Archive of SID

پژوهنده مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
سال ۱۰، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۳۸۴، صفحات ۱۴۵ تا ۱۵۱

تاریخ دریافت مقاله:۱۳۸۳/۳/۲۴
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۴/۵/۵

مقایسه فراوانی نشانگرهای میواپی تلیالی در تومورهای پلئومرفیک و موکواپی درموئید کارسینومای غدد بزاقی

دکتر پرویز دیهیمی[1*] ، دکتر پروین ممزونی[2]، دکتر نکیسا ترابی نیا[3]

چکیده

سابقه و هدف: *امروزه بکارگیری ایمونوهیستوشیمی به یک ابزار مکمل برای تشخیص نئوپلاسم‌ها در کنار رنگ‌آمیزی‌های H&E تبدیل شده است. در نئوپلاسم‌های غدد بزاقی هنوز آنتی‌ژن‌های اختصاصی شناسایی نشده و تعدادی از ایمونومارکرهای کمتر اختصاصی در تشخیص و طبقه‌بندی این نئوپلاسم‌ها به کار می‌رود که به خصوص در مورد نقش سلول‌های میواپی‌تلیال کمک‌کننده است. هدف از این مطالعه بررسی ایمونوهیستوشیمی مارکرهای سلول‌های میواپی تلیال (GFAP)، اکتین، ویمنتین و S100 در پلئومورفیک آدنوما و موکواپی درموئید کارسینومای غدد بزاقی جهت تشخیص افتراقی این تومورها و تعیین هیستوژنز آنهاست.*

مواد و روش‌ها: *این مطالعه توصیفی بر روی ۲۵ نمونه پلئومورفیک آدنوما و ۲۵ نمونه موکواپی درموئید کارسینومای غدد بزاقی که با فرمالین فیکس و در پارافین غوطه‌ور شده بودند، انجام شد. برای بررسی حضور پروتئین‌های GFAP، muscle-Specific - Actin، ویمنتین و S100 از روش استاندارد بیوتین ـ استرتپاویدین و Antigen Retrival و رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی استفاده شد. واکنش ایمنی در سلول‌های میواپی‌تلیال و ناحیهٔ کندرومیگزوئیدی پلئومورفیک آدنوما و سلول‌های موکوسی، سلول‌های اپی‌درموئیدی و حد واسط موکواپی درموئید کارسینوما ارزیابی و سپس با کمک روش Regezi واکنش ایمنی نمونه‌ها درجه‌بندی (Scoring) شد. اطلاعات به دست آمده با به کارگیری آزمون آماری Chi-Square و با سطح معنی‌دار $p<۰/۰۵$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.*

یافته‌ها: *در هر ۲۵ نمونه پلئومورفیک آدنوماها تمام سلول‌های غیرلومینال و ناحیهٔ کندر و میگزوئیدی برای GFAP و ویمنتین، واکنش +٤ نشان دادند در حالی که در مورد اکتین، واکنش ها از صفر تا +۳ متغیر بود. (۱۲ مورد منفی، ۱۲ مورد +۱، ۱ مورد +۳). برای S100 واکنش‌ها از +۱ تا + ٤ بود (۳ مورد +۱، ۳ مورد +۲، ۱۸ مورد +۳ و ۱ مورد +٤). اما در هر ۲۵ مورد موکواپی‌درموئیدکارسینوماها سلول‌های تومورال بدون توجه به درجه هیستوپاتولوژی برای تمام مارکرهای ذکر شده منفی گزارش شد و تنها استرومای همبندی با آنتی بادی‌های GFAP و ویمنتین رنگ گرفتند و مقایسه فراوانی این پروتئین‌ها در دو تومور از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۰۱$). در مورد هر دو تومور واکنش ایمنی در غدد بزاقی فرعی و غدد بزاقی اصلی تفاوتی نشان نداد.*

نتیجه‌گیری: *حضور مارکرهای سلولهای میواپی‌تلیال در پلئومورفیک‌آدنوما، تأکیدی بر حضور و نقش سلولهای میواپی‌تلیال در هیستوژنز این تومور می‌باشد و عدم تظاهر یا تظاهر حداقل این آنتی‌ژنها در موکواپی درموئید کارسینوما نشان دهنده عدم تمایز سلولهای میواپی‌تلیال در هیستوژنز این تومور است و در حقیقت بررسی مارکرهای سلولهای میواپی‌تلیال می‌تواند در تشخیص افتراقی تومورهای غدد بزاقی با تمایز سلولهای میواپی‌تلیال مؤثر باشد.*

واژگان کلیدی: ***موکواپی‌درموئیدکارسینوما، پلئومورفیک‌آدنوما، GFAP، muscle-specific actin، ویمنتین، S100، ایمونوهیستوشیمی***

