

# بررسی میزان بروز پروتئین Gli-1 در بیماران دچار کلوبید و اسکار هیپرتروفیک

## چکیده

زمینه و هدف: کلوبید و اسکارهای هیپرتروفیک، ضایعات پرولیفراتیو درم هستند که در اغلب موارد به دنبال ترومما و به دلیل تجمع بیش از حد کلائن و اجزای ماتریکس خارج سلولی ایجاد می‌شوند. کلوبید، ضایعه‌ای است برجسته، ارتیماتو و غالباً همراه سوزش یا خارش که به رشد خود و رایی محدوده زخم اولیه ادامه می‌دهد و خود به خود پسرفت نمی‌کند؛ در حالی که اسکار هیپرتروفیک، محدود به زخم اولیه می‌ماند و پس از مدتی خود به خود کوچک می‌شود. کلوبید در افراد افریقایی و آسیایی، شایع‌تر از سفیدپوستان است. هنوز هیچ درمان قطعی برای کلوبید پیدا نشده است و درمان‌های فعلی میزان عود بالایی دارند. شناخت پاتوژن کلوبید می‌تواند به کشف درمان‌های اختصاصی و کارآمدتر برای این عارضه کمک کند. اخیرا در یک مطالعه نشان داده است که انکوژن 1-Gli-1 که در برخی از تومورهای انسانی بروز پیدا می‌کند، می‌تواند در ایجاد کلوبید دخیل باشد. هدف از این مطالعه، تعیین میزان بروز پروتئین 1-Gli در بیماران دچار کلوبید و اسکار هیپرتروفیک به منظور مشخص نمودن نقش احتمالی این انکوژن در پاتوژن کلوبید، بود.

روش بررسی: در یک مطالعه مقاطعی با بررسی آرشیو پاتولوژی بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)، رازی و حضرت فاطمه(س) و کلینیک ایرانیان در سالهای ۱۴۸۲-۱۳۸۴، بلوکهای پارافینی که تشخیص بالینی و پاتولوژی آنها کلوبید یا اسکار هیپرتروفیک بود، استخراج شدند. با مراجعت به برگه شرح حال بیماران، یافته‌های بالینی ثبت گردید. برای بررسی برروز انکوژن 1-Gli در نمونه‌های بافتی، با استفاده از روش ایمونوهیستو شیمی (Immunohistochemistry=ICH) اسلامیدهای تهیه شده از نمونه‌های بافتی، توسط آنتی‌بادی ضد 1-Gli (Gli-1) (غله ۱ به ۲۰ رنگ‌آمیزی شدند. میزان بروز انکوژن 1-Gli و درصد و شدت رنگ‌آمیزی بین نمونه‌های کلوبید و اسکار هیپرتروفیک، توسط آزمون آماری Chi-square مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها: در مجموع، ۲۸ نمونه بافتی شامل ۱۲ مورد اسکار هیپرتروفیک و ۱۶ مورد کلوبید بررسی شدند. میانگین سنی بیماران، ۳۷/۸ سال بود. ۵۲/۶٪ بیماران، مذکو و ۴/۶٪ مومن بودند. شایع‌ترین محل کلوبید، در گوش (۲۱/۲۰٪) و شایع‌ترین علت بروز کلوبید نیز، عمل جراحی (۲۵٪) بود. در رنگ‌آمیزی ایمونوهیستو شیمی، تمام موارد کلوبید از نظر 1-Gli ثبت شدند، در حالی که میزان بروز 1-Gli در اسکار هیپرتروفیک تنها ۲۵٪ بود ( $p < 0.01$ ). درصد و شدت رنگ‌آمیزی در نمونه‌های کلوبید به طور معنی‌داری بیشتر از اسکار هیپرتروفیک بود ( $p < 0.01$ ). (Chi-square).

نتیجه‌گیری: انکوژن 1-Gli در تمام موارد کلوبید بروز پیدا می‌کند و از این رو احتمالاً می‌تواند در پاتوژن این ضایعه دخیل باشد. براساس این نتایج، درمان‌هایی که مسیر 1-Gli را بلوک کنند، ممکن است در درمان کلوبید مؤثر باشند. توصیه می‌شود مطالعات *in vivo* و *in vitro* برای بررسی اثر درمان‌های ضد 1-Gli بر روی کلوبید انجام شود.

