

تعيين مستويات Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان

ثدي قبل وبعد المعالجة الكيميائية في مستشفيات

جامعة دمشق

ط. صبا نزار الجمعة

اشراف د. جمانة الصالح

صيدلة دمشق

المرجعية العلمية:

تُشخَّص إصابة أكثر من 1.5 مليون امرأة بسرطان الثدي عالمياً كل عام، وتشير تقديرات منظمة الصحة العالمية لعام 2020 إلى تشخيص إصابة 2.3 مليون امرأة بسرطان الثدي، كما سُجِّلت 685000 حالة وفاة على مستوى العالم.

يرتبط التعبير عن البروتين Ki67 مع الفعالية الانقسامية للخلايا الورمية ضمن الأورام الخبيثة، كما يعد من المؤشرات الإنذارية لتقييم الخزعات المأخوذة من المرضى المصابين بالسرطان وخاصة سرطان الثدي، ما جعله محط اهتمام العديد من الدراسات.

هدف البحث:

دراسة تباين مستويات Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان ثدي في مستشفيات جامعة دمشق قبل وبعد المعالجة الكيميائية، وتحري أهمية مقايسة هذه المستويات.

المواد والطرائق:

تصميم الدراسة حشدية استباقية، تضمنت 46 سيدة موزعة كما يلي: 30 مريضة مصابة بسرطان الثدي، و6 مريضات مصابات بكتل ثدي حميدة، و10 عينات شاهدة من سيدات أصحاء حققن معايير الإدخال بالدراسة، وقد تمت معايرة مستويات Ki67

المصلية لديهم باستخدام تقنية الإليزا (مقايسة المُمتز المناعي المرتبط بالإنزيم) ELISA،
وعولجت البيانات باستخدام برنامج SPSS.

النتائج:

بينت الدراسة أن قيم Ki67 المصلية كانت مرتفعة في مصل جميع مريضات سرطان
الثدي المشخصات حديثاً وقبل تلقي المعالجة الكيميائية (7.69 ± 5.09 نانوغرام/مل)
سواء اللواتي احتجن إلى علاج شعاعي أو اللواتي لم يحتجن إلى تلقيه.
أما بالنسبة إلى قيم Ki67 في مصل المصابات بسرطان الثدي بعد تلقي المعالجة
الكيميائية، فقد تبين بأن هذه القيم ارتفعت لدى مجموعة من المريضات (23 مريضة من
عينة الدراسة) بعد تلقي المعالجة الكيميائية (11.3 ± 5.95 نانوغرام/مل) مقارنة بقيمه
قبل تلقي هذه المعالجة وبفارق يعتد به إحصائياً ($P < 0.05$)، وتوافق هذا سريرياً مع
حاجتهن إلى استكمال العلاج عبر تلقي العلاج الشعاعي، بينما تنخفض قيم Ki67 لدى
المريضات اللواتي لم يحتجن إلى علاج شعاعي وتمائلن للشفاء (4.63 ± 1.12
نانوغرام/مل) مقارنة بقيمه قبل تلقي هذه المعالجة وبفارق يعتد به إحصائياً ($P < 0.05$).

الخلاصة:

يمكن استخدام مستويات Ki67 المصلية معلماً يساعد على التنبؤ باستجابة مريضات
سرطان الثدي للمعالجة (جراحة ثم علاج كيميائي).

كلمات مفتاحية:

سرطان الثدي -Ki67- المعالجة الكيميائية.

Determination of Serum Levels of Ki67 in Breast Cancer Patients before and after Chemotherapy in Damascus University Hospitals

Abstract

Background: More than 1.5 million women are diagnosed with breast cancer globally every year, WHO estimates in 2020 indicate that 2.3 million women have been diagnosed with breast cancer, and 685,000 deaths have been recorded worldwide.

The expression of Ki67 protein is associated with the mitotic activity of tumor cells within malignant tumors, and it is considered one of the prognostic indicators for evaluating biopsies taken from cancer patients, especially breast cancer, so many studies focused on it.

Objective: Studying the variation in serum Ki67 levels among breast cancer patients in Damascus University hospitals before and after chemotherapy and determining the significance of these levels.

Methodology: The study design was a prospective cohort study, which included 46 women distributed as follows: 30 patients with breast cancer, 6 patients with benign breast masses and 10 controls from healthy women who met the study entry criteria. Their serum Ki67 levels were assayed using ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) technique, and data were processed using SPSS software.

Results: The study that focused on the serum Ki67 levels showed that these values were elevated in the serum of all newly diagnosed breast cancer patients before chemotherapy (7.69 ± 5.09 ng/ml) regardless of the need for radiotherapy. As for the values of Ki67 in the serum of breast cancer patients after chemotherapy, it was found

that these values increased in a group of patients (23 patients of the study sample) after chemotherapy (11.3 ± 5.95 ng/ml) compared to its values before this treatment with a statistically significant ($P < 0.05$), which corresponds clinically with their need for radiotherapy. The values of Ki67 in patients who did not require radiotherapy and did recover (4.63 ± 1.12 ng/ml) decreased compared to its values before this treatment with a statistically significant difference ($P < 0.05$).

Conclusion: Serum Ki67 levels can be used as a predictor of breast cancer patients' responsiveness to conventional therapy (surgery then chemotherapy).

Keywords: Breast cancer, Ki67, chemotherapy.