[1*] نویسنده مسؤول: استادیار، گروه پاتولوژی دهان و فک و صورت دانشکدهٔ دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، آدرس برای مکاتبه: اصفهان ـ خیابان هزار جریب ـ دانشکدهٔ دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان . کد پستی: ۸۱۷٤٦-۷۳٤٦۱
E-mail: deihimy@dnt.mui.ac.ir

[2] استادیار، گروه پاتولوژی دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

[3] متخصص پاتولوژی دهان و فک و صورت

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

امروزه استفاده از روش‌های ایمونوهیستوشیمی برای تشخیص دقیق‌تر هیستوپاتولوژیک نئوپلاسم‌ها و تعیین هیستوژنز و پاتوژنز ایجاد نئوپلاسم‌ها و حتی پیش‌آگهی آنها، اهمیت بسزایی دارد. همچنین از این روش جهت تشخیص‌های افتراقی تومورهای غدد بزاقی نیز استفاده می‌شود اما تاکنون آنتی‌ژن‌های اختصاصی برای نئوپلاسم‌های غدد بزاقی پیدا نشده است و معمولاً پانل‌هایی از ایمونومارکرهای کمتر اختصاصی برای این منظور استفاده می‌گردد (۱). از آنجایی که سلولهای نئوپلاستیک آنتی‌ژنهایی را نمایان می‌سازند که بر روی معادل نرمال این سلولها پیدا می‌شود، بنابراین اطلاع از فنوتیپ سلولهای غدد بزاقی و به ویژه سلولهای میواپی‌تلیال می‌تواند در مورد تعیین سطح شرکت و تمایز این سلولها در نئوپلاسم‌های غدد بزاقی کمک‌کننده باشد (۲). تومور پلئومورفیک آدنومای غدد بزاقی به عنوان شایع‌ترین تومور خوش‌خیم غدد بزاقی و موکواپی‌درموئیدکارسینوما به عنوان شایع‌ترین تومور بدخیم غدد بزاقی هدف مطالعه بسیاری از محققین بوده است و بخصوص در مورد نقش سلولهای میواپی‌تلیال در این دو تومور تحقیقات زیادی صورت گرفته است. در مطالعات انجام شده بر روی غدد بزاقی نرمال و تومورهای غدد بزاقی مشخص شده است که سلولهای میواپی‌تلیال نقش مهمی در هسیتوژنز پلئومورفیک آدنوما ایفا می‌کنند(۳،٤). در برخی مطالعات پیشنهاد می‌شود که سلولهای میواپی‌تلیال ممکن است نقش مشخصی در ایجاد موکواپی‌درموئیدکارسینوما داشته باشد (۱،۵). با این حال هنوز سؤوالات زیادی بدون پاسخ مانده است.

تحقیقات زیادی در مورد حضور مارکرهای S100، اکتین، ویمنتین و GFAP در پلئومورفیک آدنوما و موکواپی درموئید کارسینوما صورت گرفته است. در مطالعات Kahn و Baumal در سال ۱۹۸۵ مشاهده شد که سلولهای میواپی‌تلیال در غددبزاقی‌نرمال با آنتی‌بادیهای CK، S100، اکتین و ویمنتین رنگ‌گرفته و سلولهای میواپی‌تلیال تغییر یافته در پلئومورفیک‌آدنوما نیز با تمام آنتی‌بادیهای ذکر شده رنگ‌آمیزی مثبت شدند(٦) همچنین در تحقیقات انجام شده توسط Nakazato و Ishida (۱۹۸۵)، Regezi وZarbo در سال ۱۹۸٦، Campbell وCrocker در سال ۱۹۸۸، Huang در سال ۲۰۰۰ و نیز White و Curran در سال ۲۰۰۱، حضور و توزیع پروتئین S100 و GFAP در غدد بزاقی نرمال و نئوپلاستیک بررسی شد و آنها در نتایج خود نشان دادند که S100 و GFAP در هسته و سیتوپلاسم نواحی سلولار و ناحیه کندرومیگزوئید پلئومورفیک آدنوما حضور دارند (۱۱ـ۷). در سال ۱۹۹۰، VC Araujo و NS Araujo پیشنهاد دادند که ویمنتین یکی از نشانگرهای اولیه برای تمایز نئوپلاستیک سلولهای میواپی‌تلیال می‌باشد (۱۲) و همچنین VC Araujo و Carvalho در سال ۱۹۹٤ و Takai, Dardic در سال ۱۹۹۵ در طی مطالعه‌ای بیان نمودند که سلولهای غیرلومینال در پلئومورفیک آدنوما واکنش ایمنی مثبتی برای ویمنتین نشان می‌دهند در حالیکه سلولهای غیرلومینال در پلئومورفیک‌آدنوما با muscle-specific actin هیچگونه واکنشی نداشته و اکتین تنها در جدار عروق مثبت می‌شود و پیشنهاد شد که در سلولهای میواپی‌تلیال نئوپلاستیک ویمنتین تا حدی جایگزین اکتین می‌شود (۱۳،۱٤). همچنین در طی تحقیقات انجام شده توسط Nishimura و Furukawa در سال ۱۹۹۱ و Murakami، Makino در سال ۱۹۹۳ گزارش شد که پروتئین GFAP، S100 و ویمنتین در غدد بزاقی طبیعی منفی بوده در حالیکه در پلئومورفیک‌آدنوما واکنش دارد و بنابراین آنها نتیجه گرفتند که حضور این پروتئین‌ها با انکوژنزیس مرتبط است(۳،۱۵).