کلیدواژه‌ها: ۱- کلوبید ۲- اسکار هیپرتروفیک ۳- کلی-1(Gli-1) ۴- پاتوژن

تاریخ دریافت: ۸۵/۳/۲۷، تاریخ پذیرش: ۸۵/۵/۲۸

## مقدمه

اسکار هیپرتروفیک و کلوبید در اصل نوعی پاسخ ترمیمی غیرطبیعی به جراحت هستند که به دلیل اختلال در پاسخ ترمیم

I) دانشیار و متخصص بیماری‌های پوست، بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)، خیابان ستارخان، خیابان نیایش، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران (\*مؤلف مسؤول).

II) استادیار و متخصص آسیب‌شناسی، بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)، خیابان ستارخان، خیابان نیایش، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

III) دستیار بیماری‌های پوست، بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)، خیابان ستارخان، خیابان نیایش، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

ژنهای این مسیر شامل Gli-1 است که از سال ۲۰۰۱ میلادی مطرح شده است. Kim و همکاران با بررسی ۵ نمونه کلویید نشان دادند که انکوژن Gli-1 در کلویید به مقدار فراوانی بروز پیدا می‌کند.<sup>(۱)</sup> انکوژن Gli-1 که اولین بار در گلیوم کشف شده بود، در پاتوژنز کارسینوم سلول بازال (Basal cell carcinoma=BCC)، بسیاری از انواع تومورهای مغزی، برخی سارکومها و انواع دیگری از تومورها نقش دارد.

هدف از انجام این مطالعه، بررسی میزان بروز Gli-1 در نمونه‌های کلویید و اسکار، در تعداد بیشتری از بیماران بود. شناخت نقش این انکوژن در بروز کلویید می‌تواند به کشف درمان‌های مؤثرتر برای این ضایعه کمک کند.

### روش بررسی

برای انجام این مطالعه مقطعی (cross-sectional)، آرشیو پاتولوژی بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص)، حضرت فاطمه (س) و رازی و کلینیک ایرانیان در فاصله سالهای ۱۳۸۲-۸۴ مورد بررسی قرار گرفت. کلیه بلوکهای پاتولوژی بیمارانی که در فاصله زمانی فوق با تشخیص اسکار هیپرتروفیک یا کلویید به مراکز درمانی فوق، مراجعه و بیوپسی شده بودند، وارد مطالعه شدند. به این ترتیب در ابتدا ۶۳ بلوک پاتولوژی انتخاب شد، سپس با بررسی لام رنگ‌آمیزی (Haematoxylin and eosin) (H&E) و نیز بررسی ماکروسکوپی بلوک پاتولوژی، نمونه‌هایی که به دلیل اندازه بسیار کوچک و یا اشکال تکنیکی در روند فیکس کردن نمونه، امکان انجام رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی بر روی آنها وجود نداشت، از مطالعه حذف شدند. به این ترتیب در مجموع ۲۸ بلوک پاتولوژی مورد مطالعه قرار گرفت. شرح حال بالینی از پرونده بیماران استخراج شد و سن، جنس، نوع ضایعه (اسکار هیپرتروفیک یا کلویید)، محل ضایعه، سابقه ترومما یا عمل جراحی و طول مدت ضایعه، در پرسشنامه ثبت شد.

جهت بررسی میزان بروز انکوژن Gli-1 در نمونه‌های بافتی، روش ایمونوهیستوشیمی

طبیعی ایجاد می‌شوند.<sup>(۱)</sup> کلویید، ضایعه برجسته، اریتماتو، سفت و فیبروزی است که در ناحیه نرمه گوش، گردن، چانه، قسمت قدامی جناغ سینه، قسمت فوقانی پشت، بالای بازو و پایین ساق پا شایع است<sup>(۲)</sup> و اغلب همراه خارش، سوزش یا درد بوده، فراتر از محدوده زخم اولیه رشد و گسترش پیدا می‌کند؛ در حالی که اسکار هیپرتروفیک، محدود به ناحیه زخم اولیه باقی می‌ماند و با گذشت زمان خود به خود پسرفت می‌کند.<sup>(۳)</sup> احتمال عود کلویید پس از عمل جراحی بسیار بیشتر از اسکار هیپرتروفیک است.<sup>(۴)</sup> بیشترین گروه سنی شیوع کلویید در فاصله ۱۰-۳۰ سالگی یعنی زمانی است که نوجوان یا جوان، بیشترین اهمیت را به چهره ظاهری خود می‌دهد.<sup>(۵)</sup> آماری از میزان بروز کلویید در نژاد ایرانی در نژاد آسیایی و افریقایی، بویژه افراد دارای پوست تیره‌تر (طبقه‌بندی فیتزپاتریک IV به بالا) شایع‌تر است.<sup>(۶)</sup>

