را تنظیم نمایند (۸).

در سال‌های اخیر، مطالعاتی بر روی مکانیسم مولکولی سرطان‌زایی کارسینوم‌های اوروتلیال مثانه صورت گرفته است. جهش‌های مولکولی متنوعی در روند تبدیل شدن اپیتلیوم نرمال به اپیتلیوم دیسپلاستیک شناسایی شده است. از جمله نشانگرهایی که در تومورزایی مطرح می‌شود، می‌توان به مولکول‌های نگهبان چرخه سلولی در عبور از مرحله G1 به S چرخه سلولی اشاره نمود که نقش مهمی را در تنظیم چرخه سلولی و پاسخ به تحریک فاکتور رشد ایفا می‌کنند (۹). مولکول‌های p16، p53، p21، Rb و HRAS از جمله اجزای کلیدی این نشانگرها در چرخه سلولی می‌باشد. بر اساس مطالعات مختلف، جهش‌های مولکولی شناخته شده در روند کارسینوژنز کارسینوم‌های درجه پایین، متفاوت از انواع درجه بالا می‌باشد. ادعا شده است که با استفاده از بررسی بیان این نشانگرها، می‌توان نوع درجه پایین و درجه بالا را از هم افتراق داد (۱۰-۱۲). به عنوان مثال، نتایج نشان داده است که در تومورهای دارای تهاجم به عضله، جهش ژن‌های TP53، MYCL و CDKN2A به طور معنی‌داری بیش از انواع با درجات پایین می‌باشد (۱۳)، اما تاکنون نشانگر اثبات شده‌ای که کاربرد بالینی داشته باشد، در دسترس نیست. یکی از دلایل این امر، نتایج ضد و نقیض پژوهش‌های مختلف و ناکافی بودن شواهد موجود است. از جمله نشانگرهایی که در تومورهای مثانه کمتر به آن پرداخته شده و نتایج متفاوتی درباره آن حاصل شده است، p21 می‌باشد.

از لحاظ بالینی، بیان هسته‌ای نشانگر p21 به طور قابل توجهی با متاستاز غدد لنفی در انواع سرطان‌ها به خوبی آشکار است. همچنین، نقش آن در گسترش تومورها، افزایش اندازه آن‌ها و همچنین، افزایش قدرت تهاجمی تومور به خوبی مشخص شده است (۱۴-۱۷). برخی تحقیقات، رابطه بین بیان نشانگر p21 را با کاهش بقای بیماران مبتلا به سرطان نشان

داده‌اند (۱۸). از طرف دیگر، کاهش بیان p21 در تومورهای یوروتلیال مثانه نیز مشاهده شده است، اما به اذعان برخی از مطالعات، جهش p21 بر خلاف جهش p53، با پیش‌آگهی ضعیفی همراه نیست (۱۹). به نظر می‌رسد که جهش p21، اتفاق اولیه‌ای در روند تومورزایی و مفید برای شناسایی ضایعات پیش‌بدخیم باشد (۲۰). بر اساس نتایج برخی مطالعات، تومورهای با درجات پایین بیشتر از نوع درجه بالا جهش p21 را نشان می‌دهند (۲۱)، اما تعدادی از پژوهش‌ها ادعا دارند که در تومورهای دارای تهاجم به عضله، جهش ژن‌های p21 به طور معنی‌داری بیش از انواع با درجات پایین است (۱۳). نتایج برخی تحقیقات نشان داده است که در کارسینوم در جای مثانه (Carcinoma in Situ یا CIS) بدون تهاجم به عضله، بیان نشانگر p21 به طور مستقل با عود و پیشرفت سرطان مثانه همراه بوده است (۲۲). بنابراین، به نظر می‌رسد که با شناسایی پروفایل بیان مولکولی تومورهای مثانه، بتوان با تشخیص و اقدام درمانی به موقع در مراحل اولیه تومورهای مثانه، پیامد بالینی این تومورها را ارتقا داد.

در مطالعه حاضر، ارتباط یافته‌های هیستوپاتولوژی و بالینی کارسینوم اوروتلیال مثانه از جمله درجه هیستولوژیک، عود و پیش‌آگهی با بیان نشانگر p21 بررسی گردید. نتایج حاصل شده به تقسیم‌بندی دقیق‌تر تومورهای مثانه از نظر درجه به منظور تصمیم‌گیری مناسب برای نوع درمان مورد نیاز کمک می‌کند.

شیوه مطالعه

در این پژوهش مقطعی گذشته‌نگر، بلوک‌های پارافینه ۳۵۶ بیمار مبتلا به کارسینوم اوروتلیال مثانه مراجعه کننده به بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی ایران در طی سال‌های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۱ جمع‌آوری گردید. اطلاعات مربوط به بیمار شامل سن، جنسیت، طول مدت بیماری، عود، بقای بیماران و مشخصات

پاتولوژیک تومور شامل درجه، مرحله تومور، تهاجم به لامینا پروپریا و موسکولاریس پروپریا از گزارش‌های پاتولوژی موجود در پرونده‌های بیماران و گزارش سیستموسکوپی و شرح عمل (در بیماران که رادیکال سیستمکتومی شده بودند) با استفاده از اطلاعات موجود در کامپیوتر بیمارستان یا با تماس تلفنی بیماران ثبت شد. طرح حاضر با کد اخلاق IR.IUMS.REC.1394.9211100011، در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایران به تصویب رسید.

رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی: بهترین نقاط توموری بافت از بلوک اصلی (از هر بلوک ۵ نقطه) انتخاب و بر روی بلوک ریزآرایه بافتی (Tissue microarray یا TMA) گیرنده سوار شد. در تهیه TMA، نمونه‌هایی با قطر ۰/۶ میلی‌متر و ارتفاع ۳-۵ میلی‌متر از هر نمونه بافت توموری ساخته شد. پس از ساخت بلوک TMA، مرحله برش از آن با استفاده از میکروتوم انجام گرفت. از هر بلوک آماده TMA، برش‌های ۵ میکرونی تهیه گردید. برش‌ها به مدت چند ثانیه در داخل ظرف حاوی اتانول و سپس داخل حمام بافتی حاوی آب مقطر با دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در مرحله بعد، برش‌ها بر روی لام‌های شارژدار انتقال یافت و پس از خشک شدن در دمای اتاق، به مدت ۲۵ دقیقه در فور با حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. مراحل پارافینه کردن و آب‌دهی بافت‌ها انجام گرفت.