در مورد تومور موکواپی‌درموئیدکارسینومای غدد بزاقی Hassanin و Ghosh در سال ۱۹۸۹ مشاهده کردند که سلولهای حد واسط این تومور دارای واکنش مثبتی برای اکتین، ویمنتین و S100 هستند و نتیجه گرفتند که سلولهای حد واسط موکواپی‌درموئیدکارسینوما دارای خصوصیات مشابه سلولهای میواپی‌تلیال غدد بزاقی طبیعی هستند (۱٦) ولی در تحقیقات انجام شده توسط Regezi، Zarbo و Batsakis در سال ۱۹۹۱ و Sousa و Loyola در سال ۱۹۹۸ موکواپی‌درموئیدکارسینوما برای اکتین، ویمنتین، GFAP و S100 منفی گزارش شد(۱،۱۷،۱۸) و نیز در مطالعه Regezi بیان شد که درجه‌های مختلف موکواپی‌درموئیدکارسینوما باعث تغییر مشخصی در رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی نمی‌شود و نهایتاً در سال۲۰۰۲، Marucci و Foschini، حضور تعداد زیادی سلولهای اپی‌تلیالی کراتین مثبت را در موکواپی‌درموئیدکارسینوما گزارش دادند در حالیکه Smooth-muscle actin که نشان دهنده تمایز سلولهای میواپی‌تلیال است منفی بود و همچنین با مشاهده حضور آنتی‌بادی‌های

www.SID.ir

Archive of SID

آنتی‌میتوکندریال در این تومور، ایمونوپروفایل سلولی مشابه مجاری مخطط نرمال برای موکواپی‌درموئیدکارسینوما را پیشنهاد دادند (۱۹).
هدف از این تحقیق تعیین حضور مارکرهای مربوط به سلول‌های میو اپی‌تلیال (GFAP، اکتین، ویمنتین و S100) در پلئومورفیک آدنوما و موکواپی درموئید کارسینومای غدد بزاقی است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی روی بلوک‌های پارافینی مربوط به تومورهای موکواپی‌درموئیدکارسینوما و پلئومورفیک‌آدنومای غدد بزاقی بیمارانی که از سال ۱۳۷۲ لغایت ۱۳۸۲ به بخش پاتولوژی دانشکده دندانپزشکی اصفهان و بخش پاتولوژی بیمارستان‌های کاشانی و الزهرای اصفهان و بیمارستان‌های امیر اعلم و امام خمینی تهران ارجاع داده شده بودند، انجام گرفت.
بعد از بررسی اولیه و حذف نمونه‌های فاقد کیفیت، ۲۵ بلوک پارافینی تومور پلئومورفیک‌آدنوما (۱٤ غده بزاقی اصلی و ۱۱ غده بزاقی فرعی) و ۲۵ بلوک مربوط به تومور موکواپی‌درموئیدکارسینوما (۱۷ غده بزاقی اصلی و ۸ غده بزاقی فرعی) انتخاب و برش های جدیدی برای رنگ‌آمیزی H&E به منظور تأیید تشخیص‌های قبلی و نیز اطمینان از کافی بودن نمونه به عمل آمد. برش‌هایی برای رنگ‌آمیزی اختصاصی PAS (Periodic Acid Schiff) از بلوک‌های مربوط به تومور موکواپی‌درموئیدکارسینوما نیز انجام شد و درجه تمایز تومورهای موکواپی‌درموئیدکارسینوما در لام‌های H&E تعیین گردید.
به منظور تشخیص وجود آنتی‌ژنهای خاص در بافت‌های مورد مطالعه از تکنیک رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی که اساس آن نشان دادن واکنش آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژنهای ویژه به کمک مواد رنگی است استفاده گردید (۲۰). به منظور حساسیت و دقت بالا و همچنین مقرون به صرفه بودن روش بیوتین استرپتاویدین (B-SA) این روش همراه با آنتی‌بادی‌های آن که به شرح زیر می‌باشد، استفاده گردید.