از سالها پیش تاکنون درمان‌های زیادی برای کلویید بکار رفته‌اند، از جمله تزریق استریویید داخل ضایعه، کرایوتراپی، پانسمان‌های فشاری و ژلهای سیلیکونی، ۵-فلوئورویوراسیل (5-FU)، رادیوتراپی، ایتترفرون و بالاخره جراحی، ولی هنوز درمان قطعی و پذیرفته‌شده‌ای برای این ضایعه وجود ندارد و میزان عود پس از درمان بسیار بالا است.<sup>(۷)</sup> برای درمان قطعی و موثر این ضایعه، کسب دانش دقیق در مورد پاتوژنز آن ضروری است.

mekanisim‌های مختلفی برای پاتوژنز کلویید پیشنهاد شده‌اند، از جمله اختلال فعالیت فیبروبلاست‌ها، افزایش تولید کلژن، کاهش تجزیه کلژن، افزایش تولید هیالورونیک اسید، تغییرات سطح انواع عوامل رشد و سیتوکین‌ها از جمله افزایش سطح (Tumor growth factor-B) TGF-B و کاهش سطح (Interferon- $\alpha$ ) IFN- $\alpha$  و (Interferon- $\gamma$ ) IFN- $\gamma$ ، اختلال در ژنهای دخیل در آپوپتوز (P53) و انواع اختلالات ایمونولوژیک، ولی هنوز پاتوژنز بروز این ضایعه، به‌طور کامل مشخص نیست.<sup>(۸)</sup> یکی از مکانیسم‌هایی که اخیراً مورد توجه محققان قرار گرفته است، اختلال در مسیر پیام‌رسان Hedgehog و

کلوبید در سن کمتر از ۱۰ سالگی به دنبال جراحی هرنی اینگوینال بوجود آمده بود و ۴ بیمار(۲۵٪)، در سن بالای ۳۰ سالگی دچار کلوبید شده بودند. از ۴ بیماری که در سن بالای ۲۰ سالگی دچار کلوبید شده بودند، علت کلوبید در یک بیمار، آکنه شدید، در یک بیمار، خالکوبی در ناحیه ابرو و در ۲ بیمار دیگر، جراحی در نواحی مستعد بروز کلوبید گزارش شد. متوسط طول مدت ضایعه در بیماران دچار کلوبید(۱-۵۳) ۷/۹۳ سال بود. به دلیل آنکه جمع آوری داده‌ها بر اساس اطلاعات مندرج در آرشیو پاتولوژی و پرونده بیماران صورت گرفته بود، نوع پوست بیماران (طبقه بندی فیتزپاتریک) نامشخص بود.

جدول شماره ۱، محل بروز کلوبید را در بیماران مختلف نشان می‌دهد. شایع‌ترین محل، گوش(۲۱/۲۵٪)، ناحیه قدام جناغ سینه(۱۸/۷۵٪) و ناحیه فوقانی پشت(۱۲/۵٪) بود. در مجموع در ۷۵٪ بیماران، کلوبید در محلهای شایع و در ۲۵٪ در محلهای ناشایع بروز کرده بود.

جدول شماره ۱- توزیع فراوانی محل بروز کلوبید در بیماران تحت بررسی

درصد(٪)	تعداد	محل کلوبید
۲۱/۲۵	۵	گوش
۱۸/۷۵	۳	قدام جناغ سینه
۱۲/۵	۲	قسمت فوقانی پشت
۶/۲۵	۱	گردن
۶/۲۵	۱	قسمت فوقانی بازو
۶/۲۵	۱	ابرو
۶/۲۵	۱	پهلو
۶/۲۵	۱	باسن
۶/۲۵	۱	کشاله ران
۱۰۰	۱۶	جمع

علت بروز کلوبید در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. در ۱۸/۷۵٪ موارد، ضایعات آکنه شدید موجب بروز کلوبید در ناحیه فوقانی تنہ شده بود، ۲۵٪ بیماران به دنبال عمل جراحی(Iatrogenic) دچار کلوبید شده بودند و در ۱۸/۷۵٪ موارد، سوراخ کردن گوش باعث بروز کلوبید شده

