

مقایسه تراکم ماست سل در تمایز بافت‌شناختی کارسینوم سلول سنگ‌فرشی دهان بر حسب سیستم‌های معتبر درجه‌بندی

دکتر شهرو اعتماد مقدم^۱، دکتر علی غلامحسینی^۲، دکتر اعظم خورشیدیان^۳،
دکتر مژگان علاءالدینی*

چکیده

مقدمه: ماست سل‌ها یکی از اجزای استروما بوده که نقش‌های متفاوتی در روند ایجاد تومور همانند دخالت در پیشرفت، رشد، تمایز و تهاجم تومور ایفا می‌نمایند. درجه‌ی بافت‌شناختی (grading) نشان‌گر تمایز تومور بوده و جهت پیش‌بینی رفتار بالینی انواع تومورها مانند کارسینوم سلول سنگ‌فرشی حفره‌ی دهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف این مطالعه، بررسی میزان و رابطه تراکم این سلول‌ها در درجات مختلف بافت‌شناختی کارسینوم سلول سنگ‌فرشی حفره‌ی دهان بر حسب سه روش معتبر درجه‌بندی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی مقطعی، ۳۹ نمونه بلوک بافت‌شناختی کارسینوم سلول سنگ‌فرشی دهان از بایگانی انستیتو سرطان بر اساس معیارهای ورود و خروج انتخاب شدند. پس از رنگ‌آمیزی لام‌های ضایعات مذکور با روش هماتوکسیلین و ائوزین، درجه‌ی بافت‌شناختی آن‌ها بر اساس سه روش معتبر Broder، Anneroth و Bryne تعیین گردید. تمامی نمونه‌ها با استفاده از تولوئیدین بلو رنگ‌آمیزی شده و تعداد ماست سل‌ها در ۱۰ میدان میکروسکوپی با بزرگ‌نمایی $\times 400$ شمارش گردید. برای آنالیز آماری نتایج از تست ANOVA یک سویه استفاده شد ($\alpha = 0.05$).

یافته‌ها: میانگین و انحراف معیار تراکم ماست سل‌ها در درجات مختلف بافت‌شناختی خوب، متوسط و ضعیف بر حسب سیستم Broder به ترتیب $23/45 \pm 42/07$ ، $20/32 \pm 33$ و $15/81 \pm 24/92$ ؛ سیستم Bryne $27/88 \pm 36/08$ ، $19/85 \pm 34/38$ و $27/00 \pm 6/32$ و سیستم Anneroth $26/35 \pm 33/25$ ، $18/99 \pm 33/50$ و $21/92 \pm 34/46$ به دست آمد. میزان تراکم این سلول‌ها در سه روش درجه‌بندی بافت‌شناختی مورد مطالعه، اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد ($p \text{ value} = 0/11$ و $p \text{ value} = 0/68$ و $p \text{ value} = 0/99$).

نتیجه‌گیری: براساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، ارتباطی بین میزان تراکم ماست سل‌ها در کارسینوم سلول سنگ‌فرشی دهان با درجه بافت‌شناسی تومور در سه روش درجه‌بندی وجود ندارد.

کلید واژه‌ها: کارسینوم سلول سنگ‌فرشی دهان، درجه‌بندی سرطان، ماست سل

* استادیار، مرکز تحقیقات دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
(مؤلف مسؤل)
malaeddini@yahoo.com

۱: استادیار، مرکز تحقیقات دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲: دندان‌پزشک، قزوین، ایران

۳: دندان‌پزشک، مرکز تحقیقات دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

این مقاله در تاریخ ۹۱/۷/۹ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۹۲/۳/۵ اصلاح شده و در تاریخ ۹۲/۵/۱ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان پزشکی اصفهان
۱۳۹۲، ۶(۶): ۵۰۹ تا ۵۱۷

مقدمه

در دهه‌ی گذشته تحقیقات متنوعی تمرکز خود را بر روی استروما و عوامل متعدد آن معطوف داشته‌اند که کارسینوماها نیز از این امر مستثنی نبوده‌اند. سلول‌های اپی‌تلیالی بدخیم که از نظر ژنتیکی تغییر یافته‌اند اجزاء استرومایی میزبان را به گونه‌ایی تحت تأثیر قرار می‌دهند که محیط پشتیبانی‌کننده‌ی مناسبی را برای خود فراهم آورند. تهاجم و متاستاز از عوامل بدخیمی و مسؤول اصلی شکست درمان‌ها می‌باشند. استرومای میزبان در تنظیم دو عامل فوق یعنی تهاجم و متاستاز نقش به‌سزایی داشته که این عمل را از طریق عوامل گوناگون هدایت می‌نماید. این فاکتورها عبارتند از: دسموپلازی، رگ‌زایی (Angiogenesis)، پاسخ ایمنی و التهاب که شامل سلول‌های مختلف از جمله ماست سل‌ها می‌باشد [۱].

ماست سل‌ها سلول‌های التهابی هستند که در تمام بافت‌های انسانی یافت می‌شوند [۲]. این سلول‌ها از پیش‌سازهای pluripotential در مغز استخوان منشأ می‌گیرند، در جریان خون به شکل نابالغ گردش کرده و سرانجام در بافت‌های محیطی تحت تأثیر فاکتورهای رشد سلول بنیادی و سایتوکین‌های مترشح‌ه از ریز محیط، تمایز نهایی خود را حاصل می‌نمایند. ماست سل‌ها در کشتن مستقیم میکروارگانیسم‌ها توسط فاگوسیتوزیس و همچنین تحریک تولید ذرات اکسیژن دخالت دارند [۳].