جهت بلوک کردن آنزیم‌ها و مواد داخلی و مداخله‌گر در طی روند ایمنوهیستوشیمی، لام‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در پراکسید هیدروژن ۳ درصد در تاریکی و محیط مرطوب قرار داده شد. لام‌ها سه بار در بافر Tris-buffered saline (TBS) شستشو داده شد. جهت بازیافت آنتی‌ژنی، بافت‌ها به مدت ۲۰ دقیقه داخل اتوکلاو در ظرف حاوی بافر مناسب (Tris EDTA) Tris Ethylenediaminetetraacetic acid قرار گرفت. پس از سرد شدن بافر در دمای اتاق،

دوباره لام‌ها سه بار در بافر TBS به مدت ۳-۵ دقیقه شستشو داده شد. سپس بافت‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تماس با آنتی‌بادی اولیه p21 (با رقت ۱/۱۰۰ DAKO) قرار گرفت. پس از سه مرحله شستشو، انکوباسیون با آنتی‌بادی ثانویه (Envision K2007) به مدت یک ساعت انجام گردید. سپس سه مرحله شستشو انجام شد و جهت ظاهر شدن رنگ‌آمیزی، از محلول آماده 3, 3'-diaminobenzidine (۱۰ دقیقه) و سپس آب معمولی (Tap water) جهت شستشو استفاده گردید. مراحل دهیدراتاسیون بافت‌ها داخل گزیلول و الکل اتانول سریال انجام شد. تمام مراحل رنگ‌آمیزی برای نمونه کنترل منفی مشابه موارد ذکر شده صورت گرفت، به غیر از این که نمونه کنترل منفی فاقد مرحله افزودن آنتی‌بادی اولیه بود. برای کنترل مثبت نیز از بافت کارسینوم پاپیلری تیروئید استفاده شد.

امتیازدهی رنگ‌آمیزی: نمره‌دهی شدت و گستردگی رنگ‌آمیزی برای این نشانگر بر اساس

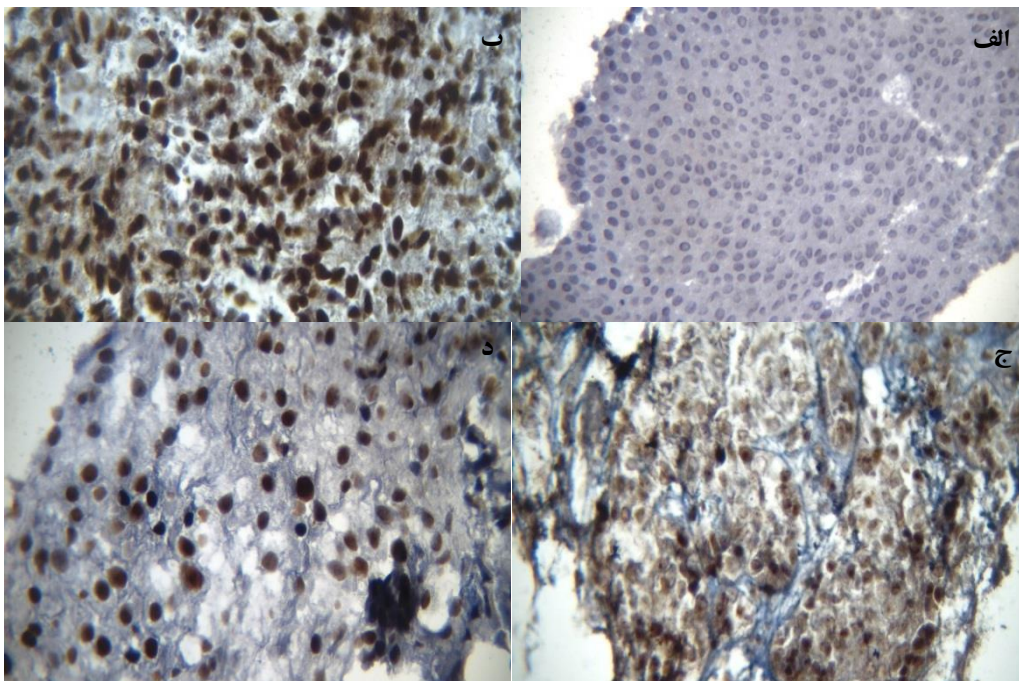
سیستم نیمه کمی ذکر شده در مطالعات قبلی (۲۲) توسط دو پاتولوژیست بدون اطلاع از اطلاعات بالینی و پاتولوژیکی بیماران به طور جداگانه انجام شد. شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها به چهار گروه تقسیم شد که شامل بدون رنگ‌پذیری (۰)، رنگ‌پذیری ضعیف (+۱)، رنگ‌پذیری متوسط (+۲) و رنگ‌پذیری قوی (+۳) بود. در مورد میزان درصد رنگ‌پذیری، سلول‌ها به چهار گروه «کمتر از ۲۵ درصد از سلول‌ها رنگ شده‌اند، ۲۵-۵۰ درصد از سلول‌ها رنگ شده‌اند، ۵۰-۷۵ درصد از سلول‌ها رنگ شده‌اند و بیشتر از ۷۵ درصد از سلول‌ها رنگ شده‌اند» تقسیم شدند. مقدار Histochemical Score (H-Score) که از حاصل ضرب شدت رنگ‌پذیری در درصد رنگ‌پذیری سلول‌ها به دست می‌آید نیز به عنوان شاخص دیگر میزان بیان p21 مورد بررسی قرار گرفت که مقدار آن از صفر تا ۳۰۰ متغیر می‌باشد. شکل ۱ انواع الگوی رنگ‌پذیری منفی و مثبت p21 به ترتیب در تومورهای درجه پایین و بالا را نشان می‌دهد.