CN : 08-0052, Clone:V9, Zymed Vimentin,
استفاده مستقیم (RTU)

CN : 08-1262, Clone:HHF3, Zymed Actin(muscle-specific)
استفاده مستقیم (RTU)

CN : 13-0300, Clone:2-2B10, Zymed GFAP,
بارقت ۱۰۰ : ۱

CN: 18-0046, Clone:Zy44, Zymed S100,
با رقت ۱۰۰ : ۱

نمونه‌ها توسط دو پاتولوژیست بطور جداگانه و مستقل از هم بررسی شدند. در هر یک از تومورها ابتدا واکنش ایمنی برای سلولهای مختلف بررسی گردید. در تومورهای پلئومورفیک‌آدنوما رنگ‌پذیری سلولهای میواپی‌تلیال، سلولهای داکتال پوشش مجاری و ناحیه میگزوئیدی و در تومورهای موکواپی‌درموئیدکارسینوما رنگ‌پذیری سلولهای موکوسی، سلولهای اسکواموس، سلولهای clear و سلولهای حدواسط بررسی شد. واکنش ایمنی نمونه‌ها براساس روش معرفی شده توسط Regezi، در بزرگ‌نمایی ٤۰۰ به شرح زیر درجه بندی شد (۱ و ۱۱).

درجه صفر = بدون واکنش (منفی)
درجه +۱ = رنگ‌پذیری پراکنده و کانونی
درجه +۲ = حداکثر ۲۵٪ سلولها مثبت
درجه +۳ = بین ۵۰٪ ـ ۲۵٪ سلولها مثبت
درجه +٤ = بیشتر از ۵۰٪ سلولها مثبت.

اطلاعات به دست آمده با بکارگیری آزمون آماری chi-square و با سطح معنی‌دار $p<۰/۰۵$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

ساختمان میکروسکوپیک تومورهای پلئومورفیک‌آدنوما شامل هر دو جزء مزانشیمی، به صورت زمینه کندرومیگزوئیدی و اپی‌تلیالی به فرم صفحات سلولی و تشکیلات مجاری دو لایه که سلولهای میواپی تلیالی در قاعده سلولهای داکتال قرار داشتند را شامل می‌گردید.
ساختمان ریزبینی تومورهای موکواپی در موئید کار سینوما شامل یک الگوی رشدی infiltrative، مشتمل بر سلولهای موکوسی و سلولهای اپی‌درموئیدی و سلول‌های حد واسط و روشن، و فضاهای microcystic در نمونه‌های تمایز یافته بود. ۸ مورد از نمونه‌ها به عنوان ضایعات low grade (سلولهای موکوسی +PAS فراوان و فضاهای کیستیک)، ۱٤ نمونه intermediate grade (سلولهای موکوسی کمتر +PAS با الگوی رشدی solid بیشتر همراه میزان

www.SID.ir

Archive of SID

کمی دیس‌پلازی) و ۳ مورد High grade (دارای حداقل سلولهای موکوسی با دیس‌پلازی فراوان) طبقه بندی شدند.

در تمام غدد بزاقی نرمال سلولهای میواپی‌تلیال در قاعده آسینی‌های سروزی و موکوسی برای آنتی‌بادی‌های GFAP، اکتین و ویمنتین دارای واکنش مثبت بوده و برای S100 واکنش ضعیف داشتند.

در نمونه‌های پلئومورفیک‌آدنوما، سیتوپلاسم سلولهای میواپی‌تلیال و ناحیه کندرومیگزوئیدی با آنتی‌بادیهای GFAP و ویمنتین واکنش مثبت نشان دادند (+٤) درحالیکه در مورد اکتین میزان رنگ‌پذیری بین صفر تا +۳ بود. (۱۲مورد منفی، ۱۲ مورد +۱ و ۱ مورد +۳). در مورد S100 میزان رنگ‌پذیری بین +۱ تا +٤ متغیر بود (۳ مورد +۱، ۳ مورد +۲، ۱۸ مورد +۳ و ۲ مورد +٤).

در نمونه‌های مربوط به موکواپی‌درموئیدکارسینوما سلولهای تومورال با هیچ یک از آنتی‌بادیهای به کار رفته واکنش نشان نداده و تنها استرومای هم‌بندی تومور با آنتی‌بادیهای GFAP و ویمنتین رنگ گرفت و در مورد S100 استرومای همبندی واکنشی نشان نداد و اکتین در دو مورد در استرومای همبندی مثبت شد. در مورد هر دو تومور پلئومورفیک‌آدنوما و موکواپی‌درموئیدکارسینوما مقایسهٔ واکنش ایمونوهیستوشیمی در غدد بزاقی فرعی و غدد بزاقی اصلی تفاوتی نشان نداد.