مقدمة

يعدّ سرطان الثدي السرطان الأكثر شيوعاً بين النساء [1] سواء في العالم المتقدم أو الأقل تقدماً [2]، ويشكل 30% من أنواع السرطان لدى الإناث [1]. عالمياً، تُشخص إصابة أكثر من 1.5 مليون امرأة بسرطان الثدي كل عام [3]، وتشير تقديرات منظمة الصحة العالمية لعام 2020 إلى تشخيص إصابة 2.3 مليون امرأة بسرطان الثدي، كما سُجّلت 685000 حالة وفاة على مستوى العالم [4]. وفق إحصائيات منظمة الصحة العالمية WHO لعام 2018 فإن سرطان الثدي يمثل 21.3% من مجمل السرطانات في سورية مما يجعله الأكثر شيوعاً [5]، وبحسب إحصائيات مشفى البيروني الجامعي؛ بلغ عدد المقبولات الجدد عام 2020 من المريضات اللواتي شُخصت إصابتهنّ بسرطان الثدي 2108 مريضة.

يرتبط التعبير عن البروتين Ki67 مع الفعالية الانقسامية للخلايا الورمية ضمن الأورام الخبيثة ما يسمح باستخدامه كمسعر لمدى عدوانية الورم، كما يعتبر من المؤشرات الإنذارية لتقييم الخزعات المأخوذة من المرضى المصابين بالسرطان وخاصة سرطان الثدي. كما وجد ارتباط بين Ki67 والنقائل الورمية والمرحلة السريرية للورم، إضافةً إلى ذلك وجد أنّ التعبير عن هذا البروتين يكون أكثر ضمن النسيج الورمية التي تضم خلايا سيئة التمايز بالمقارنة مع النسيج الطبيعية [6].

المستضد Ki67 هو عبارة عن بروتين غير هستوني اكتشفه شولزير Scholzer وغيردز Gerdes عام 1983 [8] عند وضع أصداد فأرية في نواة خلية هودجكن. أُجري هذا العمل بجامعة كيل في ألمانيا، ومن هنا جاءت تسميته Ki، ويشير الرقم 67 إلى رقم المستعمرة ضمن الطبق [7]. بعد عشر سنوات أُجري التلوين المناعي بالأصداد للمستضد Ki67 Immunostainig with antibodies، وأصبح طريقة سريعة وفعالة

لتقييم نسب نمو الأورام المختلفة؛ نظراً لقدرته التفاعلية المميزة والنوعية للخلايا قيد التمايز [8].

Ki67 هو بروتين نووي يُرمّزه جين MKI67 على الصبغي العاشر (10q26)، حيث يرمّز بروتينين هما المتغايران α و β [6] بأوزان جزيئية 320 و 359 كيلو دالتون على التوالي [9].

يتراوح العمر النصفى لـ Ki67 بين 1-1.5 ساعة، ويوجد خلال كل أطوار الدورة الخلوية (G1, S, G2, M)، بينما يغيب ضمن الخلايا التي لا تنقسم (يغيب في الطور G0). أما خلال الأطوار اللاحقة من الانقسام الخلوي (الطور الانتهائي telophase و طور الصعود anaphase) فيحدث انخفاض حاد في مستويات Ki67 [6]. يمكن تحري Ki67 في النواة حصراً في طور الراحة interphase، وينتقل معظم البروتين خلال الانقسام الفتيلي mitosis إلى سطح الصبغيات [10]. يمتلك بروتين Ki67 بنية مشتركة مع العديد من البروتينات الأخرى التي تلعب دوراً في تنظيم الدورة الخلوية مثل DUN و RAD، تتمثل بالمجال المترافق بشوكة الرأس fork-head associated domain.

ماتزال الأهمية الوظيفية لـ Ki67 غير واضحة، لكن توجد أدلة على أن التعبير عنه ضرورة أساسية للتقدم progression خلال دورة انقسام الخلية [10]. جعلت الدراسات الحديثة وظائف Ki67 المتعددة مفهومة أكثر، إذ يتغير موقعه في الخلية أثناء الدورة الخلوية بشكل يرتبط مع وظائف متميزة، ففي طور الراحة وفي الخلايا الطبيعية يلعب دوراً في توزيع مستضدات الكروماتين المُغاير والارتباط النوويّ له. يلعب Ki67 دوراً جوهرياً خلال الانقسام الفتيلي يتمثل في تشكيل الطبقة المحيطة بالصبغيات perichromosomal layer (PCL) التي تغطي الصبغيات المنكثفة لحمايتها من التكدس أثناء هذا الانقسام [11].

تُنظّم كمية بروتين Ki67 الموجودة في أي وقت من الدورة الخلوية بشكل دقيق من خلال توازن بين التصنيع والتخريب، ويتزامن التعبير عنه مع انتقال الخلايا بين أطوار الانقسام الفتيلي، ويخضع إلى فسفرة ونزع فسفرة خلال الانقسام الفتيلي ضمن الزجاج، مما يشير

إلى قابلية تخربه عبر فعالية البروتياز، كما تشير بنيته إلى أنّ السبل الحالة للبروتين تنظم التعبير عنه كذلك التي يتحكم بها معقد التنظيم cyclin B/cyclin-dependent kinase 2 [12].

اقترحت الدراسات وجود دور تنبؤي للبروتين Ki67 بحيث تتم معالجة مرضى السرطان اعتماداً على درجة التعبير عنه، في حين يمكن للمشعر الحيوي الإنذاري أن يشير إلى سير المرض المتوقع لدى مريض غير معالج، أيضاً يمكن له أن يميز فئات المرضى المؤهبن للاستجابة لمعالجة ما. تزداد أهمية التقييم العلاجي للتعبير عن Ki67 مع الوقت في تقييم مدى عدوانية الأورام واختيار العلاجات المناسبة [13].

أوضحت نتائج إحدى الدراسات أنّ مشعر انقسام الـ Ki67 يعد عاملاً إنذارياً مستقلاً لمعدل البقاء، كما بينت وجود ارتباط بين نسبة الخلايا الورمية الخبيثة إيجابية الـ Ki67 ومعدل بقيا المريض [14].