الف

ب

ج

د



شکل ۱: انواع الگوی رنگ‌پذیری منفی و مثبت برای p21

الگوی رنگ‌پذیری منفی برای p21 در تومور اوروتلیال مثانه با درجه پایین و H-Score معادل صفر (الف)، رنگ‌پذیری مثبت قوی (+۳) و گسترده (۹۵ درصد) برای p21 در درجه بالای تومور مثانه با H-Score معادل ۲۸۵ (ب)، رنگ‌پذیری مثبت (+۲) حدود ۶۰ درصد سلول‌های توموری در تومور با درجه پایین و H-Score معادل ۱۲۰ (ج) و رنگ‌پذیری ضعیف (+۱) حدود ۸۰ درصد سلول‌های توموری در تومور با درجه پایین و H-Score معادل ۸۰ (د)

گرفت. از لحاظ شاخص‌های پایه، ۲۷۹ نفر از بیماران (۷۸/۸ درصد) مرد و ۷۵ نفر (۲۱/۶ درصد) زن بودند. بیماران در طیف سنی ۲۰ تا ۹۵ سال قرار داشتند و میانگین سنی آنان، $۱۳/۷ \pm ۶۴/۱$ سال بود.

از لحاظ اندازه تومور، بیشترین میانگین، $۱/۶ \pm ۲/۶$ سانتی‌متر گزارش گردید. در کل، ۲۰۸ تومور (۵۴/۸ درصد) اندازه کمتر از ۳ سانتی‌متر و ۱۴۸ تومور (۴۱/۶ درصد) اندازه بیش از ۳ سانتی‌متر داشتند. از لحاظ درجه تومور، ۱۵۸ مورد (۴۴/۴ درصد) درجه بالا و ۱۹۷ مورد (۵۵/۳ درصد) درجه پایین بودند. ۲۴ مورد (۶/۷ درصد) نیز از لحاظ وجود کانون هم‌زمان CIS مثبت بودند. از لحاظ پیش‌آگهی، ۲۶۰ مورد از بیماران (۷۳/۰ درصد) در طول پیگیری در قید حیات بودند و بقیه به دلیل سرطان یا عوارض آن فوت نمودند.

جدول ۱ ویژگی‌های تومورهای مورد بررسی را نشان می‌دهد.

نتایج به دست آمده برای متغیرهای کمی به صورت میانگین و انحراف معیار و برای متغیرهای کیفی طبقه‌ای به صورت درصد بیان شد. جهت مقایسه متغیرهای کمی، از آزمون t (برای متغیرهایی با توزیع نرمال مانند سن) یا Mann-Whitney U (برای متغیرهایی بدون توزیع نرمال مانند H-Score برای p21) و جهت مقایسه متغیرهای کیفی نیز از آزمون χ^2 استفاده گردید.

در نهایت، داده‌ها در نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ (version 21, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری داده‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

خصوصیات بالینی و هیستوپاتولوژیک بیماران و

ارتباط آن‌ها با درجه تومور: در مجموع، ۳۵۶ نمونه

کارسینوم اوروتلیال مورد ارزیابی هیستوپاتولوژیک قرار

جدول ۱: مقایسه خصوصیات هیستوپاتولوژیک و بالینی تومورها بر اساس درجه تومور

خصوصیات توموری	حالات ممکن	کل [تعداد (درصد)]	درجه بالا [تعداد (درصد)]	درجه پایین [تعداد (درصد)]	P
جنسیت	مرد	۲۷۹ (۷۸/۸)	۱۳۰ (۸۲/۸)	۱۴۹ (۷۵/۶)	۰/۱۰۱
	زن	۷۵ (۲۱/۲)	۲۷ (۱۷/۲)	۴۸ (۲۴/۴)	
اندازه (سانتی‌متر)	کمتر از ۳	۲۰۸ (۵۸/۴)	۷۱ (۴۴/۹)	۱۳۶ (۶۹/۰)	< ۰/۰۰۱
	مساوی یا بیشتر از ۳	۱۴۸ (۴۱/۶)	۸۷ (۵۵/۱)	۶۱ (۳۱/۰)	
لامینا پروپریا	درگیر	۱۶۹ (۴۷/۵)	۱۴۵ (۹۱/۸)	۲۴ (۱۲/۲)	< ۰/۰۰۱
	آزاد	۱۸۷ (۵۲/۵)	۱۳ (۸/۲)	۱۷۳ (۸۷/۸)	
موسکولاریس موکوزا	درگیر	۴۴ (۱۲/۴)	۴۳ (۲۷/۲)	۱ (۰/۵)	< ۰/۰۰۱
	آزاد	۳۱۲ (۸۷/۶)	۱۱۵ (۷۲/۸)	۱۹۶ (۹۹/۵)	
الگو	پاپیلری	۳۲۶ (۹۱/۶)	۱۳۳ (۸۴/۲)	۱۹۲ (۹۷/۵)	< ۰/۰۰۱
	غیر پاپیلری	۳۰ (۸/۴)	۲۵ (۱۵/۸)	۵ (۲/۵)	
CIS	وجود دارد	۲۴ (۶/۷)	۲۳ (۱۴/۶)	۱ (۰/۵)	< ۰/۰۰۱
	وجود ندارد	۳۳۲ (۹۳)	۱۳۵ (۸۵/۴)	۱۹۶ (۹۹/۵)	
تمایز اسکواموس	وجود دارد	۱۷ (۴/۸)	۱۷ (۱۰/۸)	۰ (۰)	< ۰/۰۰۱
	وجود ندارد	۳۳۹ (۹۵/۲)	۱۴۱ (۸۹/۲)	۱۹۷ (۱۰۰)	
نکروز	وجود دارد	۲۲ (۶/۲)	۲۹ (۱۲/۷)	۲ (۱/۰)	< ۰/۰۰۱
	وجود ندارد	۳۳۴ (۹۳/۸)	۱۳۸ (۸۷/۳)	۱۹۵ (۹۹/۰)	
گرانولوم	وجود دارد	۶ (۱/۷)	۳ (۱/۹)	۳ (۱/۵)	۰/۷۸۵
	وجود ندارد	۳۵۰ (۹۸/۳)	۱۵۵ (۹۸/۱)	۱۹۴ (۹۸/۵)	
سابقه فامیلی تومور	وجود دارد	۲ (۰/۶)	۲ (۱/۳)	۰ (۰)	۰/۱۱۳
	وجود ندارد	۳۵۴ (۹۹/۴)	۱۵۶ (۹۸/۷)	۱۹۷ (۱۰۰)	
تهاجم عروقی	وجود دارد	۱ (۱/۷)	۶ (۳/۸)	۰ (۰)	۰/۰۰۶
	وجود ندارد	۳۵۰ (۹۸/۳)	۱۵۲ (۹۶/۲)	۱۹۷ (۱۰۰)	
تهاجم پری‌نورال	وجود دارد	۴ (۱/۱)	۴ (۲/۵)	۰ (۰)	۰/۰۲۵
	وجود ندارد	۳۵۲ (۹۸/۹)	۱۵۴ (۹۷/۵)	۱۹۷ (۱۰۰)	
عود	وجود دارد	۱۶۲ (۴۵/۵)	۷۱ (۴۴/۹)	۹۱ (۴۶/۲)	۰/۸۱۳
	وجود ندارد	۱۹۴ (۵۴/۵)	۸۷ (۵۵/۱)	۱۰۶ (۵۳/۸)	