ماست سل‌ها علاوه بر فاگوسیتوز و پردازش آنتی‌ژن، طیف وسیعی از واسطه‌ها را ترشح نموده و در فرآیندهای پاتولوژیک، ایمنولوژیک و فیزیولوژیک متعددی شرکت می‌نمایند [۴]. مطالعات مختلفی انتشار محیطی این سلول‌ها را در اطراف تعداد بسیاری از تومورهای انسانی تأیید نموده‌اند [۵-۷]. تحقیقات نشان داده‌اند که تجمع ماست سل‌ها در ارتشاح آماسی اطراف تومور بر ایجاد یک ریز محیط مناسب برای کارسینوژنز، انتشار و متاستاز اثرگذار است. نقش واسطه‌های ماست سل‌ها بر رشد و انتشار بدخیمی از راه‌های مختلف هم‌چون سرکوب سیستم ایمنی، افزایش رگ‌زایی، تخریب ماتریکس خارج سلولی و یا افزایش میتوز می‌تواند صورت پذیرد [۶]. ازدیاد حضور این سلول‌ها در نئوپلاسم‌هایی هم‌چون پوست، مری، پروستات و دهان نشان داده شده است [۵-۷].

کارسینوم سلول سنگ‌فرشی Oral squamous cell carcinoma (OSCC) شایع‌ترین سرطان حفره‌ی دهان است و در سراسر دنیا همراه با مرگ و میر فراوان می‌باشد [۸]. جهت فراهم نمودن استانداردهای پیش‌گیری و محافظت از بیماران مبتلا به این بدخیمی، نشان‌گرهای مولکولی بیولوژیک به‌طور وسیع تحت مطالعه قرار گرفته [۹] که در این زمینه ابزار و روش‌های مختلفی از جمله معاینات بالینی و پاراکلینیکی، نمونه‌برداری و بررسی میکروسکوپی، مطالعات فراساختاری و رنگ‌آمیزی‌های هیستوشیمی و ایمونوهیستوشیمی به کار گرفته می‌شود. امروزه هم‌چنان استفاده از روش‌های ساده هیستوشیمی همانند تولویدین بلو و یا بهره جستن از بررسی خصوصیات مورفولوژیک بافتی هم‌چون درجه‌بندی بافت‌شناسی تومور در ارزیابی بدخیمی کمک کننده می‌باشد.

بررسی ریزینی شباهت تومور به بافت مبدأ (اپی‌تلیوم سنگ‌فرشی) و برآورد میزان تولید فرآورده طبیعی آن‌ها (کراتین در کارسینوم سلول سنگ‌فرشی) درجه‌بندی نامیده می‌شود [۱۰]. درجه بافت‌شناختی در چند دهه‌ی اخیر جهت پیش‌بینی رفتار بالینی انواع تومورها از جمله OSCC مورد استفاده قرار گرفته است و نکته‌ی جالب توجه این جاست که ارتباط آن با پیش‌آگهی از صفر تا بسیار بالا گزارش شده است [۱۵-۱۰]، به گونه‌ای که بعضی از محققین درجه‌بندی بافت‌شناختی را به عنوان فاکتور مؤثر بر پیش‌آگهی OSCC پیشنهاد کردند [۱۶]. برای بررسی درجه‌ی بافت‌شناختی OSCC اولین بار Broder سیستمی را پیشنهاد نمود که با گذشت زمان توسط Jacobsson و بعد Anneroth تکمیل شد [۱۱] و در نهایت Bryne توصیه کرد که لبه تهاجم تومور در سیستم تعیین درجه‌بندی تحت ارزیابی قرار گیرد که مورد استقبال فراوان قرار گرفت و برخی از مطالعات ارتباط پیش‌آگهی OSCC را با درجه‌ی بافت‌شناختی سیستم‌های Anneroth و Bryne تأیید نمودند [۲۰-۱۷]. در واقع بیان شده که استفاده از درجه بافت‌شناختی تومور در یک بیوپسی بافتی می‌تواند اطلاعات بیش‌تری در رابطه با فعالیت بیولوژیک تومور در اختیار قرار دهد و در مقایسه با روش‌های درمانی معمول، امکان بالقوه درمان جامع‌تری را فراهم نماید [۱۶].

