33996.33

جامعة الموصل
كلية العلوم

دراسة مناعية نسيجية لخلايا CD_8^+ والمثبط CTLA-4 ومستقبلاته لمريضات سرطان الثدي

تُقى مؤيد بكر الصواف

اطروحة دكتوراه

علوم الحياة / أحياء مجهرية

باشراف

أ.م.د. هيام عادل الطائي

أ.د. محمد نجيب الشاهري

الخلاصة Abstract

ركزت الدراسة على انتخاب بعض المستضدات المناعية لمريضات سرطان الثدي ودراسة علاقتها بالمرض. إذ انتخبت (67) حالة مشخصة بالاصابة وبمراحل مختلفة لمريضات اورام الثدي بواقع (9) حالات بوصفها عينات سيطرة من مرضى الاورام الحميدة (13.4%) و (58) حالة من سرطان الثدي (86.6%) مقارنة مع عينات السيطرة لنسيج اللوزتين لـ (6) حالات سليمة للفترة ما بين (تموز–كانون الاول/2015) تراوحت اعمار حالات الدراسة مابين (27-75) سنة وبمتوسط عمر 50 سنة. تم الحصول على قوالب المقاطع النسيجية للمريضات جاهزة من المختبر والمثبتة على شمع البارافين.

دُرست مستويات البروتينات CD_8, CTLA-4 , CD_{80} , CD_{86} لمريضات سرطان الثدي بإستخدام تقنية كيمياء المناعة النسيجية immunohistochemistry (IHC) وعلاقتها مع بعض الخصائص السريرية المرضية وهي عمر المريضة , نوع ودرجة ومرحلة الورم, حجم الورم وحالة العقد اللمفاوية.

كما تم أستخدام اثنين من المتغيرات لكل بروتين مدروس إذ قيم بروتين CD_8 على الخلايا اللمفاوية في منطقة السدى Stromal وداخل الورم Intratumoral, ومستضدات CTLA-4 , CD_{80} , CD_{86} على الخلايا اللمفاوية والخلايا الطلائية من حيث النسبة والكثافة.

بينت نتائج الدراسة تواجد البروتين CD_8 على الغشاء السايتوبلازمي للخلايا اللمفاوية وبنسب مختلفة وظهرت أعلى نسبة في منطقة السدى ضمن الفئة (+) بنسبة (43.3%) كما أظهرت نسب البروتين في منطقة السدى فروقا معنوية في نوع الورم النسيجي (P=0.001) وحالة العقد اللمفاوية (P=0.004) وظهرت نسب البروتين داخل الورم بأعلى نسبة ضمن الفئة (+) بنسبة (62.7%) وأظهرت فروقاً معنوية في نوع الورم النسيجي (P=0.0001) ودرجة الورم (P=0.03) ولم تظهر فروق معنوية او زيادة في نسب ترشح الخلايا اللمفاوية مع تقدم العمر او المرض او حجم الورم.

أظهرت نتائج الدراسة تواجد البروتين CTLA-4 في السايتوبلازم والغشاء السايتوبلازمي للخلايا اللمفاوية وخلايا النسيج الورمية او الطبيعية وبنسب مختلفة اما نسبة التعبير لمستوى البروتين على سطح الخلايا اللمفاوية فظهر بأعلى مستوى في الفئة (1) بنسبة (67.2%) من مجموع حالات الدراسة الكلية، اما مستوى البروتين على سطح النسيج فظهر بأعلى نسبة ضمن الفئة (العالية) بنسبة (61.2%) أما العلاقة مابين مستوى البروتين وبعض المؤشرات السريرية المدروسة فبينت نتائج الاختبار انه لايوجد فرق معنوي مابين نسب البروتين وكثافته في النسيج وكذلك الخلايا اللمفاوية.

حددت نتائج الدراسة تواجد البروتين CD_{80} في السايتوبلازم والغشاء السايتوبلازمي للخلايا اللمفاوية وظهرت بأعلى نسبة في الفئة (1) بنسبة (34.3%) وخلايا النسيج الورمية او الطبيعية ضمن الفئة

(العالية) بنسبة (64.2%) أما العلاقة مابين مستوى البروتين وبعض الخصائص السريرية المدروسة فبينت نتائج الاختبار انه هناك فرق معنوي في مرحلة المرض (P=0.037) وحالة العقد اللمفاوية (P=0.043) لنسب البروتين وكثافته في النسيج بينما لم تظهر الخصائص الأخرى فروقاً معنوية او زيادة او نقصان مع اختلاف المؤشرات.