رنگ پذیری تمام نمونه‌های مربوط به تومور پلئومورفیک آدنوما از نظر پروتئین GFAP کامل (Score=٤) بود. نمونه‌های تومور موکواپی در موئیدی فاقد چنین پروتئینی(Score =۰) بودند. اختلاف مشاهده شده به لحاظ آماری معنی‌دار بود($p <$ ۰/۰۰۱).

برای پروتئین‌های GFAP و ویمنتین درجه رنگ پذیری سلول‌های تومورهای پلئومورفیک آدنوما و موکواپیدرموئیدکارسینوما به ترتیب +٤ و صفر بود ($P <$ ۰/۰۰۱). تومورهای پلئومورفیک آدنوما برای اکتین در ۱۲ مورد بدون واکنش (score=0)، ۱۲ مورد واکنش +۱ و در یک مورد واکنش +۳ نشان دادند در صورتی که در هیچ کدام از سلول‌های تومورهای موکواپی در موئید کارسینوما در برابر این پروتئین واکنشی دیده نشد ($P <$ ۰/۰۰۱). همچنین سلول های تومورهای پلئومورفیک آدنوما برای پروتئین S100 در ۲ مورد واکنش +۱، ۳ مورد واکنش +۲، ۱۸ مورد واکنش +۳ و ۲ مورد واکنش +٤ نشان دادند. هیچ کدام از سلول‌های تومور موکواپی درموئید کارسینوما در برابر این پروتئین واکنش نشان ندادند ($p <$ ۰/۰۰۱).

بحث

نتایج مطالعه حاضر رنگ‌پذیری کامل و یکنواختی را با مارکرهای GFAP و ویمنتین (+٤) در پلئومورفیک‌آدنوما نشان داد و شدت و میزان این رنگ‌پذیری در مورد S100 کمتر بود (+۳). در مورد اکتین تظاهر غیریکنواخت و ناقصی بطور پراکنده دیده شد. نتایج به دست آمده در این مطالعه با نتایج مطالعات انجام شده توسط Nakazato و Ishida در سال ۱۹۸۵(۸)، Batsakis وRegezi (۱)، Campbell و Crocker (۷)، Hunag (۱۰)، White و Curran (۱۱) در مورد حضور پروتئین S100 وGFAP یکسان است و همچنین مانند مطالعه Baumal و Kahn (٦) در مطالعه حاضر نیز حضور پروتئین‌های S100 و ویمنتین در پلئومورفیک‌آدنوما و نیز سلولهای میواپی‌تلیال غدد بزاقی نرمال گزارش شد ولی تظاهر اکتین به صورت کامل دیده نشد و همانگونه که VC Araujo و NS Araujo (۱۲)، VC Araujo و Carvalho (١٤) و Takai و Dardic (۱۳) نشان دادند تظاهر اکتین (muscle-specific-actin) در پلئومورفیک‌آدنوما به صورت غیر یکنواخت و ناقص بوده و در بیشتر موارد، واکنش مثبت برای اکتین را تنها در جدار عضلانی عروق مشاهده گردید. با توجه به گزارشات Furukawa و Nishimura (۳)، Makino و Murakami (۱۵) پروتئین GFAP و همچنین S100 و ویمنتین در غدد بزاقی طبیعی حضور ندارد ولی در پلئومورفیک‌آدنوما مثبت می‌شود در حالیکه در مطالعه حاضر دیده شد که GFAP و ویمنتین و S100 هم در غدد بزاقی طبیعی و هم در پلئومورفیک‌آدنوما دیده می‌شود. بنابراین براساس شواهد به دست آمده نتیجه‌گیری اولیه این بود که به نظر نمی‌رسد، این پروتئین‌ها با انکوژنزیس در پلئومورفیک‌آدنوما ارتباطی داشته باشند.

در مطالعهVC Araujo و Carvalho گزارش کردند که در سلولهای نئوپلاستیک میواپی‌تلیال، ویمنتین تا حدی جایگزین اکتین می‌شود، در تمایز با مطالعه اخیر می‌باشد که واکنش مثبت با ویمنتین، در غدد بزاقی طبیعی و تومور پلئومورفیک‌آدنوما مشاهده گردید.