ارتشاح ماست سل‌ها در OSCC از صور مختلف هم‌چون ارتباط مؤثر آن با رگ‌زایی و ماتریکس متالوپروتئیناز مورد

مواد و روش‌ها

در این مطالعه‌ی مقطعی آزمایشگاهی، از بین ۳۵۰ مورد OSCC بیماران مراجعه کننده به انستیتو سرطان بین سال‌های ۱۳۷۸ تا ۱۳۸۲، بر اساس معیارهای ورود و خروج از مطالعه، تعداد ۳۹ بلوک پارافینه به‌عنوان حجم نمونه مطالعه حاضر تهیه شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل این نکات بود: تومورهای اولیه و فاقد متاستاز دور دست در هنگام تشخیص، بلوک‌های دارای بافت تومورال کافی، نئوپلاسم‌هایی با تأیید تشخیص میکروسکوپی توسط دو نفر پاتولوژیست. از طرف دیگر نمونه بافتی با فیکساسیون نامناسب، مناطق وسیع خون‌ریزی، نکروز و هم‌چنین SCC (Squamous cell carcinoma) های لب (به علت اتیولوژی و پیش‌آگهی متفاوتی که برای آن نسبت به نواحی دیگر دهان ذکر می‌شود) و نمونه‌های جراحی incisional از مطالعه خارج شدند. درجه‌بندی بافت‌شناختی نئوپلاسم‌ها بر اساس معیارهای طبقه‌بندی Broder [۲۵]، Anneroth و Bryne [۱۱، ۱۳] (جدول ۱ و ۲) توسط دو نفر پاتولوژیست به‌طور مجزا ارزیابی شد. اختلاف‌نظرهای احتمالی نیز با به‌کارگیری میکروسکوپ چند چشمی بررسی گشته و در صورت عدم توافق، نمونه از مطالعه حذف شد.

بررسی قرار گرفته است [۲۱، ۹]. نتایج مطالعه‌ی رگ‌زایی نشان داد که تراکم ماست سل‌ها و عروق خونی ریز با پیشرفت درجه‌ی بالینی بیماری بالاتر می‌رود [۹]. نتایج مطالعه‌ی دیگری نیز حکایت از این مسأله داشت که شمار ماست سل‌ها و عروق ریز به‌طور قابل توجهی در OSCC بیش‌تر از مخاط نرمال می‌باشد [۲۲]. براساس مرور منابع در دسترس، تاکنون مطالعه‌ی جامعی در خصوص ارزیابی حضور ماست سل‌ها و ارتباط آن با درجه‌ی بافت‌شناختی تومور بنا بر سیستم‌های مختلف درجه‌بندی بافت‌شناختی صورت نپذیرفته است. در مطالعات صورت گرفته بر روی OSCC و ماست سل یا درجه بافت‌شناختی بررسی نشده [۲۲، ۹] یا تنها از یک سیستم استفاده شده است که در اکثر آن‌ها نیز سیستم مورد استفاده ذکر نشده است [۲۳، ۲۴]. به‌نظر می‌رسد سیستم‌های جدیدتر در زمینه‌ی درجه‌بندی مورد استفاده قرار نگرفته است. با توجه به نقش‌های متفاوت ماست سل‌ها در روند تومورژنیزس و تمایز نئوپلاسمی، هم‌چنین اهمیت درجه‌ی بافت‌شناختی بدخیمی جهت پیش‌بینی رفتار بالینی آن، هدف این مطالعه، مقایسه میزان ارتشاح ماست سل‌ها در OSCC و تعیین ارتباط آن با درجه بافت‌شناختی تومور در سه روش معتبر درجه‌بندی بود.

جدول ۱. معیارهای عنوان شده در سیستم Anneroth

درجه بافت‌شناختی بدخیمی در جمعیت سلول‌های تومورال				
طرح مورفولوژیک	۱	۲	۳	۴
درجه کراتینیزاسیون	کراتینیزاسیون بالا بیش از ۵۰ درصد سلول‌ها	کراتینیزاسیون متوسط بین ۲۰ - ۵۰ درصد سلول‌ها	کراتینیزاسیون کم بین ۲۰ - ۵۰ درصد سلول‌ها	بدون کراتینیزاسیون بین ۵ - ۰ درصد سلول‌ها
پلی‌مورفیسم هسته	پلی‌مورفیسم کم هسته بیش‌تر از ۷۵٪ سلول‌های بالغ	پلی‌مورفیسم متوسط هسته بین ۷۵ - ۵۰ درصد سلول‌ها	پلی‌مورفیسم زیاد هسته بین ۵۰ - ۲۵ درصد سلول‌های بالغ	پلی‌مورفیسم بسیار زیاد هسته بین ۲۵ - ۰ درصد سلول‌های بالغ
تعداد میتوز / HPF	۰ - ۱	۲ - ۳	۴ - ۵	بیش‌تر از ۵

درجه بافت‌شناختی بدخیمی مرتبط با بدخیمی - میزان

طرح مورفولوژیک	۱	۲	۳	۴
طرح تهاجم	حاشیه Pushing, infiltrating با حدود مشخص	Infiltrating به صورت توپر، طناب، رشته	به صورت گروه‌های کوچک، یا طناب‌های سلولی بیش‌تر از ۱۵ عدد	به صورت مشخص و گسترده انتشار سلول‌ها در گروه‌های کوچک سلولی کم‌تر از ۱۵ عدد و یا تک سلولی
میزان تهاجم (عمق)	کارسینوم درجا یا موارد مشکوک به تهاجم	تهاجم واضح اما در حد درگیری لامینا پروپریا	تهاجم به زیر لامینا پروپریا نزدیک به عضله، غدد بزاقی و پریوست	تهاجم گسترده و عمیق تومور جایگزین بیش‌تر بافت استروما شده و نفوذ به استخوان فک
ارتشاح لنفوپلاسموسیتیک	مشخص و زیاد	متوسط	کم	بدون آماس