سجلت نتائج الدراسة تواجد البروتين CD_{86} في السايتوبلازم والغشاء السايتوبلازمي للخلايا اللمفاوية وظهرت الحالات بأعلى نسبة ضمن الفئة (3) بنسبة (65.7%) والخلايا النسيجية الورمية او الطبيعية ضمن الفئة (العالية) بنسبة (97%) اما العلاقة مابين مستوى البروتين وبعض المؤشرات السريرية المدروسة فبينت نتائج الاختبار انه هناك فروق معنوية في نسب البروتين لكل من نوع الورم النسيجي (P=0.001) وحالة العقد اللمفاوية (P=0.003) لمستوى البروتين على سطح الخلايا اللمفاوية.

كما اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان هناك فروقاً معنوية لبعض الخصائص السريرية المرضية والتي شملت (عمر المريضة, حجم الورم) عند مقارنة حالات السرطان والسيطرة عند مستوى معنوية (0.05) حيث كانت قيمة p-value لعمر المريضة (p=0.005) وحجم الورم (p=0.022) كما بينت نتائج البروتينات المدروسة ان هناك فروقاً معنوية بين حالات السرطان والسيطرة على مستوى CD_8 اذ بلغت قيمة P-value (p=0.001 , p=0.031) في منطقة السدى وداخل الورم. كما أظهرت النتائج فرقاً معنوياً لمستوى بروتين CTLA-4 على سطح الخلايا اللمفاوية بين حالات السرطان والسيطرة (P=0.040) كما لم يظهر فرق معنوي لمستوى البروتين على سطح النسيج. اظهرت نتائج الاختبار انه لايوجد فرق معنوي لمستوى بروتين CD_{80} على سطح النسيج والخلايا اللمفاوية (P=0.374 , P=0.100) واكدت نتائج اختبار بروتين CD_{86} ان هناك فرق معنوي في نسب التشفير لهذا البروتين على سطح الخلايا اللمفاوية (0.001) اما على سطح النسيج لم يظهر فرق معنوي بين مجموعتي الدراسة.

حُللت العلاقة مابين البروتينات المدروسة, وشُخص الارتباط القوي مابين تواجد البروتين CD_8 داخل الورم والسدى (p=0.001) كما تبين ان هناك ارتباط متوسط مابين بروتين CD_8 في منطقة السدى وبروتين CTLA-4 على سطح الخلايا اللمفاوية (0.004) وبين مستوى بروتين CD_{80} على سطح النسيج والخلايا اللمفاوية (0.001), كما ظهر ارتباط ضعيف مابين بروتين CTLA-4 وبروتين CD_{86} على سطح الخلايا اللمفاوية (0.021) كما لم يظهر اي ارتباط مابين خلايا CD_8 وبروتينات CD_{80} , CD_{86} ولم يظهر ارتباط ايضا مابين بروتين CTLA-4 وبروتين CD_{80}.

University of Mosul
College of Sciences

Immunohistological study of CD_8^+ cells and CTLA-4 Inhibitor and it's receptors for breast cancer patients

Ph. D. Thesis Submitted By

Tuka Muayad Bakir Al-Sawaf

To

To Council of the College of Science University of Mosul In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

DOCTOR OF PHILOSOPHY

In

Biology/Microbiology

Supervised by

Assist. Prof. Dr. Hiyam Adeel Al-taii

Prof. Dr. Mohammed Najib Al-shahri

1438 A.H **2017 A.D.**

Abstract

The study focused on the election of some immune antigens in cases of breast cancer and study its relationship with the disease. it elected (67) diagnosed with the different stages in patients with breast tumors. (9) cases as acontrol samples from benign patients with represent (13.4%) and (58) cases of breast cancer (86.6%) for the period (July-December / 2015). patients ages (27-75) with an a median age of 50 years.I took ready tissue sections templates from mufty lab which were installed on paraffin wax.