CIS: Carcinoma in Situ

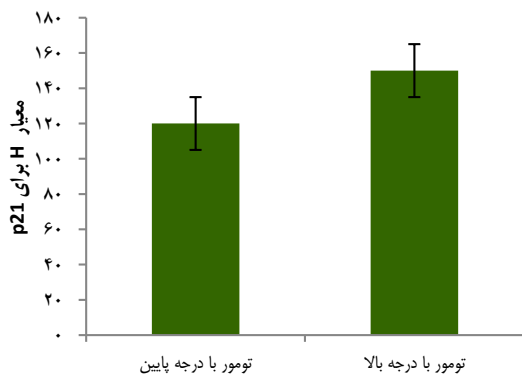
جدول ۲: وضعیت بیان p21 بر اساس خصوصیات مختلف تومور

P	H-Score (میانگین ± انحراف معیار)	حالات ممکن	خصوصیت توموری
۰/۲۶۴	۱۳۱/۲۷ ± ۸۸/۶۷	کمتر از ۳	اندازه (سانتی‌متر)
۰/۰۴۳	۱۴۵/۶۹ ± ۸۸/۸۵	مساوی یا بیشتر از ۳	لامینا پروپریا
۰/۲۲۴	۱۵۰/۹۱ ± ۹۰/۴۱	درگیر	موسکولاریس
۰/۰۶۹	۱۱۱/۱۷ ± ۷۳/۶۰	آزاد	موکوزا
۰/۵۰۴	۱۳۷/۹۶ ± ۸۹/۵۶	پاپیلری	الگو
۰/۱۵۰۴	۱۴۷/۲۹ ± ۹۵/۲۵	غیر پاپیلری	CIS
۰/۶۸۶	۱۳۴/۸۶ ± ۸۸/۱۴	وجود دارد	تمایز
۰/۷۶۷	۱۲۶/۵۷ ± ۸۵/۰۰	وجود ندارد	اسکواموس
۰/۴۸۴	۱۳۶/۳۳ ± ۸۸/۶۸	وجود دارد	نکروز
۰/۲۳۵	۱۴۱/۱۴ ± ۹۹/۴۷	وجود ندارد	گرانولوم
۰/۳۲۵	۱۳۵/۳۴ ± ۸۷/۹۴	وجود دارد	تهاجم عروقی
	۱۶۰/۸۳ ± ۱۰۰/۲۲	وجود ندارد	تهاجم
	۱۳۵/۲۷ ± ۸۸/۴۴	وجود دارد	پری‌نورال
	۱۷۸/۸۳ ± ۵۶/۳۶	وجود ندارد	
	۱۳۴/۹۷ ± ۸۸/۸۷	وجود دارد	
	۱۲۷/۵۰ ± ۵۳/۷۷	وجود ندارد	
	۱۳۵/۲۹ ± ۸۸/۹۱	وجود ندارد	

CIS: Carcinoma in Situ; H-Score: Histochemical Score

مقایسه بیان نشانگر p21 در دو گروه

تومورهای درجه پایین و بالا: بر اساس آزمون آماري، میانگین H-Score گروه‌های درجه بالا و درجه پایین به ترتیب $91/06 \pm 153/85$ و $130/01 \pm 82/20$ به دست آمد که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($P = 0/001$) (شکل ۲).



شکل ۲: مقایسه بیان نشانگر p21 بین دو گروه تومورهای درجه پایین و بالا

خصوصیات هیستوپاتولوژیک تومور در دو گروه درجه پایین و بالا مقایسه گردید. بر اساس یافته‌ها، تومورهای دارای درجه بالا، به صورت معنی‌داری بیش از تومورهای درجه پایین درگیری لامینا پروپریا و موسکولاریس موکوزا، نکروز، تهاجم عروقی و پری‌نورال، تمایز اسکواموس، وجود CIS و الگوی غیر پاپیلری را نشان دادند (جدول ۱). همچنین، این تومورها بیش از تومورهای درجه پایین اندازه بزرگ‌تر از ۳ سانتی‌متر داشتند. از نظر عود نیز اگرچه درصد موارد عود کننده در گروه درجه بالا اندکی بیش از گروه درجه پایین بود، اما اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

بیان نشانگر p21 (بر مبنای H-Score) بر

اساس شاخص‌های تومورال: میانگین کل

H-Score، $135/70 \pm 88/50$ به دست آمد. این شاخص در تومورهای کمتر از ۳ سانتی‌متر، $131/27 \pm 88/67$ و در تومورهای کوچک‌تر، $141/92 \pm 88/31$ بود که عدم وجود رابطه میان میان تمام خصوصیات هیستوپاتولوژیک و بالینی تومورها، بیان p21 تنها با درگیری لامینا پروپریا ارتباط داشت؛ به طوری که بیان p21 در تومورهای با درگیری لامینا پروپریا بالاتر بود ($145/69 \pm 88/85$) ($H-Score = 126/67 \pm 87/53$ به دست آمد ($P = 0/043$)).