HPF: High Power Field

جدول ۲. معیارهای عنوان شده در سیستم Bryne

درجه بافت شناختی بدخیمی در جمعیت سلول‌های تومورال				
طرح مورفولوژیک	۱	۲	۳	۴
درجه کراتینیزاسیون	کراتینیزاسیون بالا	کراتینیزاسیون متوسط	کراتینیزاسیون کم	بدون کراتینیزاسیون
پلی مورفیسم هسته	پلی مورفیسم کم هسته	پلی مورفیسم متوسط هسته	پلی مورفیسم زیاد هسته	پلی مورفیسم بسیار زیاد هسته
تعداد میتوز / HPF	۰ - ۱	۲ - ۳	۴ - ۵	بیشتر از ۵
طرح تهاجم	کارسینوم درجا یا موارد مشکوک به تهاجم	تهاجم واضح اما در حد درگیری لامینا پروپریا	تهاجم به زیر لامینا پروپریا نزدیک به عضله، غدد بزاقی و پروست	تهاجم گسترده و عمیق تومور جایگزین بیش تر بافت استروما شده و نفوذ به استخوان فک
واکنش میزبان	مشخص و زیاد	متوسط	کم	بدون آماس

HPF: High Power Field

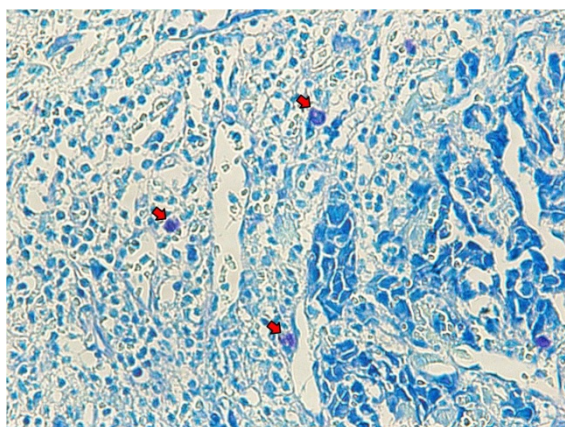
۴۰ دقیقه با تولوئیدین بلو رنگ آمیزی شد. جهت تهیه محلول رنگ نیز از ۰/۵ گرم پودر تولوئیدین بلو (Merck, Germany) در ۱۰۰ میلی لیتر محلول HCl نیم نرمال (pH = ۰/۵) استفاده گردید.

برای کنترل مثبت مطالعه از نمونه‌ی ماستوسیتوز و جهت کنترل منفی هم از اپی تلیوم طبیعی موجود در ضایعات استفاده گردید. اسلایدهای حاصله دارای زمینه‌ی آبی رنگ بودند ولی برخی سلول‌ها (ماست سل‌ها) به رنگ ارغوانی- بنفش دیده شدند (متاکرومازی). این سلول‌ها معمولاً بزرگ و تخم مرغی شکل و دارای گرانول‌هایی به رنگ بنفش به صورت منتشر در سیتوپلاسم بودند. آن‌گاه در هر نمونه به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری مناطقی که بیشترین تعداد سلول‌های رنگ گرفته را نشان می‌دادند (Hot Spot) انتخاب کرده و تعداد سلول‌های رنگ پذیرفته (متاکروماتیک) در ۱۰ HPF مستقل (فاقد هم‌پوشانی) شمارش گردیدند. شمارش سلول‌های مثبت به وسیله‌ی دو نفر توسط میکروسکوپ چند چشمی (BX51, Olympus, Japan) انجام شد و به منظور کاهش میزان خطای شمارش، هر مقطع دو بار مورد شمارش قرار گرفت و میانگین حاصل از دو بار شمارش به عنوان نتیجه منظور گردید. هم‌چنین مواردی که دانه‌های متاکروماتیک به صورت رها شده در نسج و غیر متمرکز در اطراف هسته‌ی یک سلول بودند، در شمارش به حساب نیامدند.

ضایعات براساس طبقه‌بندی Broder [۲۵] به سه گروه تقسیم شدند: ضایعات well-differentiated متشکل از سلول‌های تومورال نسبتاً بالغ با میزان بسیار کم پلی مورفیسم هسته‌ای به همراه حضور مرواریدهای کراتین/ سلول‌های کراتین منفرد بودند. در ضایعات moderately-differentiated حضور سلول‌های تومورال با دامنه‌ی مختلفی از تمایز سلولی و تا حدی کراتینیزاسیون، هم‌چنین پلی مورفیسم هسته‌ای شایع مشاهده شد. Poorly-differentiated حاکی از حضور سلول‌های تومورال تمایز نیافته بدون تمایل به کراتین‌سازی همراه با پلی مورفیسم هسته‌ای زیاد بود.

بر اساس امتیاز به دست آمده از معیارهای مورد بررسی در طبقه‌بندی Bryne [۱۳] نیز ضایعات به سه گروه تقسیم شدند، به این ترتیب که امتیاز ۱۰-۵ گروه یک (درجه بافت شناختی low) و ۱۵-۱۱ گروه دو (درجه بافت شناختی intermediate) و امتیاز ۲۰-۱۶ گروه سه (درجه بافت شناختی high) را تشکیل می‌داد. در رابطه با سیستم Anneroth به چهار گروه تقسیم شدند که امتیازدهی آن مشابه Bryne بوده و گروه چهارم شامل امتیاز بیش تر از بیست می‌شد.