IgG1) با استفاده از آنتی بادی (immunohistochemistry) پلی‌کلونال خرگوشی به رقت (۱/۲۰ Sc) biotechnology و 20687 رنگ‌آمیزی، کلیه اسلايدهای IHC، توسط پاتولوژیست طرح بررسی شدند. بروز انکوژن Gli-1 به صورت رنگ قهوه‌ای در سیتوپلاسم یا هسته سلول نشان داده می‌شود. در لاهایی که از نظر Gli-1 مثبت بودند، شدت رنگ‌آمیزی (intensity of positivity) بر اساس یک مقیاس بصری به صورت +(خفیف)، ++(متوسط) و +++(شدید) طبقه‌بندی شد. همچنین درصد رنگ‌آمیزی(degree of positivity) در یک مقیاس چهار نمره‌ای بدین صورت طبقه‌بندی گردید:

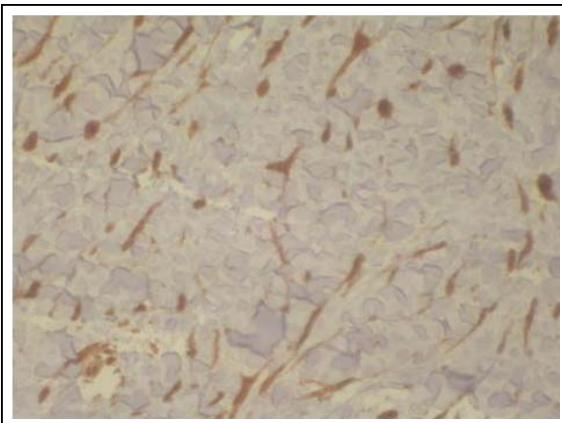
- ۰) هیچ سلولی رنگ نگرفته است.
- (۱) کمتر از ۲۵٪ سلولها رنگ گرفته‌اند.
- (۲) ۲۵-۵۰٪ از سلولها رنگ گرفته‌اند.
- (۳) ۵۰-۷۵٪ از سلولها رنگ گرفته‌اند.
- (۴) حداقل ۷۵٪ سلولها رنگ گرفته‌اند.

رنگ‌آمیزی در مجموع در ۲ راند انجام گرفت. در هر راند به عنوان کنترل مثبت از یک BCC استفاده شد. به عنوان کنترل منفی در هر راند، یکی از نمونه‌های کلوبید بدون استفاده از آنتی‌بادی اولیه رنگ شد.

کلیه داده‌ها جهت آنالیز وارد نرم‌افزار آماری SPSS version 10.5) شد. میزان بروز انکوژن Gli-1، شدت رنگ‌آمیزی و درصد رنگ‌آمیزی در نمونه‌های کلوبید و اسکار هیپرتروفیک توسط آزمون Chi-square مورد مقایسه قرار گرفت.

#### یافته‌ها

در مجموع ۲۸ بلوک شامل ۱۶ نمونه کلوبید و ۱۲ نمونه اسکار هیپرتروفیک، هر کدام از یک بیمار(۱۳ زن و ۱۵ مرد) با میانگین سنی ۳۷/۸ سال مورد بررسی قرار گرفتند. در بیماران دچار کلوبید، میانگین سنی در زمان مراجعه ۳۵/۱۲ سال و میانگین سن شروع ضایعه، ۲۷/۲۸ سال بود. در ۱۱ بیمار، کلوبید در ۱۰-۳۰ سالگی ایجاد شده بود. در یک بیمار،



**شکل شماره ۲**- رنگآمیزی نمونه کلوبید با آنتی‌بادی ضد Gli-1 با شدت رنگآمیزی+++ در بیش از ۷۵٪ سلولها؛ عمدتاً سیتوپلاسم رنگ گرفته است(بزرگنمایی  $\times 40$ ).

درصد رنگآمیزی(degree of positivity) در نمونه‌های اسکارهیپرتروفیک و کلوبید در جدول شماره ۳ گزارش شده است. درصد رنگآمیزی در نمونه‌های کلوبید به طور معنی‌داری بیشتر از اسکارهیپرتروفیک بود( $p < 0.01$ ). (Chi-square).

**جدول شماره ۳**- توزیع درصد رنگآمیزی(degree of positivity) در بیماران دچار کلوبید و اسکار هیپرتروفیک تحت انکوژن Gli-1 بررسی

کلوبید	اسکار هیپرتروفیک	درصد رنگآمیزی*
.	۹	.
۱	۱	۱
.	۰	۲
۱	۲	۳
۱۴	۰	۴

\* درصد رنگآمیزی عبارتست از نسبت سلولهایی که انکوژن Gli-1 را بروز داده‌اند به کل سلولهای بافت: .، هیچ یک از سلولها رنگ نگرفته‌اند؛ ۱، کمتر از ۲۵٪-۵۰٪؛ ۲، ۵۰٪-۷۵٪؛ ۳، بیش از ۷۵٪ سلولها رنگ گرفته‌اند.