بیان p21 با سایر خصوصیات تومور مانند درگیری موسکولاریس موکوزا، وجود یا عدم وجود الگوی پاپیلری، وجود کانون CIS، وجود گرانولوم، تمایز اسکواموس و تهاجم عروقی یا تهاجم پری‌نورال ارتباطی را نشان نداد. همچنین، ارتباطی بین بیان این نشانگر و شانس عود تومور مشاهده نشد.

جدول ۲ وضعیت بیان p21 را بر اساس خصوصیات مختلف تومور نشان می‌دهد.

عوامل پیش‌بینی کننده پیامد تومور: در

ارزیابی عوامل مرتبط با عود تومور و از بین سایر عوامل زمینه‌ای، با استفاده از مدل رگرسیون لجستیک چند متغیره، وجود الگوی غیر پاپیلری (نسبت احتمال: $6/363$ ، $P = 0/001$) پیش‌بینی کننده وجود عود بود. هیچ کدام از شاخص‌های پایه شامل عوامل دموگرافیک، پیش‌بینی کننده عود در بیماران نبود.

بحث و نتیجه‌گیری

استفاده از نشانگرهای زیستی مختلف برای افتراق بین الگوهای درجه بالا از درجه پایین، اهمیت فراوانی دارد؛ چرا که هر یک از این الگوها با پیامدهای متفاوتی همراه هستند. از سوی دیگر، همین نشانگرها می‌توانند در پیش‌بینی پیامدهای بلند مدت انواع سرطان‌ها بسیار سودمند باشند. بنابراین، انتخاب نشانگرهایی با بالاترین اختصاصیت، از جمله اهداف محققان در سیستم‌های تشخیصی و درمانی به شمار می‌رود. نشانگر p21، یکی از مهم‌ترین نشانگرها در پیش‌بینی درجه و همچنین، پیامد انواع تومورها محسوب می‌شود. این نشانگر نوعی مهار کننده کیناز وابسته به سیکلین در چرخه سلولی است که توانایی مهار کردن کلیه کمپلکس‌های Cyclin-Cyclin dependent kinases (C-CDK) را دارد (۲۴، ۲۳) و دارای واکنشی متقاطع با نشانگر p53 می‌باشد. بنابراین، ارتباطی قوی با آسیب وارد شده به DNA و چرخه سلولی دارد. p21 توسط ژن CDKN1A واقع بر روی کروموزوم ۶ کد می‌شود (۲۶، ۲۵) و نقش آن به عنوان یک فاکتور تنظیمی برای DNA پلی‌مرز مشخص شده است (۲۸، ۲۷). نقش دیگر نشانگر p21، مهار آپوپتوز سلولی است که این نقش به طور عمده در پی اعمال استرس به سیستم‌های سلولی مانند بدخیمی‌ها مشاهده می‌گردد (۳۱-۲۹).

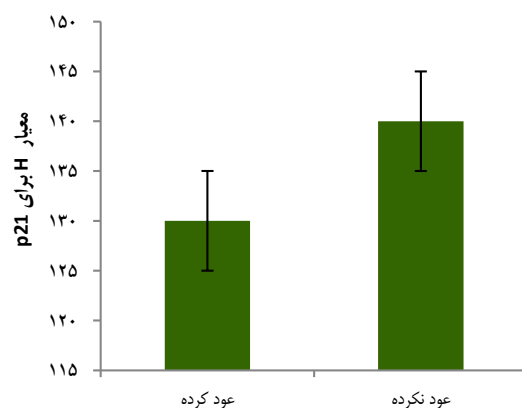
هدف ارزیابی ارزش نشانگر p21 در مطالعه حاضر،

تعیین ارزش نشانگر p21 در تمایز بین دو گروه

تومورهای درجه پایین و بالا: بر اساس تحلیل سطح زیر منحنی Receiver operating characteristic (ROC)، بیان نشانگر p21 (بر اساس H-Score) دارای ارزش قابل قبولی در تمایز دو الگوی تومورهای درجه پایین و بالا بود ($ROC = 0/596$ ، $P = 0/002$). بر همین اساس، بهترین نقطه برش برای نشانگر p21 در تمایز دو الگوی درجه پایین و بالا، ۹۲/۵ به دست آمد که در آن حساسیت، ۶۷/۷ درصد و ویژگی، ۴۴/۷ درصد بود. بر اساس این نقطه برش، در تومورهای با درجه بالا، تعداد قابل توجهی از افراد (۷۶/۵ درصد) H-Score بیشتر از ۹۲/۵ داشتند.

تعیین ارتباط بین نشانگر p21 با عود تومور:

متوسط مدت زمان پیگیری بیماران در مطالعه حاضر، ۷۱/۳ ماه (۵/۹ سال) و بیشترین و کمترین زمان پیگیری به ترتیب ۷ و ۴ سال بود. اگرچه بیان p21 در افراد فاقد عود مکرر، بالاتر از افراد دارای عود می‌باشد، اما تفاوت بین دو گروه معنی‌دار نبود. میانگین H-Score در دو گروه با و بدون عود تومور به ترتیب $138/14 \pm 90/74$ و $132/78 \pm 86/04$ به دست آمد که نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین دو گروه بود ($P = 0/570$). مقایسه بیان p21 در دو گروه دارای عود و بدون سابقه عود در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل ۳: مقایسه بیان p21 در دو گروه دارای عود و بدون سابقه عود