أثبتت العديد من الدراسات الأخرى بشكل مشابه إمكانية استخدام منسب Ki67 (Ki67 index) كمشعر تنبؤي في السرطان وخاصة سرطان الثدي، إذ يبدي ارتباطاً مع حجم الورم البدئي ومدى الغزو للمفاوي، ووجود النقائل، وفعالية الورم الانقسامية المقاسة برحلان الـ DNA، ومدى قصر بقيا المرضى.

إضافةً إلى دور Ki67 في تحديد الإنذار، فهو أيضاً يستخدم بشكل يومي في اختيار المعالجة، فالخلايا ذات الفعالية الانقسامية الكبيرة تكون أكثر أهبةً للتأثر بالأدوية السامة للخلايا السرطانية، والمستويات العالية لـ Ki67 ترتبط بوجود استجابة جيدة للمعالجة الداعمة [15].

في حالة سرطان الثدي فإنّ تدبير السرطانات شديدة الإيجابية لمستقبلات الإستروجين مع مستويات منخفضة من Ki67 يتم بشكل أفضل عبر المعالجة الهرمونية لمدة 4-8 أشهر، والمستويات القاعدية لـ Ki67 يمكن أن تساعد في اختيار المعالجة البدئية، فإنّ تقييم الاستجابة العلاجية هام جداً في تدبير المريضات، كما توجد حاجة ماسةً إلى مشعر موثوق لتقييم الاستجابة للمعالجة الكيميائية [16]، وأظهرت إحدى الدراسات في مشفى

جامعة كارولينكا في ستوكهولم بالسويد أنّ انخفاض Ki67 عن مستوياته القاعدية بنسبة 20-25% بعد شوط وحيد من السيكلوفوسفاميد واليوروبيسين و5-فلورويوراسيل ارتبط بانخفاض خطورة نكس المرض بشكلٍ هامٍ، كما أنّ فشل معالجة ما في تخفيض معدل الانقسام والتمايز السرطاني يشير إلى ضرورة إجراء تغيير في الخطة العلاجية، حيث يرتبط التعبير عن البروتين Ki67 مع الفعالية الانقسامية للخلايا الورمية ضمن الأورام الخبيثة ما يسمح باستخدامه كمشعر لمدى عدوانية الورم [17].

يستعمل قياس Ki67 بشكل يومي لاختيار المعالجة المناسبة، كما يقدم إمكانية قياس الاستجابة للمعالجة المُقدّمة، فلدى معظم مريضات سرطان الثدي اللاتي لا تبدين استجابة باثولوجية جيدة بعد المعالجة الكيميائية المُستحدثة neoadjuvant chemotherapy (NAC) قد تفيد دراسة المستقبلات و Ki67 في عينة الشق الجراحي surgical excision specimens في اختيار خط المعالجة التالي، ويعد قياس Ki67 وقياس التعبير عن المستقبلات في سرطان الثدي بالأهمية ذاتها في تسهيل اختيار المعالجة الجهازية المناسبة [7].

هدف البحث:

تهدف هذه الدراسة لدراسة تباين مستويات Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان الثدي مشخصات حديثاً في مستشفيات جامعة دمشق قبل وبعد المعالجة الكيميائية، وتحري أهمية مقايسة هذه المستويات.

مواد وطرائق البحث:

تصميم الدراسة حشدية استباقية (إحصائية تنبؤية)، وقد شملت 46 سيدة مشاركة في البحث كنّ جميعاً من مراجعات مستشفيات جامعة دمشق وتراوحت أعمارهن بين 25 و65 عاماً، وتم تقسيمهن إلى ثلاث مجموعات فرعية: 1- السيدات المصابة بسرطان الثدي (30 سيدة) 2- السيدات المصابات بأورام الثدي حميدة (6 سيدات) 3- السيدات السليمات (العينات الشاهدة) (10 سيدات).

معايير الاشتمال Inclusion Criteria

• المجموعة الشاهدة:

كل أنثى سليمة غير مصابة بأي مرض تخنري أو التهابي أو مرض مناعي ذاتي أو أي سرطان.

• المجموعة المصابة:

كل أنثى مصابة بسرطان الثدي قبل البدء بعلاجها الكيميائي.

معايير الاستبعاد Exclusion Criteria

• المجموعة الشاهدة:

كل أنثى مصابة بأي مرض تخنري أو التهابي أو مناعي ذاتي أو سرطان.

• المجموعة المصابة:

✓ كل أنثى غير مصابة بسرطان الثدي أو كانت مصابة بسرطان الثدي وعولجت مسبقاً.

✓ كل أنثى مصابة بأي مرض تخنري أو التهابي أو مناعي ذاتي أو أي سرطان.

أُخذت من كل سيدة اشتبه بإصابتها بسرطان الثدي عينتا دم وريدي (5 مل): الأولى قبل البدء بالمعالجة (قبل العمل الجراحي مباشرة وقبل البدء بالمعالجة الكيميائية)، والثانية (فقط من السيدات اللواتي تم تشخيصهن بالإصابة بسرطان الثدي أي لا تشمل السيدات المصابات بأورام ثدي حميدة) بعد الانتهاء من المعالجة الكيميائية (مدتها ستة أشهر حسب البروتوكول العلاجي المتبع في مستشفى البيروني الجامعي)، وذلك لمعايرة مستويات Ki67 المصلية لديهن قبل وبعد المعالجة.