البته باید به این نکته توجه داشت که در مطالعه حاضر، غدد بزاقی

www.SID.ir

Archive of SID

طبیعی بررسی شده در مجاورت ضایعات بوده است. بنابراین اگرچه GFAP، ویمنتین و S100 در غدد بزاقی طبیعی همانند پلئومورفیک آدنوما، حضور داشت ولی به دلیل اینکه امکان بررسی غدد بزاقی طبیعی جداگانه در شخص سالم فراهم نبوده و احتمال تغییرات انکوژنزیس در غدد بزاقی ظاهراً طبیعی مجاور تومور حداقل در سطح فراساختاری (Ultrastructural) و هیستوشیمیایی وجود دارد، نمی‌توان با قاطعیت گفت که حضور این پروتئین ها به طور یکسان در غدد بزاقی طبیعی وتومور پلئومورفیک آدنوما، دلیل بر ارتباط نداشتن این پروتئین‌ها با انکوژنزیس است. این موضوع نیازمند تحقیقات گسترده‌تر و در صورت امکان، بررسی غدد بزاقی طبیعی در یک شخص سالم و عاری از تومور پلئومورفیک آدنوما می‌باشد.

پس به طور کلی می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که مارکرهای مخصوص سلولهای میواپی‌تلیال به خصوص GFAP و ویمنتین و پس از آن S100 در نواحی کندرومیگزوئیدی و سلولهای غیرلومینال‌پلئومورفیک‌آدنوما به فراوانی حضور دارد که این تأییدی بر حضور و نقش سلولهای میواپی‌تلیال در هیستوژنز پلئومورفیک آدنوما می‌باشد و بررسی این مارکرها می‌تواند در تشخیص افتراقی پلئومورفیک‌آدنوما از بعضی نئوپلاسم‌های غدد بزاقی که سلولهای میواپی‌تلیال نقشی در ایجاد آنها ندارند، کمک کند.

در مورد پروتئین اکتین همانگونه که ذکر شد رنگ‌آمیزی منفی یا رنگ‌آمیزی ضعیفی در پلئومورفیک‌آدنوماها مشاهده شد در حالی که در غدد بزاقی طبیعی اکتین در قاعدهٔ آسینی‌ها مثبت بود و از آنجایی که در مطالعات فراساختاری (ultrastructural) مشخص شده است که سلولهای میواپی‌تلیال نئوپلاستیک معمولاً برخی از خصوصیات سلولهای میواپی‌تلیال طبیعی را نداشته که شامل میوفیلامانها، همی‌دسموزوم‌ها، وزیکولهای micropinocytotic و غیره می‌باشد (۱۴،۱۷)، شاید تظاهر ناقص اکتین در پلئومورفیک‌آدنوما چنین توجیه شود که سلولهای میواپی‌تلیال در پلئومورفیک‌آدنوما تمایز کامل نداشته و ظهور اکتین به مرحله و سطح تمایز در این سلولها برمی‌گردد.

در این مطالعه تفاوتی در ظهور این پروتئین‌ها (GFAP، اکتین، ویمنتین و S100) در تومورهای غدد بزاقی اصلی و فرعی مشاهده نشد. بنابراین می‌توان گفت که علی‌رغم تفاوتهای هیستولوژیکی که گاهی در پلئومورفیک‌آدنوماهای غدد بزاقی اصلی و فرعی وجود دارد، تفاوت ایمونولوژیک مشخصی دیده نمی‌شود، اما در مورد موکواپی‌درموئید کارسینوما، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سلولهای تومورال درموکواپی‌درموئیدکارسینوما با هیچ یک از ٤ آنتی‌بادی به کار گرفته شده واکنش نشان نداد و تنها اجزاء استرومای همبندی تومور با آنتی‌بادی ویمنتین وGFAP واکنشی نشان دادند که یافته‌های اخیر با نتایج مطالعات Batsakis ، Zarbo و Regezi (۱) و همچنین Loyola و Sousa (۱۸) و نیز Marucci و Foschini (۱۹) یکسان بود. البته با توجه به اینکه در مطالعه اخیر از آنتی‌بادی آنتی‌میتوکندریال استفاده نگردید در مقایسه با مطالعه Foschini و Marucci تعیین دقیق منشاء ایجاد موکواپی‌درموئیدکارسینوما و ارتباط آن با مجاری مخطط نرمال امکان‌پذیر نبود.