اول پیش‌بینی عودهای مکرر در بیماران مبتلا به تومور اوروتلیال مثانه می‌باشد. دوم این که ارزش این نشانگر در تمایز بین الگوهای درجه بالا از درجه پایین مورد بررسی قرار گرفت. آنچه به عنوان شاخص تشخیصی در مورد این نشانگر مد نظر است، دو شاخص شدت و درصد سلول‌های بیان‌کننده این نشانگر در بین سلول‌های تومورال می‌باشد که در پژوهش‌های پیشین به آن پرداخته نشده است و این امر دقت تحقیق حاضر را بالاتر می‌برد. نتایج نشان داد که بیان نشانگر p21 در تمایز درجه بالا از درجه پایین تومور، قدرت بالایی دارد؛ به طوری که بیان p21 بر اساس H-Score در گروه با درجه بالا به طور معنی‌داری بیشتر از درجه پایین بود. نشانگر مورد ارزیابی در پیش‌بینی درجه تومور اوروتلیال مثانه دارای قابلیت بالایی می‌باشد، اما بر خلاف برخی مطالعات موجود (۲۲، ۲۰)، با عود و پیش‌آگهی تومور مرتبط نیست. علت این امر می‌تواند به ماهیت مطالعه که مقطعی بود، برگردد؛ چرا که عوامل بالینی (مانند عود و پیش‌آگهی) با پیگیری بیماران در طول زمان مشخص می‌شود، اما در بررسی حاضر اول این که زمان پیگیری برای همه بیماران یکسان نبود و دوم، زمان پیگیری که در واقع بررسی نهایی عود و بقای بیماران در پایان سال ۱۳۹۵ بود، برای بیماران مراجعه‌کننده در سال ۱۳۹۱ کوتاه‌تر از بیماران سال‌های قبل‌تر از آن می‌باشد. بیشترین و کمترین زمان پیگیری به ترتیب ۷ و ۴ سال بود. این زمان به طور نسبی برای بررسی عود یا عدم عود مناسب است، اما برای بررسی بقا کافی به نظر نمی‌رسد. بنابراین، طراحی مطالعات هم‌گروهی و آینده‌نگر برای کسب نتایج دقیق‌تر، پیشنهاد می‌گردد.

برخی مطالعات انجام شده بر روی پاتوزنز مولکولی تومورهای مثانه نشان داده است که نشانگر p21 در روند پاتوزنز تومورهای درجه بالای مثانه مشارکت دارد (۳۲-۳۴). برخی تحقیقات نیز به این نتیجه

رسیده‌اند که بیان p21 با درجه بالای T همراه است و TCC‌های درجه پایین مثانه نسبت به نوع درجه بالا، تمایل بیشتری به بروز این نشانگر دارند (۲۰). بر اساس نتایج برخی مطالعات، جهش p21 وقتی که با جهش p53 همراه شود، پیش‌آگهی ضعیفی دارد (۲۲). البته نتایج مطالعه دیگری نشان داد که در تومورهای دارای تهاجم به عضله، جهش ژن‌های TP53 و p21 به طور معنی‌داری بیش از انواع درجه پایین می‌باشد (۱۳). همچنین، تحقیقی نتیجه‌گیری کرد که تومورهای درجه پایین بیش از نوع درجه بالا جهش p21 را نشان می‌دهند (۲۱). از طرف دیگر، در CIS بدون تهاجم به عضله، بیان p21 به طور مستقل با عود و پیشرفت سرطان مثانه همراه است. مهم‌تر از آن این که مرگ و میر بیشتری را نیز به دنبال دارد (۲۲). نتایج پژوهش Netto که با هدف بررسی تأثیر موتاسیون ژن‌های دخیل در سرطان مثانه انجام گرفت، نشان داد که p53، p16 و RB با تهاجم به عضله و موارد درجه بالا و HRAS با موارد درجه پایین همراه می‌باشد (۳۵).

بر اساس نتایج بررسی حاضر، بیان نشانگر p21 (بر اساس H-Score) در نقطه برش ۹۲/۵، دارای ارزش به نسبت بالایی در تمایز موارد درجه بالا از درجه پایین است که در آن دارای حساسیت، ۶۷/۷ درصد و ویژگی، ۴۴/۷ درصد بود. در گروه با درجه بالا، ۹۲/۵ بیماران دارای H-Score نشانگر p21 بالاتر از ۹۲/۵، بیشتر از گروه دارای درجه پایین بود.

آنچه که در مطالعات گوناگون به آن پرداخته شده است، نشان دهنده ارزش بالای شاخص‌های حساسیت و ویژگی در پیش‌بینی پیش‌آگهی تومور است. نتایج تحقیق Viola و همکاران نشان داد که انکوژن p21 که به صورت طبیعی در سلول‌های بسیار سطحی اپی‌تلیوم نرمال بیان می‌شود، در هایپرپلازی و تومور درجه پایین همین الگو را حفظ می‌کند؛ در حالی که در ضایعات پیش بدخیم (دیسپلاستیک) و تومورهای درجه بالا،

الگوی رنگ‌پذیری قوی را نشان می‌دهد (۱۹).

در سال‌های اخیر نیز مطالعات زیادی به بررسی هم‌زمان سه نشانگر p53، p21 و RB در پیش‌آگهی و خطر تهاجم تومورهای مثانه پرداخته‌اند که بر اساس نتایج آن‌ها، تومورهایی که هر سه جهش را نشان می‌دهند، پیش‌آگهی ضعیف‌تری نسبت به آن‌هایی که یک جهش را نشان می‌دهند، دارند (۲۱، ۲۲). همچنین، پژوهش دیگری که بر روی ۱۶۳ تومور سطحی مثانه درمان شده با روش ترانس‌یورترال رزکشن (Transurethral resection) انجام شد، بیان چهار نشانگر p53، p21، p16 و cyclin D1 به روش ایمنوهیستوشیمی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیان p21 با درجه و مرحله تومور رابطه‌ای نداشته؛ در حالی که با بقا، عود و پیشرفت تومور ارتباط داشته است. از بین این نشانگرها، فقط بین Cyclin-D1 با درجه تومور ارتباط معنی‌داری مشاهده گردید (۳۶).