I studied the levels of proteins CD_8, CTLA-4, CD_{80}, CD_{86} for patients with breast cancer by IHC and relationship between these proteins and some clinical characteristics of the pathological criterion which included patient's age, the type, grade and tumor stage, the size of the tumor and the status of the lymph nodes.

The CD_8 antigen on lymphocytes in the Stromal area and in Intratumoral were also evaluated. The CTLA-4, CD_{80}, CD_{86} antigens were also evaluated recarding ratio and densities on lymphocytes and epithelial cells.

The Results of the study showed the presence of protein CD_8 on the cell membrane of lymphocytes in different proportions and showed the highiest percentage in the stromal area at category (+) by (43.3%) and protein percentages shown in the stromal area were significant differences in tumor histological type ($P = 0.001$) and the status of the lymph nodes ($P = 0.004$) and appeared protein percentages within intratumoral at highiest percentage within category (+) by (62.7%) showed significant differences in the tumor histological type ($P = 0.0001$) and tumor grade ($P = 0.03$) and not significant differences or increase in protein percentages on TILs with the progress of age or disease progresstion and tumor size.

The results showed the presence of the protein CTLA-4 on the cytoplasm and membrane lymphocytes and tumor or normal cells at different percentages. The percentage of expression to the level of a protein on the surface of lymphocytes appeared to the highiest level in the category (1) by (67.2%) of the total cases, level protein on the surface of tissue appeared the highiest percentage in category (high) by (61.2%).

The relationship between the protein level and some studied clinical indications, the results showed there is no significant difference between the proportions of protein and the density in the tissue as well as lymphocytes.

The results of our study showed the presence of the protein CD_{80} on the cytoplasm and the membrane lymphocytes. the highiest percentage of protein in the category (1) was (34.3%) while tumor or normal cell category (high) was (64.2%). The relationship between the protein and some studied clinical characteristics showed that there is a significant difference in disease stage (P = 0.037) and the status of the lymph nodes (P = 0.043) for the proportions of protein and density in the tissue, while the other properties did not show significant differences neither increase or decrease with different indicators.

The results also showed the presence of protein CD_{86} on the cytoplasm and the membrane lymphcytes in cases the highiest percentage category (3) was (65.7%), and tumor or normal cells category (high) was (97%).

The relationship between the protein and some studied clinical characteristics showed that there was a significant difference in protein ratios for each of the histology of the tumor (P = 0.001) and the status of the lymph nodes (P = 0.003) to the level of a protein on the surface of lymphocytes.

Results of statistical analysis also showed that there were significant differences for some clinical symptomatology of the patient, which included (patient 's age, tumor size) when compared with cancer cases and control at level (0.05), the p-value for the patient's age (p = 0.005) and tumor size (p = 0.022), and the results of antigens studied have shown that there are significant differences between the two study groups at the level of CD_8 as P-value (p = 0.001, p = 0.031) in the stroma and intratumoral. there is a significant difference to the level of a protein CTLA-4 on the surface of lymphocytes between the two study groups (P = 0.040) also did not show a significant difference to the level of a protein on the surface of the tumor or normal cells. The resultes showed there was no significant difference in the level of a protein CD_{80} on the surface of lymphocytes and tumor or normal cells between the two study groups (P = 0.374, P = 0.100) and the results confirmed protein CD_{86} that there is a significant difference in the protein on the surface of lymphocytes (0.001) and did not show a significant difference between the two study groups on the tumor or normal cells.

Analyzed the relationship between the studied proteins, showed strong correlation between the results of CD_8 intratumoral and stroma (p = 0.001) more over that there was a median correlation between stromal CD_8 and CTLA-4 encoded on the surface of lymphocytes (0.004) and between the level of CD_{80} encoded on the surface of tissue and lymphocytes (0.001), it

also appeared that there was aweak correlation between CTLA-4 and CD_{86} encoded on the surface of lymphocytes (0.021) and it appeared also that there was no any correlation between CD_8 cells and antigens CD_{80}, CD_{86} and it appeared also that there was no correlatin with CTLA-4 and CD_{80}.