نتیجه تحقیق حاضر با نتیجه‌ای که Ghosh و Hassanin (۱٦) به دست‌آوردند، یکسان نبود ولی با توجه به همخوانی با اکثر مطالعه‌های دیگر، شاید این تفاوت به علت متفاوت بودن تکنیک در مطالعه Hassanin و Ghosh می‌باشد. بنابراین می‌توانیم نتیجه‌گیری کرد که مارکرهای اختصاصی سلولهای میواپی‌تلیال (GFAP، اکتین، ویمنتین و S100) در موکواپی درموئید کارسینوما مشاهده نمی‌شود و عدم تظاهر یا تظاهر حداقل این آنتی‌ژنها در موکواپی‌درموئیدکارسینوما نشان دهنده عدم تمایز و یا تمایز بسیار کم سلولهای میواپی‌تلیال در هیستوژنز این، تومور می‌باشد. در حقیقت عدم حضور مارکرهای سلولهای میواپی‌تلیال می‌تواند در تشخیص افتراقی این تومور از پلئومورفیک آدنوما که بعضاً تشخیص افتراقی آن از موکواپی درموئیدکارسینوما با روشهای معمول H&E مشکل بوده و همچنین کارسینوماهای با تمایز سلولهای میواپی‌تلیال مؤثر باشد. همچنین در مطالعه حاضر تأیید شد که درجه‌های مختلف موکواپی‌درموئیدکارسینوما تفاوتی در حضور این پروتئین‌ها نداشته و در حقیقت مارکرهای بکار گرفته شده ارزشی در طبقه‌بندی این ضایعات ندارد. با توجه به فقدان نسبی سلولهای میواپی‌تلیال، در مجاری خارج‌کننده (excretory) و مخطط (striated) و منفی شدن واکنش‌های ایمونوهیستوشیمی با مارکرهای سلولهای میواپی‌تلیال (S100، ویمنتین، اکتین و GFAP) به نظر می‌رسد تومور موکواپی‌درموئیدکارسینوما از سلولهای مجاری خارج‌کننده یا مخطط منشاء می‌گیرد.

اما در مقابل، مثبت شدن آنتی‌ژنهای سلولهای میواپی‌تلیال در پلئومورفیک‌آدنوما نشان دهنده این است که این تومور از سلولهای

www.SID.ir

Archive of SID

مجاری Intercalated یا سلولهای Undifferentiated مجاری رابط و به احتمال کمتر آسینی‌ها منشاء می‌گیرد. بنابراین منشاء این دو تومور متفاوت بوده و پلئومورفیک‌آدنوما از قسمتهای ابتدایی مجاری و موکواپی‌درموئیدکارسینوما از قسمتهای انتهایی مجاری غدد بزاقی منشاء می‌گیرند و بر این اساس شاید نقش عوامل محیطی کارسینوژن در بروز موکواپی‌درموئیدکارسینوما مؤثرتر از پلئومورفیک‌آدنوما باشد که البته نیازمند تحقیقات بیشتری است. از مطالب فوق‌الذکر چنین نتیجه‌گیری می‌شود که:

۱ـ بروز پروتئین‌های GFAP ، ویمنتین و S100 بطور یکنواخت در تمامی موارد پلئومورفیک‌آدنوما و تظاهر پروتئین اکتین به طور ناقص در نیمی از موارد پلئومورفیک‌آدنوما مشاهده می‌شود در حالی که بروز این پروتئین‌ها در تومور موکواپی‌درموئیدکارسینوما مشاهده نمی‌شود.

۲ـ بروز پروتئین‌های GFAP، ویمنتین و S100 در پلئومورفیک‌آدنوما محدود به سلولهای غیرلومینال و ناحیه کندرومیگزوئیدی یعنی سلولهای میواپی‌تلیال می‌باشد.

۳ـ در مطالعه اخیر تفاوتی در بروز این پروتئین‌ها در تومورهای غدد بزاقی اصلی و غدد بزاقی فرعی مشاهده نشد.

٤ـ درجه‌های متفاوت موکواپی‌درموئیدکارسینوما تفاوتی از نظر رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی نشان ندادند و بنابراین مارکرهای فوق‌الذکر ارزشی در طبقه‌بندی این ضایعات ندارد.

۵ـ با توجه به عدم حضور مارکرهای GFAP، اکتین، ویمنتین و S100 در موکواپی‌درموئیدکارسینوما، نقش سلولهای میواپی‌تلیال در هیستوژنز موکواپی‌درموئیدکارسینوما رد می‌شود.

٦ـ پلئومورفیک‌آدنوما از قسمتهای ابتدایی مجاری غدد بزاقی یا مجاری رابط و موکواپی‌درموئیدکارسینوما از قسمتهای انتهایی مجاری غدد بزاقی منشاء می‌گیرند.

در خاتمه پیشنهاد می‌گردد که:

۱ـ از مارکرهای آنتی‌میتوکندریال برای تعیین منشاء موکواپی‌درموئیدکارسینوما از مجاری مخطط یا خارج کننده استفاده شود.

۲ـ برای تعیین عوامل کارسینوژن روی بروز موکواپی‌درموئیدکارسینوما یک مطالعه اپیدمیولوژیک صورت گیرد.

۳ـ در مورد آنتی‌ژنهای انکوژنیک این تومورها و یا بطور کلی تومورهای غدد بزاقی تحقیقات بیشتری انجام شود.

٤ـ در مورد نقش سلولهای میواپی‌تلیال در ایجاد تومورهای غدد بزاقی از نظر مارکرهای ایمونوهیستوشیمی دیگر مانند P-63 و با کمک روش‌های فراساختمانی با میکروسکوپ الکترونی تحقیقات بیشتری صورت گیرد.