در مجموع، چنین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که با

تعیین H-Score نشانگر p21، تومورهای درجه بالا و پایین تمایز می‌یابند؛ به طوری که p21 در تومورهای درجه بالا بیان بیشتری را نشان می‌دهد، اما این نشانگر قادر به پیش‌بینی احتمال عود تومور نخواهد بود. با توجه به این که بسیاری از عوامل به عنوان مخدوشگر، ممکن است بر روی پیش‌آگهی و یا عود تومور مؤثر باشد، بر اساس مدل‌های رگرسیون لجستیک و با وجود کلیه عوامل زمینه‌ای، نتیجه‌گیری شد که تنها وجود الگوی غیر پاپیلری قادر به پیش‌بینی عود تومور است.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر برگرفته از پایان‌نامه دوره دستیاری رشته پاتولوژی، مصوب دانشگاه علوم پزشکی ایران می‌باشد. بدین‌وسیله از سرکار خانم کلانتری، همکار مرکز تحقیقات انکوپاتولوژی گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران که در انجام آزمایش‌های این پژوهش همکاری نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. GLOBOCAN 2008: Cancer incidence and mortality worldwide. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010.
2. Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, Kaasinen E, Bohle A, Palou-Redorta J, et al. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder, the 2011 update. *Eur Urol* 2011; 59(6): 997-1008.
3. Center for Disease Control and Prevention, Non-communicable Deputy, Cancer Office. Iranian annual of national cancer registration report 2008-2009. Tehran, Iran: Ministry of Health and Medical Education; 2010. p. 120-1. [In Persian].
4. Simone G, Gallucci M. Multimodality treatment versus radical cystectomy: Bladder sparing at cost of life? *Eur Urol* 2012; 61(4): 712-3.
5. Millan-Rodriguez F, Chechile-Toniolo G, Salvador-Bayarri J, Palou J, Vicente-Rodriguez J. Multivariate analysis of the prognostic factors of primary superficial bladder cancer. *J Urol* 2000; 163(1): 73-8.
6. Botteman MF, Pashos CL, Redaelli A, Laskin B, Hauser R. The health economics of bladder cancer: a comprehensive review of the published literature. *Pharmacoeconomics* 2003; 21(18): 1315-30.
7. van Rhijn BW, Vis AN, van der Kwast TH, Kirkels WJ, Radvanyi F, Ooms EC, et al. Molecular grading of urothelial cell carcinoma with fibroblast growth factor receptor 3 and MIB-1 is superior to pathologic grade for the prediction of clinical outcome. *J Clin Oncol* 2003; 21(10): 1912-21.
8. Burger M, van der Aa MN, van Oers JM, Brinkmann A, van der Kwast TH, Steyerberg EC, et al. Prediction of progression of non-muscle-invasive bladder cancer by WHO 1973 and 2004 grading and by FGFR3 mutation status: A prospective study. *Eur Urol* 2008; 54(4): 835-43.
9. Primdahl H, von der Maase H, Christensen M, Wolf H, Orntoft TF. Allelic deletions of cell growth regulators during progression of bladder cancer. *Cancer Res* 2000; 60(23): 6623-9.
10. Koroukian SM, Bakaki PM, Raghavan D. Survival disparities by Medicaid status: An analysis of 8 cancers. *Cancer* 2012; 118(17): 4271-9.

11. Abern MR, Dude AM, Tsivian M, Coogan CL. The characteristics of bladder cancer after radiotherapy for prostate cancer. *Urol Oncol* 2013; 31(8): 1628-34.
12. MacKenzie T, Zens MS, Ferrara A, Schned A, Karagas MR. Diabetes and risk of bladder cancer: Evidence from a case-control study in New England. *Cancer* 2011; 117(7): 1552-6.
13. Billis A, Carvalho RB, Mattos AC, Negretti F, Nogueira CR, Oliveira MC, et al. Tumor grade heterogeneity in urothelial bladder carcinoma--proposal of a system using combined numbers. *Scand J Urol Nephrol* 2001; 35(4): 275-9.
14. Yu ZK, Gervais JL, Zhang H. Human CUL-1 associates with the SKP1/SKP2 complex and regulates p21(CIP1/WAF1) and cyclin D proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(19): 11324-9.
15. Bornstein G, Bloom J, Sitry-Shevah D, Nakayama K, Pagano M, Hershko A. Role of the SCF^{Skp2} ubiquitin ligase in the degradation of p21^{Cip1} in S phase. *J Biol Chem* 2003; 278(28): 25752-7.
16. Kim Y, Starostina NG, Kipreos ET. The CRL4^{Cdt2} ubiquitin ligase targets the degradation of p21^{Cip1} to control replication licensing. *Genes Dev* 2008; 22(18): 2507-19.
17. Abbas T, Sivaprasad U, Terai K, Amador V, Pagano M, Dutta A. PCNA-dependent regulation of p21 ubiquitylation and degradation via the CRL4^{Cdt2} ubiquitin ligase complex. *Genes Dev* 2008; 22(18): 2496-506.
18. Leisibach P, Schneiter D, Soltermann A, Yamada Y, Weder W, Jungraithmayr W. Prognostic value of immunohistochemical markers in malignant thymic epithelial tumors. *J Thorac Dis* 2016; 8(9): 2580-91.
19. Viola MV, Fromowitz F, Oravez S, Deb S, Schlom J. ras Oncogene p21 expression is increased in premalignant lesions and high grade bladder carcinoma. *J Exp Med* 1985; 161(5): 1213-8.
20. Korkolopoulou P, Konstantinidou AE, Thomas-Tsagli E, Christodoulou P, Kapralos P, Davaris P. WAF1/p21 protein expression is an independent prognostic indicator in superficial and invasive bladder cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2000; 8(4): 285-92.
21. Chatterjee SJ, Datar R, Youssefzadeh D, George B, Goebell PJ, Stein JP, et al. Combined effects of p53, p21, and pRb expression in the progression of bladder transitional cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2004; 22(6): 1007-13.
22. Shariat SF, Kim J, Raptidis G, Ayala GE, Lerner SP. Association of p53 and p21 expression with clinical outcome in patients with carcinoma in situ of the urinary bladder. *Urology* 2003; 61(6): 1140-5.
23. Xiong Y, Hannon GJ, Zhang H, Casso D, Kobayashi R, Beach D. p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases. *Nature* 1993; 366(6456): 701-4.
24. Abbas T, Dutta A. p21 in cancer: intricate networks and multiple activities. *Nat Rev Cancer* 2009; 9(6): 400-14.
25. el-Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE, Levy DB, Parsons R, Trent JM, et al. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* 1993; 75(4): 817-25.
26. Bunz F, Dutriaux A, Lengauer C, Waldman T, Zhou S, Brown JP, et al. Requirement for p53 and p21 to sustain G2 arrest after DNA damage. *Science* 1998; 282(5393): 1497-501.
27. Spencer SL, Cappell SD, Tsai FC, Overton KW, Wang CL, Meyer T. The proliferation-quiescence decision is controlled by a bifurcation in CDK2 activity at mitotic exit. *Cell* 2013; 155(2): 369-83.
28. Overton KW, Spencer SL, Noderer WL, Meyer T, Wang CL. Basal p21 controls population heterogeneity in cycling and quiescent cell cycle states. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(41): E4386-E4393.
29. Gulbis JM, Kelman Z, Hurwitz J, O'Donnell M, Kuriyan J. Structure of the C-terminal region of p21(WAF1/CIP1) complexed with human PCNA. *Cell* 1996; 87(2): 297-306.
30. Podust VN, Podust LM, Goubin F, Ducommun B, Hubscher U. Mechanism of inhibition of proliferating cell nuclear antigen-dependent DNA synthesis by the cyclin-dependent kinase inhibitor p21. *Biochemistry* 1995; 34(27): 8869-75.
31. Almond JB, Cohen GM. The proteasome: A novel target for cancer chemotherapy. *Leukemia* 2002; 16(4): 433-43.
32. Mitra AP, Datar RH, Cote RJ. Molecular pathways in invasive bladder cancer: New insights into mechanisms, progression, and target identification. *J Clin Oncol* 2006; 24(35): 5552-64.
33. Wu XR. Urothelial tumorigenesis: A tale of divergent pathways. *Nat Rev Cancer* 2005; 5(9): 713-25.
34. Oxford G, Theodorescu D. The role of Ras superfamily proteins in bladder cancer progression. *J Urol* 2003; 170(5): 1987-93.
35. Netto GJ. Molecular biomarkers in urothelial carcinoma of the bladder: Are we there yet? *Nat Rev Urol* 2011; 9(1): 41-51.
36. Vallmanya Llena FR, Laborda RA, Lloreta TJ, Cortadellas AR, Placer SJ, Mas GA. Immunohistochemical expression of p53, p21, p16, and cyclin D1 in superficial bladder cancer. A tissue microarray study. *Actas Urol Esp* 2006; 30(8): 754-62. [In Spanish].