جُمعت العينات من مستشفى البيروني الجامعي خلال الفترة بين 2018-2019، حيث أخذت من كل سيدة مشاركة عينة دم وريدي (5مل) على أنبوب جاف، وذلك بعد توقيعها على الاستمارة المستتيرة، وتُركت العينات حوالي 30 إلى 60 دقيقة ومن ثم نُقلت بسرعة (1000 دورة/ الدقيقة) لمدة 15 دقيقة، ووضع المصل الناتج في أنابيب إيبندروف eppendorf محكمة الإغلاق وبعد ذلك خزنت في بنك الدم في المجمدة بدرجة حرارة -80 درجة مئوية إلى حين إجراء المعايرة المصلية، أما بالنسبة للسيدات اللواتي شخصت إصابتهن بسرطان الثدي فتم أخذ عينة ثانية بعد انتهاء المعالجة الكيميائية، وعولجت العينة كما سبق. أجريت المعايرة المصلية باستخدام تقنية مقايسة المُمتز المناعي المرتبط بالإنزيم- الساندويش (ELISA Sandwich) Enzyme- Linked Immunosobent . باستخدام عتيدة جاهزة من شركة Sunred Biotechnology Company (Assay) (China) اعتمدت تعليمات الشركة المصنعة للكشف عن تراكيز Ki67 المصلية، وتمت قراءة الكثافة الضوئية عند طول موجة 450 nm ومن ثم حُسبت قيمة تراكيز Ki67 المصلية مقدرة بالنانوغرام/مل (ng/ml)، ثم عُولجت البيانات باستخدام برنامج SPSS- (SPSS, Inc., Chicago,IL) 13، وعُرِضت كإحصاءات وصفية بشكل نسبة مئوية ومتوسط حسابي \pm الانحراف المعياري. أُجري التحليل وفق اختبار t-student واعبُرَ المتغير ذو أهمية إحصائية عندما تكون قيمة مستوى الدلالة $P < 0.05$.

النتائج:

أجريت المعايرة المصلية لقيم Ki67 وسنورد في هذه المقالة النتائج المتعلقة بمجموعة السيدات المصابة بسرطان الثدي (30 سيدة). في سياق المعالجة احتاجت 23 مريضة مصابة بسرطان الثدي إلى معالجة شعاعية بعد المعالجة الكيميائية وفق البروتوكول العلاجي المتبع في مشفى البيروني الجامعي بينما شفيت 6 مريضات بعد إنهاء العلاج الكيميائي ودون الحاجة إلى علاج شعاعي وتعرضت مريضة واحدة للنكس (حدوث النقائل). يبين الجدول (1) قيم Ki67 المصلية قبل وبعد المعالجة الكيميائية في مجموعة مريضات سرطان الثدي والمجموعة الشاهدة والمتوسط الحسابي لهذه القيم:

الجدول (1) قيم Ki67 المصلية قبل وبعد المعالجة الكيميائية في مجموعة مريضات سرطان الثدي والمجموعة الشاهدة			
رقم العينة	قيم Ki67 المصلية (ng/ml)		
	مجموعة مريضات سرطان الثدي		المجموعة الشاهدة
	قبل المعالجة	بعد المعالجة	
1	1.5	7.55	3.28
2	1.5	7.1	5.18
3	23.71	23.75	4.57
4	23.84	23.94	5.12
5	7.96	5.84	6.75
6	7.24	4.85	5.93
7	5.66	8.77	7.11
8	5.03	7.56	4.45
9	1.97	7.55	4.26
10	2.15	7.78	7.29
11	9.22	10.23	
12	7.28	9.22	
13	4.81	5.44	
14	3.01	7.64	
15	5.93	5.98	
16	7.55	9.55	
17	7.51	9.44	
18	7.37	8.77	
19	8.32	10.53	
20	8.05	12.71	

تعيين مستويات Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان الثدي قبل وبعد المعالجة الكيميائية في
مستشفيات جامعة دمشق

21	7.01	9.55	
22	11.96	12.03	
23	6.02	22.49	
24	5.44	23.39	
25	7.64	4.47	
26	6.43	3.32	
27	10.21	3.41	
28	10.03	5.88	
29	9.89	10.33	
30	6.43	7.33	
المتوسط الحسابي	7.689	9.88	5.394

يبين الجدول (2) متوسط قيم Ki67 المصلية قبل وبعد المعالجة الكيميائية في مجموعات
الدراسة:

الجدول (2) متوسط قيم Ki67 المصلية قبل وبعد المعالجة الكيميائية في مجموعات الدراسة			
التقييم	متوسط قيم بعد المعالجة (ng/ml)	متوسط قيم قبل Ki67 المعالجة (ng/ml)	المجموعة
ارتفاع	9.88	7.69	مجموعة مريضات سرطان الثدي الكلية (30 مريضة)
ارتفاع	11.13	7.53	مجموعة مريضات سرطان الثدي اللاتي احتجن إلى

			معالجة شعاعية (23 مريضة)
انخفاض	4.63	8.25	مجموعة مريضات سرطان الثدي اللاتي شفين دون الحاجة إلى معالجة شعاعية (6 مريضات)

1. دراسة تأثير المعالجة في قيم Ki67 في مجموعة المصابات بسرطان الثدي ومقارنتها بالمجموعة الشاهدة:

في هذا القسم سيتم دراسة الفروق في قيم Ki67 في مصلى المريضات المصابات بسرطان الثدي قبل العلاج وبعده وذلك عن طريق اختبار Wilcoxon Signed Ranked Test للتحقق من وجود اختلافات ذات دلالة إحصائية في المجموعة الواحدة وبيبين الجدول (3) نتائج الاختبار:

الجدول (3) الفروق بين قيم Ki67 في مصلى المريضات المصابات بسرطان الثدي قبل وبعد العلاج الكيميائي						
جوهرية الفرق	P-value	إحصائية Z	مجموع الرتب	متوسط الرتب	عدد الرتب	المتغير المدروس: قيم Ki67 في مجموعة المصابات بسرطان الثدي عدد المريضات = 30
*	0.016	-	115.5	19.25	6 ^a	الرتب السالبة
			349.5	14.56	24 ^b	الرتب الموجبة