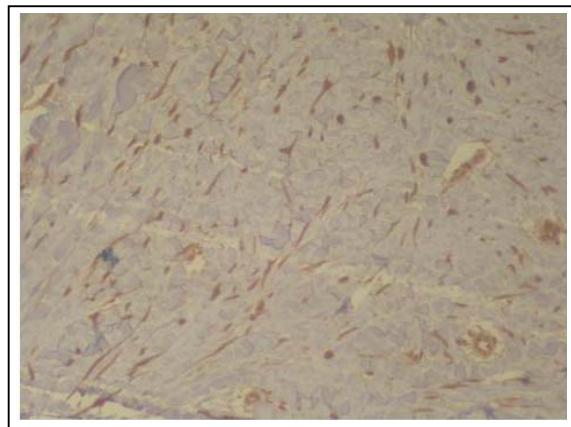
شدت رنگآمیزی(intensity of positivity) در نمونه‌های اسکار هیپرتروفیک و نمونه‌های کلوبید در جدول شماره ۴ خلاصه شده است. شدت رنگآمیزی در نمونه‌های کلوبید به طور معنی‌داری شدیدتر از نمونه‌های اسکار بود( $p < 0.01$ ). (Chi-square).

بود. در ۲۵٪ موارد هیچ سابقه‌ای از تروما یا بیماری التهابی نظری آکنه وجود نداشت.

**جدول شماره ۲**- توزیع فراوانی علل مختلف زمینه‌ساز کلوبید در بیماران تحت بررسی

علت زمینه‌ساز	تعداد	درصد(%)
تروما	۹	۵۶/۲۵
جراحی	۴	۲۵
سوراخ کردن گوش	۳	۱۸/۷۵
خالکوبی	۱	۷/۲۵
جراحت تصادفی	۱	۷/۲۵
آکنه	۳	۱۸/۷۵
کلوبید خودبخودی	۴	۲۵
جمع	۱۶	۱۰۰

نتایج رنگآمیزی IHC برای Gli-1 در موارد اسکار هیپرتروفیک در ۷۵٪ موارد، منفی و در ۲۵٪ موارد، مثبت شد. در مورد نمونه‌های کلوبید، ۱۰۰٪ نمونه‌ها از نظر Gli-1 مثبت شدند. آزمون Chi-square نشان داد که میزان بروز انکوژن Gli-1 در نمونه‌های کلوبید به طور معنی‌داری بیشتر از اسکار هیپرتروفیک است ( $p < 0.01$ ). Chi-square. رنگآمیزی در فیبروبلاست‌ها به صورت ترکیبی از رنگآمیزی هسته و سیتوپلاسم دیده شد(شکل شماره ۱ و ۲).



**شکل شماره ۱**- رنگآمیزی نمونه کلوبید با آنتی‌بادی ضد Gli-1 که نشان‌دهنده رنگگیری شدید(++) در بیش از ۷۵٪ سلولهای فیبروبلاست است(بزرگنمایی  $\times 10$ ).

سلولهای مزانشیمی در ناحیه bulge فولیکول مو و سلولهای غلاف درمال (dermal sheath cells) فولیکول موی در حال رشد، محدود می‌شود و در سایر فیبروبلاست‌های درم نرمال یا در حال ترمیم طبیعی این پروتئین دیده نمی‌شود.<sup>(۱۰)</sup> عملکرد سلولهای Gli-1 مثبت در ناحیه bulge فولیکول هنوز مشخص نیست ولی احتمال می‌رود که به عنوان ذخیره سلولهای بنیادین (stem cell) در زمان ترمیم زخم عمل کند. احتمال دارد که بروز کلوبید در اصل در اثر نوعی اختلال در عملکرد این سلولهای مزانشیمی در روند ترمیم زخم باشد. به این ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که زیر گروهی از فیبروبلاست‌های مشتق از سلولهای مزانشیم bulge فولیکول که پروتئین Gli-1 را بروز می‌دهند، به دلیل اختلال در تمایز و تکثیر طبیعی، موجب بروز کلوبید می‌شوند. همچنین نشان داده شده است که ژن Gli-1 در سارکوم‌های کودکی که تومورهایی با منشأ مزانشیمی هستند بروز پیدا می‌کند.<sup>(۱۱)</sup> بروز Gli-1 در کلوبید می‌تواند شاهدی باشد به نفع آنکه کلوبید نیز نوعی پرولیفراسیون نئوپلاستیک فیبروبلاست‌هایی است که از سلولهای مزانشیمی ابتدایی منشأ گرفته‌اند.