The Expression of p21 Marker in Bladder Urethral Tumor and its Association with Histopathologic Characteristics

Sajjadeh Movahedinia¹, Mitra Mehrazma², Soheila Nadermohammadi^{3*}, Maryam Abolhasani⁴,
Mohammad Movahedinia⁵, Zahra Madjd⁴, Mojgan Asgari⁴, Farnoosh Sedaghati⁶

Received: 03 Apr. 2017

Accepted: 14 July 2017

Published: 07 Oct. 2017

Original Article

Abstract

Background: In addition to clinical and histologic factors that are able to differentiate between low and high grades of bladder's urethral tumor from each other, there are a number of biomarkers that may be helpful in evaluating the degree, outcome, and prognosis of the tumor. The aim of this study was to investigate the relationship between overexpression of p21 marker and histologic status, prognosis, and recurrence of urethral carcinoma of the bladder.

Methods: In this cross-sectional study, the paraffin wax blocks of 356 patients were gathered. Tumor points of the tissue were selected from the main block and mounted on the tissue microarray (TMA) of receptor block. Immunohistochemical staining was performed for the p21 marker. The intensity and extent of staining for this marker were determined by two pathologists using the combined and semi-quantitative method [Histochemical Score (H-Score)].

Results: The expression of p21 marker was significantly different in the high- and low-grade tumors. On the basis of H-Score, and in the high-grade tumor group, this expression was significantly higher than the low-grade (153.85 ± 91.06 versus 130.01 ± 82.20). Using the receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, the p21 marker (based on the H-Score) had a high degree of precision in distinguishing high-grade items from the low-grade (ROC = 0.596, P = 0.002). Accordingly, the best cut-off value for the marker in differentiation of two grades was 92.5%, at which, the sensitivity and specificity were 67.7% and 44.7%, respectively. Regarding the results of multivariate logistic regression analysis, in the evaluation of factors related to tumor recurrence, the presence of non-papillary pattern predicted the recurrence (likelihood ratio: 6.363, P = 0.001).

Conclusion: By determining the H-Score of p21 marker, the high- and low-grade tumors can be discriminated with an acceptable sensitivity and specificity. The presence of non-papillary pattern has a high predictive value for tumor recurrence.

Keywords: Urothelial carcinoma, Urinary bladder neoplasm, p21, Immunohistochemistry, Biomarkers, Prognosis

Citation: Movahedinia S, Mehrazma M, Nadermohammadi S, Abolhasani M, Movahedinia M, Madjd Z, et al. **The Expression of p21 Marker in Bladder Urethral Tumor and its Association with Histopathologic Characteristics.** Afzalipour J Clin Res 2017; 2(3-4): 78-88.

1- Pathologist, Pathology and Stem Cell Research Center AND Department of Pathology, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman AND Department of Pathology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Professor, Oncopathology Research Center AND Department of Pathology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Pathologist, Department of Pathology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Associate Professor, Oncopathology Research Center AND Department of Pathology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Student of Medicine, Student Research Committee, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

6- Resident, Department of Pathology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Corresponding Author: Soheila Nadermohammadi

Email: nadermohammadi56@yahoo.com

Address: Department of Pathology, Abhar Emdadi Hospital, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran **Tel:** +98 24 35277741