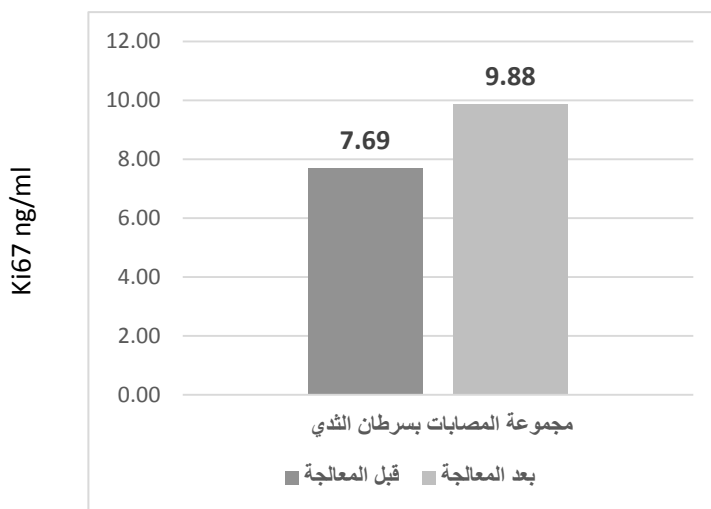
تعيين مستويات Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان الثدي قبل وبعد المعالجة الكيميائية في
مستشفيات جامعة دمشق

الاختبار المستخدم: Wilcoxon Signed Ranked Test ، (*): توجد فروق جوهرية

عند $P < 0.05$

a. قبل العلاج < بعد العلاج، b. قبل العلاج > بعد العلاج.

تبين نتائج الجدول (3) أن معنوية الاختبار 0.016 للفروق في قيم Ki67 عند المصابات بسرطان الثدي بين مرحلتي قبل العلاج الكيميائي وبعده أصغر من مستوى الدلالة 0.05، أي إنه بمستوى ثقة 95% ويتبين وجود فروق جوهرية ذات دلالة إحصائية لدى مريضات سرطان الثدي في مرحلتي الدراسة قبل العلاج وبعده، وعند المقارنة بين عدد الرتب الموجبة والسالبة يتبين أن عدد الرتب الموجبة أكبر من السالبة ما يدل على أن قيم Ki67 عند المصابات بسرطان الثدي (في مرحلة بعد المعالجة من الدراسة) أعلى من قيم Ki67 عندهن في مرحلة قبل العلاج. يبين المخطط البياني (1) الفروق بين متوسطات قيم Ki67 لدى المريضات المصابات بسرطان الثدي قبل المعالجة الكيميائية المطبقة وبعدها، حيث كانت قبل المعالجة 7.69 ng/ml أعلى مما هي عليه بعد المعالجة 9.88 ng/ml:



المخطط (1) المتوسط الحسابي لقيم Ki67 قبل المعالجة وبعدها عند المصابات بسرطان الثدي

وتمت دراسة الفرق في قيم Ki67 قبل العلاج وبعده بين المجموعة المصابة بسرطان الثدي والمجموعة الشاهدة وذلك عن طريق اختبار Kruskal-Wallis الذي يفيد في التحقق من وجود اختلافات ذات دلالة إحصائية بين مستويات متغير ما ضمن مجموعة واحدة ، ويبين الجدول (4) نتائج الاختبار:

الجدول (4) الفروق في قيم Ki67 بين المريضات المصابات بسرطان الثدي ومجموعة السيدات السليمات في عينة الدراسة						
المتغير المدروس	المجموعة المدروسة	عدد المريضات	متوسط الرتب	إحصائية كاي مربع	P-value	جوهرية الفرق
قيم Ki67 قبل المعالجة	المصابة بالسرطان	30	24.00	10.349	0.006	*
	الشاهدة	10	14.25			
قيم Ki67 بعد المعالجة	المصابة بالسرطان	30	26.20	13.054	0.001	*
	الشاهدة	10	10.40			

الاختبار المستخدم: Kruskal-Wallis ، (*): توجد فروق عند $P < 0.05$

وتبين أن معنوية الاختبار لدراسة الفرق بين المجموعة المصابة بسرطان الثدي والمجموعة الشاهدة في قيم Ki67 قبل وبعد المعالجة أصغر من مستوى الدلالة 0.05، أي إنه بمستوى ثقة 95% ويتبين وجود فروق جوهرية ذات دلالة إحصائية بين المجموعة المصابة بسرطان الثدي والمجموعة الشاهدة، وعند النظر إلى متوسط الرتب يتبين أن قيم Ki67 قبل وبعد المعالجة في مجموعة المصابات بسرطان الثدي أعلى بالمقارنة مع المجموعة الشاهدة.

2. دراسة تأثير المعالجة في قيم Ki67 في مجموعة المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي بعد العلاج الكيميائي:

تعيين مستويات Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان الثدي قبل وبعد المعالجة الكيميائية في
مستشفيات جامعة دمشق