نتایج مطالعه حاضر موید بررسی قبلی Kim و همکاران است. در مطالعه حاضر نیز میزان بروز Gli-1 در نمونه‌های اسکارهیپرتروفیک ناچیز بود و تنها ۲۵٪ از موارد اسکارهیپرتروفیک دارای پروتئین Gli-1 بودند. بعلاوه، در آن دسته از اسکارها که از نظر Gli-1 مثبت شدند، شدت رنگ‌آمیزی و درصد سلولهای مثبت از میان کل سلولها به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر از کلوبید بود؛ بر عکس، تمام موارد کلوبید، پروتئین Gli-1 را در بیش از ۷۵٪ سلولها بروز داده بودند، هر چند شدت رنگ‌آمیزی در نمونه‌های مختلف متغیر بود. این مطالعه ارتباطی را میان شدت و درصد رنگ‌آمیزی با سابقه ترومما، محل، سن، جنس و طول مدت درگیری نشان نداد. این یافته می‌تواند به دلیل پایین بودن حجم نمونه باشد زیرا مطالعه از ابتدا برای بررسی چنین ارتباطی طراحی نشده بود.

جدول شماره ۴- توزیع شدت رنگ‌آمیزی (intensity of positivity) انکوژن Gli-1 در بیماران دچار کلوبید و اسکار هیپرتروفیک تحت بررسی

درصد رنگ‌آمیزی*	اسکار هیپرتروفیک	کلوبید
۹	.	.
۱	۱	۲
۲	۲	۴
۳	۰	۱۲

\*شدت رنگ‌آمیزی به صورت ۰ (عدم رنگ‌گیری بافت)، ۱ (رنگ‌گیری خفیف)، ۲ (متوسط) و ۳ (شدید) طبقه‌بندی می‌شود.

آزمون Chi-square در نمونه‌های کلوبید هیچ ارتباطی را میان درصد یا شدت رنگ‌آمیزی با جنس، سن، محل ضایعه و سابقه ترومما نشان نداد.

## بحث

ارتباط Gli-1 با کلوبید، اولین بار توسط Kim و همکاران در سال ۲۰۰۱ مطرح شده بود. این گروه از محققان برای آزمودن فرضیه خود مبنی بر اینکه مسیر پیامرسان Hedgehog (Hh) و از جمله Gli-1 که یکی از ژنهای هدف در این میسر است، می‌تواند در پاتوژن کلوبید نقش داشته باشد، ۵ نمونه بلوک پارافینی از بیماران دچار کلوبید و ۴ بلوک اسکارهیپرتروفیک را مورد بررسی قرار دادند. بررسی ایمونوھیستوشیمی با آنتی بادی ضد Gli-1 مشخص کرد که این انکوژن در تمام نمونه‌های کلوبید به میزان بالایی بروز می‌یابد ولی بروز انکوژن Gli-1 در هیچ یک از نمونه‌های اسکارهیپرتروفیک دیده نشد.<sup>(۹)</sup> این مطالعه اولین گام در راه شناسایی نقش Gli-1 در پاتوژن کلوبید بود ولی تنها بر روی ۹ نمونه کلوبید و اسکارهیپرتروفیک انجام شده بود. بعلاوه نتایج IHC تنها به صورت کیفی بیان شده بودند.

هر چند بجز مطالعه Kim و همکاران، هیچ بررسی دیگری به طور اختصاصی در مورد ارتباط Gli-1 و کلوبید انجام نشده است، بروز Gli-1 در سلولهای با منشأ مزانشیمی قبل نیز نشان داده شده بود. Ghali و همکاران نشان داده‌اند که در پوست نرمال، بروز پروتئین Gli-1 به کراتینوسیت‌های غلاف خارجی ریشه مو (outer root sheath) از گروهی از

فیبروبلاست‌های کلوبید و میزان کلاژن‌سازی در آنها بررسی شود.

### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این مطالعه پروتوانکوژن Gli-1 در بافت کلوبید به میزان بالایی بروز می‌یابد، در حالی که در اسکار هیپرتروفیک به مقادیر ناچیزی دیده می‌شود. اهمیت اصلی مطالعه حاضر در آن است که داروهای مهار کننده مسیر پیام رسان Gli و Hh می‌توانند در آینده به عنوان درمان‌های جدیدی برای کلوبید بکار روند.

### تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران در قالب طرح تحقیقاتی (شماره ثبت: ۱۲۸) انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندهای مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولین آن مرکز و کلیه پرستل محترم آزمایشگاه پاتولوژی بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص) بویژه سرکار خانم شرزوی و سرکار خانم رضوان جهت انجام رنگآمیزی ایمونوھیستوشیمی نمونه‌ها ابراز می‌دارند.

### فهرست منابع

1- Ansarin H, Ghahary A, Akbarian F. Hypertrophic scars and keloids: part I. Iranian Journal of Dermatology 2003; 3: 27-34.

2- Burrows NP, Lovell CR. Disorders of Connective Tissue. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C, editors. Rook's Textbook of dermatology. Vol 3. 7th ed. UK: Blackwell Science; 2004; 46-54.

3- Larrabee WF Jr, East CA, Jaffe HS, Stephenson C, Peterson KE. Intralesional interferon gamma treatment for keloids and hypertrophic scars. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1990; 116 :1159-62.

4- Pollack SV, Goslen JB. The surgical treatment of keloids. J Dermatol Surg Oncol 1982; 8: 1045-9.

5- Datubo-Brown DD. Keloids: A review of the literature. Br J Plast Surg 1990; 43: 70-7.

شناخت نقش مسیر Hh در پاتوژنر کلوبید از نظر درمانی نیز اهمیت دارد. مشخص شده است که ترکیب ماکرولیدی Sirolimus یا Rapamycin می‌تواند مانع بدخیم شدن و تکثیر سلولهایی شود که پروتئین Gli-1 را بروز می‌دهند. از این‌رو احتمال دارد که Rapamycin یا آنالوگ آن تاکرولیموس بتوانند به عنوان داروی ضد تومور در درمان کلوبید، BCC و سایر تومورهایی که انکوژن Gli-1 را بروز می‌دهند بکار روند.<sup>(۱۲)</sup> داروی دیگری که می‌تواند مسیر Hh را بلوک کند، Cyclopamine است. در سال ۲۰۰۱ مشخص شد که این دارو می‌تواند مانع تکثیر سلولهای گلیوم و مدولوبلاستوم در محیط کشت شود.<sup>(۱۳)</sup> سپس تاثیر سیکلوبامین در القای آپوپتوز و مهار تکثیر سلولهای سرطان پانکراس و در پی آن سرطان سلول کوچک ریه<sup>(۱۴)</sup> و در نهایت مهار بروز Gli-1 و جلوگیری از رشد سلولهای کارسینوم پستان مشخص شد.<sup>(۱۵)</sup> با توجه به مطالعات فوق، سیکلوبامین احتمالاً می‌تواند تکثیر سلولهای کلوبید را نیز مهار کند.

در مجموع مطالعه حاضر بروز بیش از حد انکوژن Gli-1 را در نمونه‌های کلوبید و عدم بروز آن را در نمونه‌های اسکار هیپرتروفیک تایید می‌کند. یکی از محدودیت‌های این مطالعه آن است که برای بررسی میزان بروز انکوژن Gli-1 تنها از روش ایمونوھیستوشیمی (IHC) استفاده شده است. استفاده از روشهای ژنتیک نظری PCR و بررسی (Ribonucleic acid) RNA این انکوژن در نمونه‌های باقی، می‌تواند دقت کار را افزایش دهد. بعلاوه، به دلیل عدم امکان پیگیری طولانی مدت بیماران، ارتباط میان بروز Gli-1 و احتمال عود ضایعه به دنبال درمان، مورد بررسی قرار نگرفت.

پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی تاثیر داروهایی نظیر تاکرولیموس بر روی درمان بیماران دچار کلوبید چه به صورت پروفیلاتیک پس از عمل جراحی و چه به صورت درمانی بر روی بیمارانی که دچار کلوبید قدیمی هستند، مورد بررسی قرار گیرد. همچنین در صورت امکان پیشنهاد می‌شود به صورت in vitro تاثیر این داروها بر تکثیر