۵- برای تعیین دقیق هیستوژنز این تومورها از کشت سلولی استفاده شود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بوده است و در پایان از خانم فرزانهٔ محمودی تکنسین محترم بخش آسیب شناسی دانشکده دندانپزشکی که تهیه نمونه‌های ایمونوهیستوشیمی این پژوهش را انجام دادند، تشکر می‌نماییم.

REFERENCES

1. Regezi JA, Zarbo RJ, Batsakis JG. Immunoprofile of mucoepidermoid carcinomas of minor salivary glands. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1991; 71: 189-92.

2. Eissa S. Tumor markers. 2nd ed. USA: Chapman & Hall; 1996. 3: p. 295-8.

3. Nishimura T, Furukawa F. Differential diagnosis of pleomorphic adenoma by immunohistochemical means. J Laryngol Otol 1991; 105(12): 1057-60.

4. Cawson RA, Binnie WH, Speight PM, Barrett AW, Weright JM. Lucas's pathology of tumors of the oral tissues. 4th ed. London: Churchill livingstone; 1998, 7: p. 370-85.

5. Dardic I, Rippstein P, Skimming L. Immunohistochemistry and ultrastructure of myoepithelium and modified myoepithelium of the ducts of human major salivary glands. Oral surg oral Med Oral Pathol 1987; 64: 703-15.

6. Kahn HJ, Baumal R, Marks A, Dardic I. Myoepithelial cells in salivary gland tumors: An immunohistochemical study. Arch Pathol Lab Med 1985; 109(2): 190-5.

www.SID.ir

Archive of SID

7. Campbell JB, Crocker J, Shenoi PM. S100 protein localization in minor salivary gland tumors: an aid to diagnosis. J Laryngol Otol 1988; 102(10): 905-8.

8. Nakazato Y, Ishida Y, Takahasi K, Suzuki K. Immunohistochemical distribution of S100 protein and gellial fibrilar acidic protein in normal and neoplastic salivary glands. Virchows Arch Pathol Anat Histopathol 1985; 405(3): 299-310.

9. Zarbo RJ, Regezi JA, Batsakis JG. S100 Protein in salivary gland tumors: an immunohistochemical study of 129 cases. Head and Neck Surg 1986; 8(4): 268-75.

10. Huang J. Expression of S100 proteins and intermediate proteins in pleomorphic adenoma. Zhonghua Kou Qiang 2000; 35(3): 191-3.{abstract}

11. Curran AE, White DK. Polymorphous low grade adenocarcinoma versus plemorphic adenoma of minor salivary glands: Resolution of a diagnostic dilemma by immunohistochemical analysis with gelial fibrilar acidic protein. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2001; 91: 194-9.

12. Araujo VC, Araujo NS. Vimentin as a marker of myoepithelial cells in salivary gland tumors. Eur Arch Otorhinolaryngol 1990; 247(4): 252-5.

13. Takai Y, Dardic I, Mackay A. Diagnostic criteria for neplastic myoepithelial cells in pleomorphic adenomas and myoepitheliomas: Immunohistochemical detection of muscle-specific actin, cytokeratin14, Vimentin and glial fibrillary acidic protein. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1995; 79(3): 330-4.

14. Araujo VC, Carvalho YR, Araujo NS. Actin versus vimentin in myoepithelial cells of salivary gland tumors. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1994; 77: 387-91.

15. Murakami M, Makino I, Nin F. Immunohistological investigation of the histological origin and differentiation of pleomorphic adenoma of the parotid gland. Nippon Jibin Koka 1993; 96(8): 1235-42. {abstract}

16. Hassanin MB, Ghosh L, Das AK. Immunohistochemical and fluorescent microscopic study of histogenesis of mucoepidermoid carcinoma. J Oral Pathol Med 1989; 18(5): 291-8.

17. Dabbs DI: Diagnostic immunohistochemistry. 1St ed. USA: Churchill livingstone; 2002, 1: p. 7-27.

18. Loyola AM, Sousa SO, Araujo NC, Araujo VC. Study of minor salivary gland mucoepidermoid carcinoma differentiation based on immunohistochemical expression of cytokeratins, vimentin and muscle-specific actin. Oral Oncol 1998; 34(2): 112-18.

19. Foschini MP, Marucci G, Eusebi V. Low grade mucoepidermoid carcinoma of salivary glands: characteristic immunohistochemical profile and evidence of striated duct differentiation. Virchows Arch 2002; 440: 536-542.

20. Jordan RC, Daniels TE, Greenspan J, Regezi JA. Advanced diagnostic methods in oral and maxillofacial pathology. Part II: Immunohistochemical and immuno- fluorescent methods. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 2002; 93: 56-74.

www.SID.ir