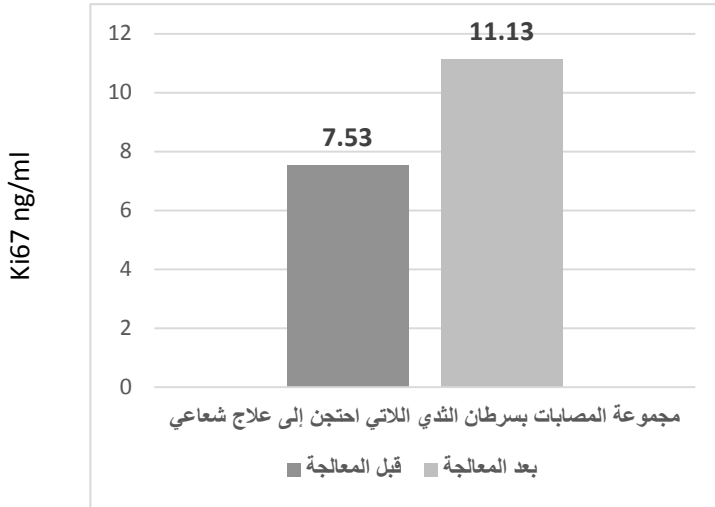
في هذا القسم سنتم دراسة الفرق في قيم Ki67 في مصل المريضات المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي بعد العلاج الكيميائي في مرحلتي بدء العلاج وبعده وذلك عن طريق اختبار Wilcoxon Signed Ranked Test ويبين الجدول (5) نتائج الاختبار:

الجدول (5) الفروق بين قيم Ki67 في مصل المريضات المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي بعد العلاج الكيميائي							
جوهرية الفرق	P-value	إحصائية Z	مجموع الرتب	متوسط الرتب	عدد الرتب	المتغير المدروس: قيم Ki67 في مجموعة المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي. عدد المريضات = 23	
*	0.000	-	0.00	0.00	0 ^a	الرتب السالبة	قبل العلاج - بعد العلاج
			276.0	12.0	23 ^b	الرتب الموجبة	
الاختبار المستخدم: Wilcoxon Signed Ranked Test، (NS): لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية، (*): توجد فروق جوهرية عند $P < 0.05$ a. قبل العلاج < بعد العلاج، b. قبل العلاج > بعد العلاج.							

تبين نتائج الجدول (5) أن معنوية الاختبار 0.000 للفرق في قيم Ki67 عند المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي بين مرحلتي قبل العلاج الكيميائي وبعده أصغر من مستوى الدلالة 0.05، أي إنه بمستوى ثقة 95% ويتبين وجود فروق جوهرية

ذات دلالة إحصائية لدى مريضات سرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي في مرحلتي الدراسة قبل العلاج وبعده، وعند المقارنة بين عدد الرتب الموجبة والسالبة يتبين أن عدد الرتب الموجبة أكبر من السالبة أي إن قيم Ki67 عند المصابات بسرطان الثدي (في مرحلة بعد المعالجة من الدراسة) وهي 11.3 ng/ml أعلى من قيم Ki67 عندهن في مرحلة قبل العلاج والتي بلغت 7.53 ng/ml.

يبين المخطط البياني (2) الفروق بين متوسطات قيم Ki67 لدى المريضات المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي في مرحلتي الدراسة:



المخطط (2) المتوسط الحسابي لقيم Ki67 قبل المعالجة وبعدها عند المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي

3. دراسة تأثير المعالجة في قيم Ki67 في مجموعة المصابات بسرطان الثدي اللاتي شُفّين دون الحاجة إلى علاج شعاعي:

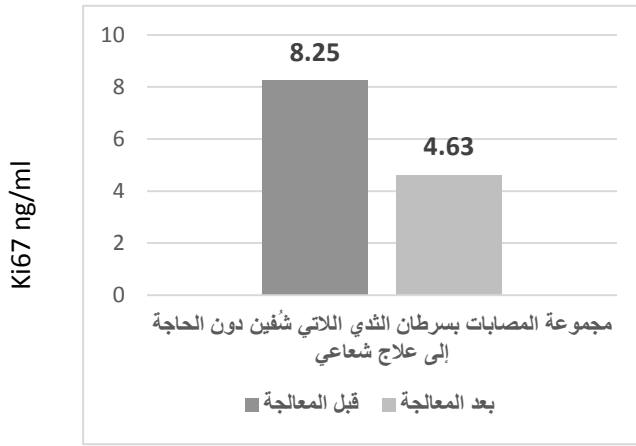
تعيين مستويات Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان الثدي قبل وبعد المعالجة الكيميائية في
مستشفيات جامعة دمشق

في هذا القسم سيتم دراسة الفروق في قيم Ki67 في مصل المريظات المصابات بسرطان الثدي اللاتي احتجن إلى علاج شعاعي بعد العلاج الكيميائي في مرحلتي الدراسة بدء العلاج وبعده وذلك عن طريق اختبار ستودنت لعينتين مرتبطتين Paired T-Test وبيين الجدول (6) نتائج الاختبار:

الجدول (6) الفروق بين قيم Ki67 في مصل المريظات المصابات بسرطان الثدي اللاتي شُفّين دون الحاجة إلى علاج شعاعي												
المتغير المدروس	قبل العلاج		بعد العلاج		الفرق بين المتوسطين							
	عدد الحالات	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	مجال ثقة 95% CI	t المحسوبة	p-value	جوهرية الفروق	
نقطة Ki67	6	8.25	1.5	6	4.63	1.1	3.6	1.7	1.8	5.4	5.19	*
7												
الاختبار المستخدم ستودينت للعينات المرتبطة Paired T-test، (*): توجد فروق عند $P < 0.05$												

تبين نتائج الجدول (6) أن معنوية الاختبار 0.003 لمتوسط الفرق في قيم Ki67 عند المصابات بسرطان الثدي اللاتي شُفّين دون الحاجة إلى علاج شعاعي بين مرحلتي قبل وبعد العلاج الكيميائي أصغر من مستوى الدلالة 0.05، أي إنه بمستوى ثقة 95% ويتبين وجود فروق جوهرية ذات دلالة إحصائية لدى مريضات سرطان الثدي اللاتي شُفّين دون الحاجة إلى علاج شعاعي في مرحلتي الدراسة قبل العلاج وبعده، وعند النظر إلى إشارة الفرق بين المتوسطات يتبين أن إشارة الفرق موجبة ويدل على أن متوسط قيم Ki67 عند المصابات بسرطان الثدي اللاتي شُفّين دون الحاجة إلى علاج شعاعي