از بلوک‌های پارافینی برش‌هایی به ضخامت ۴ میکرون تهیه شد. برای رنگ آمیزی تولوئیدین بلو مقاطع به مدت یک ساعت در حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس در گزیلن پارافین‌زدایی گردیدند. مقاطع مذکور در سری نزولی از اتانول، در نهایت آب مقطر قرار گرفت و بعد از آن به مدت



شکل ۲. نمای بافت‌شناختی (رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو)، تراکم کم ماست سل در سرطان سلول سنگ‌فرشی دهان، میکروسکوپ نوری بزرگ‌نمایی $\times 400$

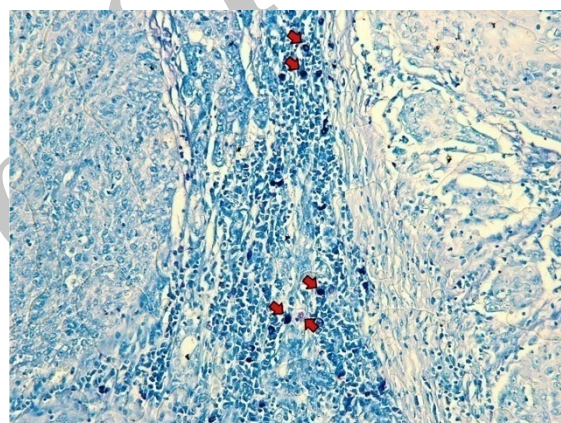
برای مقایسه میزان تراکم ماست سل‌ها در درجات مختلف بافت‌شناختی کارسینوم سلول سنگ‌فرشی دهان در هر سه سیستم مورد بحث، از روش آماری ANOVA یک سویه استفاده شد و مشخص گردید که هیچ‌گونه تفاوت آماری معناداری در مورد میزان تراکم ماست سل‌ها در درجه‌های مختلف SCC دهان وجود ندارد. (جدول ۳)

کم‌ترین میزان تراکم ماست سل‌ها در سیستم Broder مقدار عددی ۷ در درجه III و بیش‌ترین میزان آن با مقدار عددی ۹۰ در درجه I بود، درحالی‌که در دو سیستم دیگر کم‌ترین میزان در درجه II مشاهده شد.

جهت آنالیز نتایج به دست آمده از روش آماری ANOVA یک سویه استفاده گردید و $p \text{ value} < 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در تحقیق حاضر، تعداد ۳۹ نمونه کارسینوم سلول سنگ‌فرشی دهان تحت بررسی قرار گرفت و بنا بر سیستم درجه‌بندی Broder، Anneroth و Bryne در گروه ۱ و ۲ و ۳ (low، intermediate و high) قرار گرفتند (جدول ۳) در تمام نمونه‌ها ارتشاح ماست سل مشاهده شد. (شکل ۱ و ۲) متوسط میزان تراکم ماست سل‌ها با استفاده از سیستم Broder، Anneroth و Bryne در جدول ۳ ذکر شده است.



شکل ۱. نمای بافت‌شناختی (رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو)، تراکم بالای ماست سل در سرطان سلول سنگ‌فرشی دهان، میکروسکوپ نوری بزرگ‌نمایی $\times 200$

جدول ۳. مقایسه درجات مختلف بافت‌شناختی کارسینوم سلول سنگ‌فرشی دهان بر اساس میزان تراکم ماست سل در آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه

P value	تراکم ماست سل (میانگین \pm انحراف معیار)	تعداد	درجه بافت‌شناختی	سیستم درجه‌بندی
۰/۱۱۳	۴۲/۰۷ \pm ۲۳/۴۵	۱۴	low	Broder
	۳۳ \pm ۲۰/۳۲	۱۳	intermediate	
	۲۴/۹۲ \pm ۱۵/۸۱	۱۲	high	
۰/۶۸۶	۳۶/۰۸ \pm ۲۷/۸۸	۱۲	low	Bryne
	۳۴/۳۸ \pm ۱۹/۸۵	۲۱	intermediate	
	۲۷/۰۰ \pm ۶/۳۲	۶	high	
۰/۹۹۰	۳۳/۲۵ \pm ۲۶/۳۵	۸	low	Anneroth
	۳۳/۵۰ \pm ۱۸/۹۹	۱۸	intermediate	
	۳۴/۴۶ \pm ۲۱/۹۲	۱۳	high	

بحث

شیوع بالای SCC در حفره دهان نسبت به دیگر بدخیمی‌ها، باعث می‌شود تا محققین به تعیین رفتار بیولوژیک، تشخیص به موقع، درجه‌ی تمایز و ... این ضایعه اهمیت ویژه‌ای دهند و به‌همین دلیل تحقیقات متنوع و متعددی در این زمینه صورت گرفته که عوامل ساختاری و فراساختاری OSCC در آن بررسی شده است. با توجه به قابلیت‌های مختلفی که ماست سل‌ها دارند و نقش‌های متنوعی که ایفا می‌کنند، زمینه‌ساز مطالعات متعددی بوده‌اند، [۷-۵] در این تحقیق نیز از بین عوامل مختلف استروما، ماست سل‌ها جهت ارزیابی انتخاب شدند.