- 6- Ketchum LD, Robinson DW, Masters FW. Follow-up on treatment of hypertrophic scars and keloids with triamcinolone. *Plast Reconstr Surg* 1971; 48: 256-9.
- 7- Berman B, Flores F. The treatment of hypertrophic scars and keloids. *Eur J Dermatol* 1998; 8: 591-5.
- 8- Shaffer JJ, Taylor SC, Cook-Bolden F. Keloidal scars: A review with a critical look at therapeutic options. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: 63-97.
- 9- Kim A, DiCarlo J, Cohen C, McCall C, Johnson D, McAlpine B, et al. Are keloids really “gli-loids”? High-level expression of gli-1 oncogene in keloids. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45: 707-11.
- 10- Ghali L, Wong ST, Green J, Tidman N, Quinn AG. Gli-1 protein is expressed in basal cell carcinomas, outer root sheath keratinocytes and a subpopulation of mesenchymal cells in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 595-9.
- 11- Roberts WM, Douglass EC, Peiper SC, Houghton PJ, Look AT. Amplification of the gli gene in childhood sarcomas. *Cancer Res* 1989; 49: 5407-13.
- 12- Louro ID, McKie-Bell P, Gosnell H, Brindley BC, Bucy RP, Ruppert JM. The zinc finger protein GLI induces cellular sensitivity to the mTOR inhibitor rapamycin. *Cell Growth Differ* 1999; 10: 503-16.
- 13- Dahmane N, Sanchez P, Gitton Y, Palma V, Sun T, Beyna M, et al. The Sonic Hedgehog-Gli pathway regulates dorsal brain growth and tumorigenesis. *Development* 2001; 128: 5201-12.
- 14- Watkins DN, Berman DM, Burkholder SG, Wang B, Beachy PA, Baylin SB. Hedgehog signalling within airway epithelial progenitors and in small-cell lung cancer. *Nature* 2003; 422: 313-17.
- 15- Kubo M, Nakamura M, Tasaki A, Yamanaka N, Nakashima H, Nomura M, et al. Hedgehog signaling pathway is a new therapeutic target for patients with breast cancer. *Cancer Res* 2004; 64: 6071-4.

## *Expression of Gli1 Protein in Keloids and Hypertrophic Scars*

*\*H. Ansarin, MD*      *II A.R. Sadeghipour, MD*      *III R. Soltani Arabshahi, MD*

### *Abstract*

**Background & Aim:** Keloids and hypertrophic scars (HS) are proliferative dermal lesions with an overproduction of collagen and extracellular matrix which usually follow trauma to the skin. Keloid is a raised, erythematous, frequently pruritic or burning lesion which grows over normal tissues with no tendency to spontaneous regression; while hypertrophic scar remains limited to the boundaries of the initial trauma and tends to regress gradually. Keloid is more frequent in African and Asian descent. No definite cure has been found for this lesion and existing treatments have high rates of relapse. Understanding the pathophysiology of keloid is necessary for development of newer, more effective therapies. Recently it has been shown that Gli1 oncogene (expressed in several of the human tumors) is involved in the pathogenesis of keloid. The aim of the present study is to determine the expression of Gli1 protein in keloids and hypertrophic scars and to define the probable role of this oncogene in the pathogenesis of keloid.

**Patients & Method:** In a cross-sectional study carried out between 2003 and 2005, paraffin-embedded formalin-fixed specimens with the diagnosis of keloid or HS were retrieved from the pathology archives of Rasoul-e Akram, Razi and Hazrat-e-Fatemeh hospitals and Iranian Dermatology Clinic. Clinical data were collected from patients' records. Immunohistochemical staining with anti-Gli1 antibody(1:20) was performed on pretreated slides. The expression of Gli1 and the degree and intensity of positivity were compared between keloids and HS using Chi-square test.

**Results:** A total of 28 specimens (12 HS, 16 keloids) were studied. The patients' mean age was 37.8 years, including 13 females and 15 males. The most frequent site of keloid was auricle (31.25%) and the most common cause was surgery (25%). Immunohistochemical staining for Gli1 was positive for all of the keloids but only 25% of HS ( $p<0.01$ ). The degree and intensity of positivity was significantly higher in keloids compared to HS ( $p<0.01$ ).

**Conclusion:** Gli1 oncogene is highly expressed in all of the keloids and might be involved in the pathogenesis of this lesion. With regard to these results, drugs that block the Gli1 pathway might be effective in the treatment of keloids. We recommend in vitro and in vivo studies to evaluate the efficacy of anti-Gli1 therapies on keloids.

**Key Words:** 1) Keloid 2) Hypertrophic Scar 3) Gli-1 4) Pathogenesis

I) Associate Professor of Dermatology. Hazrat Rasoul-e-Akram Hospital. Niayesh St., Sattarkhan Ave., Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran. (\*Corresponding Author)

II) Assistant Professor of Pathology. Hazrat Rasoul-e-Akram Hospital. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

III) Resident of Dermatology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.