(في مرحلة قبل المعالجة من الدراسة) والتي بلغت 8.25 ng/ml أعلى من متوسط قيم Ki67 عندهنّ في مرحلة بعد العلاج والتي بلغت 4.63 ng/ml. يبين المخطط البياني (3) الفروق بين متوسطات قيم Ki67 لدى المريضات المصابات بسرطان الثدي اللاتي شُفّين دون الحاجة إلى علاج شعاعي في مرحلتي الدراسة:



المخطط (3) المتوسط الحسابي لقيم Ki67 قبل المعالجة وبعدها عند المصابات بسرطان الثدي اللاتي شُفّين دون الحاجة إلى علاج شعاعي

مناقشة النتائج:

ترافق تزايد أعداد المصابات بسرطان الثدي سنوياً على مستوى العالم مع زيادة الأبحاث المجراة لفهم ماهيته وتطوير أساليب علاجه بهدف الوصول إلى الشفاء وخفض نسبة الوفيات، وقد حظيت متتابئات الدورة الخلوية باهتمام كبير بحكم دورها الوظيفي، واهتمت الدراسات بدورها في السرطان، لتفسير الآلية الإمرضية أو استهداف هذه المتتابئات في سياق المعالجة لاسيما أن العلاج الكيماوي مكلف مادياً ويشتمل على الكثير من التأثيرات الجانبية التي ترهق المريضات، إلى جانب احتمال النكس بعد تلقيه وبقاء ذلك هاجساً حتى بعد انتهاء المعالجة، إيجاد معالم تفيد في التنبؤ باستجابة المريضات للعلاج يعد أمراً غاية في الأهمية.

سلّطت دراسات كثيرة الضوء على دور Ki67 في سرطان الثدي، خاصة أن قيمه النسيجية معتمدة في تقييم حالة المريضات في الممارسة السريرية، ومن خلال دراستنا التي اهتمت بمستويات Ki67 المصلية تبين أن هذه القيم مرتفعة في مصل جميع مريضات سرطان الثدي المشخصات حديثاً وقبل تلقي المعالجة الكيميائية (7.69 ± 5.09 نانوغرام/مل) سواء اللواتي احتجن لاحقاً إلى علاج شعاعي أو اللواتي لم يحتجن إلى تلقيه، وهذا يتوافق مع كون التعبير عن Ki67 يترافق مع الفعالية الانقسامية للخلايا الورمية ضمن الأورام الخبيثة حيث يرتفع التعبير عنه ضمنها ما يسمح باستخدامه كمشر لمدى عدوانية الورم.

أما بالنسبة إلى قيم Ki67 في مصل المصابات بسرطان الثدي بعد تلقي المعالجة الكيميائية، فقد تبين حسب نتائج دراستنا بأن هذه القيم ارتفعت لدى مجموعة من المريضات (23 مريضة من عينة الدراسة) بعد تلقي المعالجة الكيميائية (5.95 ± 11.3 نانوغرام/مل)، وتوافق هذا سريرياً مع حاجتهن إلى استكمال العلاج عبر تلقي العلاج الشعاعي، فالخلايا غير السرطانية تتمكن من التحكم في إنقاص التعبير عن البروتين Ki67 خلال الأطوار G0/G1 من الطور البيني، في حين أنّ الخلايا السرطانية تزيد من التعبير عنه حتى خلال فترات المخصصة الخلوية، ويستمر في الوجود فيها حتى بعد تثبيط الجين الذي يرمّزه، إما لأنّ Ki67 يكون أكثر ثباتاً في هذه الحالة، أو لأنّ عملية التخريب التي تحصل بعد ترجمته تفشل بالحدوث في الخلايا السرطانية، بينما تنخفض قيم Ki67 لدى المريضات اللواتي لم يحتجن إلى علاج شعاعي وامتثلن للشفاء (4.63 ± 1.12 نانوغرام/مل).

توافقت هذه النتائج مع نتائج الدراسة التي أجراها Ragab HM. وزملاؤه لعام 2018 [18] والتي بينت ارتفاع قيم Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان الثدي المشخصات حديثاً وقبل تلقي العلاج، حيث وجدت فروقاً يعتد بها إحصائياً في قيم Ki67 المصلية بين المريضات المصابات بسرطان الثدي (13.43 (11.78–16.32ng/ml) وبين الشواهد الأصحاء (3.92 (2.72–7.29ng/ml) ($P < 0.001$).

كما توافقت نتائج دراستنا مع دراسة Wang وزملائه لعام 2016 [20]، حيث تبين أن Ki67 يرتبط وبشكل مستقل بالاستجابة السريرية والباثولوجية الكاملة، فانخفاض التعبير عن Ki67 بعد المعالجة الكيميائية لوحظ لدى المريضات اللواتي أبدين استجابة أفضل نسبياً.

تخالفت نتائج دراستنا مع نتائج الدراسة التي أجراها P. Prihantono وزملاؤه لعام 2017 [19] لدور Ki67 في تقييم الاستجابة للمعالجة الكيميائية في سرطان الثدي، حيث تبين وجود علاقة واضحة بين التعبير عن Ki67 والاستجابة لهذه المعالجة، وارتبطت زيادة التعبير عن Ki67 لدى المريضات بزيادة البقيا واستجابة أفضل للمعالجة الكيميائية.