یکی از خصوصیات قابل توجه این سلول‌ها حضور گرانول‌های متشکل از هیپارین و هیستامین می‌باشد که متاکروماتیک هستند. متاکروماتی عبارت است از رنگ‌پذیری عوامل بافتی، به رنگی متفاوت از رنگ اصلی استفاده شده، که در برخی رنگ‌های آنیلینی مثل تولوئیدین بلو دیده می‌شود [۴] در مطالعه‌ی حاضر نیز از این رنگ‌آمیزی استفاده شد.

در مطالعه‌ی حاضر، ارتشاح ماست سل‌ها و ارتباط آن‌ها با درجه بافت‌شناختی OSCC بررسی شد که این کار با استفاده از روش‌های مختلف درجه‌بندی صورت پذیرفت. بر اساس نتایج این تحقیق هیچ ارتباط آماری معنی‌داری بین حضور سلول‌های ماست سل در تومور و درجه‌های بافت‌شناختی سیستم‌های Broder، Bryne یا Anneroth مشاهده نشد. این عدم اختلاف حضور ماست سل در درجه‌های بافت‌شناختی در تعدادی از کارسینوماهای مناطق دیگر همچون مری، کبد و مثانه نیز گزارش گردیده است، [۲۷، ۲۶، ۷] درحالی‌که سرطان‌های کولورکتال و پروستات اختلاف آماری معنی‌داری را از این منظر نشان دادند [۲۸، ۵].

درجه بافت‌شناسی یک تومور تاحدی با رفتار بیولوژیک آن رابطه دارد. به‌عبارت دیگر توموری که به بافت والد خود شباهت زیادی دارد به‌نظر می‌رسد که رشد آهسته‌تر و آرام‌تری دارد و دیرتر متاستاز می‌دهد، در عوض توموری که درجه بالاتری دارد، دارای تمایز بافتی کم‌تری بوده و اغلب به سرعت رشد کرده و سریع‌تر متاستاز می‌دهد [۱۳، ۱۰].

Anneroth و همکاران [۱۱] طی مطالعه‌ای عنوان کردند که الگوی بافت‌شناسی تومورها اغلب با رفتار متاستاتیک سلول‌های تومورال رابطه دارد. از این رو، احتمال این‌که سلول‌های با تمایز کم، دچار متاستاز شوند در مقابل سلول‌های با تمایز بالا بیش‌تر است. هم‌چنین نشان داده شده که سلول‌هایی که در عمق مهاجم تومور قرار دارند، در مقایسه با سلول‌های موجود در نواحی غیر مهاجم، شباهت بیشتری به سلول‌های مناطق متاستاتیک دارند، بنابراین در مطالعات جدیدتر غالباً این بخش‌ها تحت بررسی قرار می‌گیرند [۱۴-۱۲]. در این مطالعه سه سیستم معتبر درجه‌بندی مورد استفاده قرار گرفت تا دقت بیش‌تری در زمینه بررسی درجه بافت‌شناختی صورت پذیرد. در مطالعه محتشم و همکاران [۲۳] ارتشاح ماست سل در OSCC با درجه کم و زیاد تمایز ارزیابی شد که آنان نیز اختلاف آماری معنی‌داری در این زمینه مشاهده نکردند. اما متأسفانه روش درجه‌بندی در این تحقیق ذکر نشده بود. مطالعه‌ی دیگری نیز بر روی OSCC و ماست سل و رگزایی صورت گرفته که در آن نیز ارتباط درجه بافت‌شناختی و میزان ارتشاح ماست سل‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند، سیستم درجه‌بندی در آن مطالعه نیز ذکر نشده بود ولی برخلاف مطالعه‌ی حاضر اختلاف آماری معنی‌داری بین تراکم ماست سل و درجه بافت‌شناختی مشاهده شد [۲۴]، در تحقیق حاضر این نکته را نیز باید مورد توجه قرار داد که شاید با بالا رفتن حجم نمونه در گروه‌ها بتوان رابطه‌ی معنی‌داری میان تراکم ماست سل و درجه بافت‌شناختی مشاهده نمود.

Iamaroon و همکاران [۹] در تحقیقی که روی نمونه‌های SCC دهان، دیسپلازی، هایپرکراتوزیس و مخاط نرمال دهان انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که تراکم ماست سل‌ها در این نمونه‌ها تفاوت معناداری با هم دارند به‌طوری‌که از مخاط نرمال تا SCC روند صعودی به‌خود می‌گیرد. Rojas و همکاران [۲۹] نیز اختلاف معناداری را در میزان تراکم ماست سل‌ها بین SCC لب و مخاط نرمال آن گزارش کردند. در مقابل نتایج مطالعه‌ی حاضر، عدم اختلاف ارتشاح ماست سل‌ها را در درجات مختلف تمایز OSCC نشان داد. بر اساس مطالعات فوق می‌توان پیشنهاد کرد که احتمالاً ماست سل‌ها نقش اصلی خود را در مراحل اولیه ایجاد تغییرات

در زمینه‌ی پیش‌آگهی تومور و تراکم ماست سل در OSCC نیاز به بررسی عوامل دیگر مانند مرحله و میزان بقا و ... می‌باشد. بر اساس نتایج مطالعه‌ی حاضر احتمالاً ماست سل‌ها نقش اصلی خود را در مراحل اولیه روند ایجاد کارسینوم سلول سنگ‌فرشی دهان اعمال می‌نمایند و پس از تهاجم و ایجاد بدخیمی، نقش آن‌ها به نظر در پیشرفت تومور کم‌رنگ‌تر می‌شود.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج مطالعه‌ی حاضر، ارتباطی بین میزان تراکم ماست سل‌ها در کارسینوم سلول سنگ‌فرشی دهان با درجه بافت‌شناسی تومور در سه روش درجه‌بندی وجود ندارد.