وتخالفت نتائجنا أيضاً مع نتائج الدراسة التي أجراها J. R. Brown وزملاؤه لعام 2014 [21] ، وتبين فيها أن مقياس Ki67 كمسعر للتكاثر الخلوي ترافقت مع استجابة للمعالجة الكيميائية وارتفاعه لدى المريضات يعد مشعراً مستقلاً للاستجابة لهذه المعالجة، فالأورام ذات قيم Ki67 المرتفعة تستجيب بشكل جيد للعلاج الكيميائي كونه يستهدف الخلايا التي تنقسم بسرعة وبالتالي فإن الأورام الأكثر عدوانية والتي ترتفع فيها قيم هذا المسعر التكاثري تكون أكثر استجابة للمعالجة الكيميائية.

الاستنتاجات والتوصيات:

وفق النتائج السابقة وبناء على ارتفاع قيم Ki67 المصلية بعد العلاج لدى المريضات المصابات بسرطان الثدي واللواتي احتجن إلى متابعة المعالجة الشعاعية، وانخفاض قيم Ki67 المصلية بعد العلاج لدى المريضات المصابات بسرطان الثدي واللواتي لم يحتجن إلى متابعة المعالجة الشعاعية؛ فإنه يمكن استخدام مستويات Ki67 المصلية معلماً يساعد على التنبؤ باستجابة مريضات سرطان الثدي للمعالجة (جراحة مع علاج كيميائي).

تعيين مستويات Ki67 المصلية لدى مريضات سرطان الثدي قبل وبعد المعالجة الكيميائية في
مستشفيات جامعة دمشق

ركزت الدراسة على مقارنة مستويات Ki67 المصلية فقط، لذلك توصي بإجراء دراسة مستقبلية لمقايسة مستويات Ki67 المصلية والنسجية معاً لدى مريضات سرطان الثدي قبل المعالجة وبعدها وأثناءها، من أجل تحري أثره على نحو أفضل في مناظرة المعالجة المطبقة والتوصل إلى نتيجة أكثر وضوحاً ودقة.

المراجع References

1. Simaan, S., & Jerf, F. A. (2018) Cancer in Syria (magnitude of the problem). **Int J Cancer Tremnt.** 1(1): p.10-15.
2. <https://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index1.html>, accessed on 29/07/2019
3. Sun, Y. S., Zhao, Z., Yang, Z. N., Xu, F., Lu, H. J., Zhu, Z. Y., Shi, W., Jiang, J., Yao, P. P., & Zhu, H. P. (2017). Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. **International Journal of Biological Sciences.** 13(11): p.1387–1397.
4. <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/breast-cancer>, accessed on 01/08/2021
5. https://www.who.int/cancer/country-profiles/SYR_2020.pdf?ua=1, accessed on 07/05/2020
6. Li, L. T., Jiang, G., Chen, Q., & Zheng, J. N. (2014). Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer. **Molecular Medicine Reports,** 11(3): p.1566–1572.
7. Mannell, A. (2016). The role of Ki-67 in breast cancer. **South African Journal of Surgery.** 54(2): p.10–13.
8. Ross, W., & Hall, P. A. (1995). Ki67: from antibody to molecule to understanding. **Clinical Molecular Pathology,** 48(3): p.113–117.
9. Chierico, L., Rizzello, L., Guan, L., Joseph, A. S., Lewis, A., & Battaglia, G. (2017). The role of the two splice variants and extranuclear pathway on Ki-67 regulation in non-cancer and cancer cells. **PLOS ONE,** 12(2): p.1-20.
10. Scholzen, T., & Gerdes, J. (2000). The Ki-67 protein: from the known and the unknown. **Journal of Cellular Physiology,** 182(3): p.311–322.
11. Sun, X., & Kaufman, P. D. (2018). Ki-67: more

- than a proliferation marker. **Chromosoma**, 127(2): p.175–186.
12. Yerushalmi, R., Woods, R., Ravdin, P. M., Hayes, M. M., & Gelmon, K. A. (2010). Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. **The Lancet Oncology**. 11(2): p.174–183.
 13. Sharma, G. N., Dave, R., Sanadya, J., Sharma, P. and Sharma, K. K. (2010). Various types and management of breast cancer: an overview. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**. 1(2): p.109-126.
 14. Sherr, C.J. (1996). Cancer cell cycles. **Science**. 74(5293): p.1672-1677.
 15. Hanahan, D. and Weinberg R.A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**. 144(5): p.646-674.
 16. Sonnenschein, C. and Soto A.M. (2013). The aging of the 2000 and 2011 Hallmarks of Cancer reviews: a critique. **Journal of Biosciences**. 38(3): p.651-663.
 17. Anjum, F., Razvi, N., & Masood, M. A. (2017). Breast Cancer Therapy: A Mini Review. **MOJ Drug Design Development & Therapy**. 1(2): p.35-38.
 18. Ragab HM, Samy N, Afify M, El Maksoud NA, & Shaaban HM.(2018). Assessment of Ki-67 as a potential biomarker in patients with breast cancer. **J Genet Eng Biotechnol**.16(2):479-484.
 19. Prihantono, P., Hatta, M., Binekada, C., Sampepajung, D., Haryasena, H., Nelwan, B., Asadul Islam, A., & Nilawati Usman, A. (2017, October 31). Ki-67 Expression by Immunohistochemistry and Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction as Predictor of Clinical Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Locally Advanced Breast Cancer. **Journal of Oncology**.
 20. Wang R.-X., Chen S., Jin X., & Shao Z.-M. (2016) Value of Ki-67 expression in triple-negative

breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy with weekly paclitaxel plus carboplatin. **Scientific Reports**. vol. 6.

21. Brown, J. R., DiGiovanna, M. P., Killelea, B., Lannin, D. R., & Rimm, D. L. (2014). Quantitative assessment Ki-67 score for prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. **Laboratory Investigation**, 94(1), 98–106.
-