سرطانی ایفا می‌نمایند یا به عبارت دیگر در روند ایجاد تومور (تومورژنز) نقش بسیار مهم‌تری را نسبت به روند پیشروی تومور و یا بدخیم‌تر شدن بافت‌شناسی (grading) در OSCC اعمال می‌کنند.

تحقیقات هم‌چنین نشان داده‌اند که نه تنها تعداد، بلکه فنوتیپ ماست سل‌ها هم در اطراف تومور تغییر می‌کند [۳۰] این سلول‌های انسانی بر اساس محتوای پروتئازی به دو دسته فنوتیپ حاوی تریپتاز و دارای تریپتاز و کیماز تقسیم می‌شوند [۴]. که در بدخیمی‌ها یا ضایعات پیش بدخیمی ممکن است هر یک از این انواع ماست سل‌ها افزایش یابد، [۳۱، ۲۹] در صورتی که به تفکیک با روش‌های حساس‌تر این دو گروه در تحقیق حاضر بررسی می‌شد، شاید نتایج تغییر می‌یافت. گرچه برخی از مطالعات رابطه‌ی بین درجه بافت‌شناختی و پیش‌آگهی OSCC را تأیید نمودند [۲۰-۱۷]، برای اظهار نظر

References

1. De Wever O, Mareel M. Role of tissue stroma in cancer cell invasion. *J Pathol* 2003; 200(4): 429-47.
2. Ching TL, Hee RM, Bhoelan NM, Blauw J, Menge WM, de Jong J, et al. Histamine as a marker for hydroxyl radicals. *Mediators Inflamm* 1995; 4(5): 339-43.
3. Urb M, Sheppard DC. The role of mast cells in the defence against pathogens. *PLoS Pathog* 2012; 8(4): e1002619.
4. Metcalfe DD, Baram D, Mekori YA. Mast cells. *Physiol Rev* 1997; 77(4): 1033-79.
5. Sari A, Serel TA, Candir O, Oztürk A, Kosar A. Mast cell variations in tumour tissue and with histopathological grading in specimens of prostatic adenocarcinoma. *BJU Int* 1999; 84(7): 851-3.
6. Ch'ng S, Wallis RA, Yuan L, Davis PF, Tan ST. Mast cells and cutaneous malignancies. *Mod Pathol* 2006; 19(1): 149-59.
7. Elpek GO, Gelen T, Aksoy NH, Erdoğan A, Dertsiz L, Demircan A, et al. The prognostic relevance of angiogenesis and mast cells in squamous cell carcinoma of the oesophagus. *J Clin Pathol* 2001; 54(12): 940-4.
8. Etemad-Moghadam S, Khalili M, Tirgary F, Alaeddini M. Evaluation of myofibroblasts in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2009; 38(8): 639-43.
9. Iamaroon A, Pongsiriwet S, Jittidecharaks S, Pattanaporn K, Prapayatatok S, Wanachantararak S. Increase of mast cells and tumor angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2003; 32(4): 195-9.
10. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Oral & Maxillofacial pathology*. 3rd ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2008. p. 419-420.
11. Anneroth G, Batsakis J, Luna M. Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. *Scand J Dent Res* 1987; 95(3): 229-49.
12. Bryne M, Koppang HS, Lilleng R, Kjaerheim A. Malignancy grading of the deep invasive margins of oral squamous cell carcinomas has high prognostic value. *J Pathol* 1992; 166(4): 375-81.
13. Bryne M, Koppang HS, Lilleng R, Stene T, Bang G, Dabelsteen E. New malignancy grading is a better prognostic indicator than Broders' grading in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med* 1989; 18(8): 432-7.
14. Bryne M, Nielsen K, Koppang HS, Dabelsteen E. Reproducibility of two malignancy grading systems with reportedly prognostic value for oral cancer patients. *J Oral Pathol Med* 1991; 20(8): 369-72.
15. Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan RCK. *Oral pathology: clinical pathologic correlations*, 6th ed. St. Louis: Saunders; 2011. p. 51-71.
16. Kademani D, Bell RB, Bagheri S, Holmgren E, Dierks E, Potter B, et al. Prognostic factors in intraoral squamous cell carcinoma: the influence of histologic grade. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63(11): 1599-605.
17. Högmö A, Kuylenstierna R, Lindholm J, Munck-Wikland E. Predictive value of malignancy grading systems, DNA content, p53, and angiogenesis for stage I tongue carcinomas. *J Clin Pathol* 1999; 52(1): 35-40.

18. Odell EW, Jani P, Sherriff M, Ahluwalia SM, Hibbert J, Levison DA, et al. The prognostic value of individual histologic grading parameters in small lingual squamous cell carcinomas. The importance of the pattern of invasion. *Cancer* 1994; 74(3): 789-94.
19. Welkoborsky HJ, Hinni M, Dienes HP, Mann WJ. Predicting recurrence and survival in patients with laryngeal cancer by means of DNA cytometry, tumor front grading, and proliferation markers. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995; 104(7): 503-10.
20. Bryne M, Jenssen N, Boysen M. Histological grading in the deep invasive front of T1 and T2 glottic squamous cell carcinomas has high prognostic value. *Virchows Arch* 1995; 427(3): 277-81.
21. Souza Freitas V, de Andrade Santos PP, de Almeida Freitas R, Pereira Pinto L, de Souza LB. Mast cells and matrix metalloproteinase 9 expression in actinic cheilitis and lip squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011; 112(3): 342-8.
22. Jahanshahi G, Sabaghian M. Comparative immunohistochemical analysis of angiogenesis and mast cell density in oral normal mucosa and squamous cell carcinoma. *Dent Res J* 2012; 9(1): 8-12.
23. Mohtasham N, Babakoochi S, Salehinejad J, Montaser-Kouhsari L, Shakeri MT, Shojaee S, et al. Mast cell density and angiogenesis in oral dysplastic epithelium and low- and high-grade oral squamous cell carcinoma. *Acta Odontol Scand* 2010; 68(5): 300-4.
24. Kalra M, Rao N, Nanda K, Rehman F, Girish KL, Tippu S, et al. The role of mast cells on angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2012 ; 17(2): e190-6.
25. Broders A. The microscopic grading of cancer. *Surg Clin North Am* 1941; 21: 947-62.
26. Grizzi F, Franceschini B, Chiriva-Internati M, Liu Y, Hermonat PL, Dioguardi N. Mast cells and human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9(7): 1469-73.
27. Serel TA, Soyupek S, Candir O. Association between mast cells and bladder carcinoma. *Urol Int* 2004; 72(4): 299-302.
28. Tawevisit M. The association of stromal mast cell response and tumor cell differentiation in colorectal cancer. *J Med Assoc Thai* 2006; 89 Suppl 3: S69-73.
29. Rojas IG, Spencer ML, Martínez A, Maurelia MA, Rudolph MI. Characterization of mast cell subpopulations in lip cancer. *J Oral Pathol Med* 2005; 34(5): 268-73.
30. Coussens LM, Raymond WW, Bergers G, Laig-Webster M, Behrendtsen O, Werb Z, et al. Inflammatory mast cells up-regulate angiogenesis during squamous epithelial carcinogenesis. *Genes Dev* 1999; 13(11): 1382-97.
31. Cabanillas-Saez A, Schalper JA, Nicovani SM, Rudolph MI. Characterization of mast cells according to their content of tryptase and chymase in normal and neoplastic human uterine cervix. *Int J Gynecol Cancer* 2002; 12(1): 92-8.

Archives of SID

Comparison of mast cell density in histologic differentiation of oral squamous cell carcinoma based on three different valid grading systems

Shahroo Etemad-Moghadam, Ali Gholamhosseini, Azam Khorshidian,
Mojgan Alaeddini*

Abstract

Introduction: Mast cells are important stromal elements, with different roles in tumorigenesis, including their effect on tumor growth, progression, differentiation and invasion. Histologic grading shows tumor differentiation and is used to predict the invasive behavior of various tumors, including oral squamous cell carcinoma (OSCC). The aim of the present study was to evaluate and mast cell density (MCD) and its relationship with different grades of OSCC based on three different valid grading systems.

Materials and methods: In this experimental study, 42 histologic block samples of OSCC were retrieved from the archives of Cancer Institute, Tehran University of Medical Sciences, based on inclusion and exclusion criteria. After hematoxylin and eosin staining of the sections, they were graded according to the methods described by Broder, Anneroth and Bryne. All the samples were subjected to toluidine-blue staining and MCD was determined in 10 fields at $\times 40$. The results were analyzed using one-way ANOVA ($\alpha=0.05$).

Results: Means \pm standard deviations of MCD in low-, intermediate- and high-grade tumors were 42.07 ± 23.45 , 33 ± 20.32 and 24.92 ± 15.81 according to Broder; 36.08 ± 27.88 , 34.38 ± 19.85 and 27 ± 6.32 based on Bryne and 33.25 ± 26.35 , 33.50 ± 18.99 and 34.46 ± 21.92 using the Anneroth system, respectively. There were no significant differences in MCD between different OSCC grades in any of the three grading systems (p value = 0.11, p value = 0.68, p value = 0.99).

Conclusion: Based on the results of the present study, there is no relationship between MCD in OSCC and the tumor grade in the three grading systems evaluated in this study.

Key words: Mast cell, Neoplasm grading, Squamous cell carcinoma

Received: 30 Sep, 2012 **Accepted:** 23 Jul, 2013

Address: Assistant Professor, Dental Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Email: malaeddini@yahoo.com

Citation: Etemad-Moghadam Sh, Gholamhosseini A, Khorshidian A, Alaeddini M. Comparison of mast cell density in histologic differentiation of oral squamous cell carcinoma based on three different valid grading systems J Isfahan Dent Sch 2014; 9(6): 509-17.