مجلهٔ غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
سال سوم ـ شمارهٔ ۱ ـ صفحه‌های ۴۹- ۴۳ (بهار ۱۳۸۰)

مقایسه نقاط سازمان دهنده هستکی در تومورهای خوش‌خیم وبدخیم تیروئید در بیماران تیروئیدکتومی شده

دکتر بهار جعفری، دکتر نیلوفر مرتضوی، دکتر رامبد حاجی‌پور

چکیده: افزایش تعداد نقاط سازمان دهندهٔ هستکی (Ag NORs) در هستهٔ سلول‌ها نشاندهندهٔ افزایش سنتز DNA یا فعالیت‌های متابولیک سلول است. اخیراً استفاده از شمارش میانگین نقاط سازمان دهندهٔ هستکی با رنگ‌آمیزی نیترات نقره به عنوان شاخصی برای تشخیص بین بافت‌های طبیعی، هیپرپلاستیک و دیسپلاستیک مطرح شده است. هدف از این مطالعه تشخیص افتراقی و سریع بین انواع خوش‌خیم و بدخیم تومورهای تیروئید از لحاظ پاتولوژی و تشخیص زودرس ضایعات تومورال هیپرپلاستیک از بافت طبیعی می‌باشد. این مطالعه از نوع Clinical diagnosis است که نمونه‌های فایل شده بیماران تیروئیدکتومی در بیمارستان طالقانی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی در سال‌های ۷۷-۷۰ مورد بررسی قرار گرفته است. در این تحقیق ۶۵ بلوک پارافین مربوط به تومورهای خوش‌خیم و بدخیم تیروئید به عنوان گروه مورد و تعداد مساوی از بلوک بافت طبیعی همان بیماران به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفته است. از لام‌های ۶۵ بیمار تیروئیدکتومی شده ۴ بیمار تومور خوش‌خیم و ۶۱ بیمار تومور بدخیم تیروئید داشتند. در بررسی کلی این ۶۵ بیمار، میانگین NORs در بافت تومورال ۰/۵۹ ± ۱/۱۸ بود. بررسی بعدی مقایسه بین بافت تومورال خوش‌خیم و بدخیم بود که میانگین NORs در بافت تومورال بدخیم ۰/۵۸ ± ۲/۶۹ و در بافت تومورال خوش‌خیم۰/۴۶ ± ۲/۰۸ و این تفاوت معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۵). در نهایت در بین ۴ گروه آنالیز واریانس صورت گرفت و آنچه بدست آمد، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های زیر می‌باشد:۱) قسمت تومورال سرطان‌های بدخیم با قسمت طبیعی بافت همان بیماران؛ ۲) قسمت تومورال سرطان‌های خوش‌خیم با قسمت طبیعی بافت همان بیماران؛ ۳) قسمت تومورال سرطان‌های بدخیم با قسمت تومورال سرطان‌های خوش‌خیم. در خاتمه با استفاده از روش ROC مشخص گردید اگر تعداد NORs شمارش شده در ۱۰۰ سلول بافت تیروئید بیش از ۱۷۰ باشد این بافت با حساسیت ۹۸/۵٪ و ویژگی ۹۸/۵٪ و efficiency ۹۸/۵٪ تومورال است و اگر تعداد NORs شمارش شده در ۱۰۰ سلول بافت تیروئید بیش از ۲۰۰ باشد، این بافت با حساسیت ۸۸/۵٪ و ویژگی ۷۵٪ و efficiency ۸۷/۷٪ بدخیم است. با گسترش و متاآنالیز طرح‌های مشابه این طرح می‌توان به آستانهٔ (Cut off point) مناسبی جهت جداسازی بافت طبیعی، تومورال و بدخیمی تیروئید به روش رنگ‌آمیزی با نیترات نقره NORs رسید و آن را جایگزین روش‌های قدیمی نمود.

واژگان کلیدی: تیروئید، تومور، نقاط سازمان‌دهنده هستکی، رنگ‌آمیزی نیترات نقره

بیمارستان آیت‌ا... طالقانی
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

آدنوم خوش‌خیم تیروئید پیش آگهی بسیار خوبی دارد و بر خلاف آن تشخیص کارسینوم فولیکولر تیروئید به معنای ۷۰٪ مرگ و میر پنج ساله است.[۱،۲]

تشخیص افتراقی بین انواع خوش‌خیم و بدخیم تومورهای تیروئید، خصوصاً تومورهای فولیکولر تیروئید یکی از مشکلات همیشگی مطرح در مباحث تومورهای تیروئید می‌باشد،[۳،۴] به طوری که در بعضی موارد تنها تفاوت در رنگ‌آمیزی‌های معمول H&E بین انواع خوش‌خیم آدنوما و کارسینومای فولیکولر تیروئید، تهاجم به عروق و کپسول می‌باشد که وجود یا عدم آن همیشه به آسانی اثبات نمی‌شود.[۵-۷] از طرفی تشخیص نوع تومور بدخیم نیز در پیش آگهی سیر بیماری تأثیر دارد.[۳-۸]

اخیراً استفاده از نقاط سازمان دهنده هستکی‌ها و رنگ‌آمیزی نیترات نقره به عنوان شاخص برای تشخیص بین بافت‌های طبیعی، هیپرپلاستیک، دیسپلاستیک و سرطانی مطرح شده است.[۹-۱۵]

نواحی سازمان دهنده هستکی (NORs)[i] عبارت است از حلقه ها یا قطعاتی از DNA در مرحله اینترفاز، در داخل هسته که بوسیله RNA پلی‌مراز I به RNA ریبوزومال (rRNA) ترجمه می گردند. افزایش تعداد نقاط Ag NORs[ii] در هسته سلول‌ها نشان دهنده انعکاسی از افزایش سنتز DNA و یا فعالیت‌های سلول در هیپرپلازی‌ها، بدشکلی‌های سلول یا بدخیمی می‌باشد.[۴]

در سال ۱۹۹۳ در بیمارستان هاشرون[iii] برای اولین بار ارزش تشخیصی نقاط سازمان دهنده هستکی در مورد تومورهای تیروئید مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که شمارش متوسط Ag NORs به طور معنی‌دار در کارسینوم فولیکولی در مقایسه با آدنوم فولیکولی و بافت طبیعی تیروئید بالاتر است.[۱۶،۱۷]

در این تحقیق میانگین نقاط سازمان دهنده هستکی در ۱۰۰ سلول از بین هر یک از گروه‌های بافت طبیعی تیروئید، تومورهای خوش‌خیم تیروئید و تومورهای بدخیم تیروئید مورد مقایسه قرار گرفته است و روش تشخیصی جدیدی جهت شناسایی قطعی و سریعتر بیماران با تومورهای بدخیم تیروئید از تومورهای خوش‌خیم تیروئید پیشنهاد شده است. این یافته از صرف هزینه‌های تشخیصی و درمانی سنگین‌تر، از دست دادن زمان در درمان هر چه سریعتر بیماران با تومور بدخیم تیروئید و جراحی‌های رادیکال بی مورد جلوگیری می‌نماید.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق بلوک‌های پارافینی مربوط به بیماران دارای تومورهای خوش‌خیم و بدخیم تیروئید فایل شده در آرشیو بیمارستان طالقانی در طی سال‌های ۷۷-۷۰ مورد بررسی قرار گرفته‌اند و در همان بیماران بلوکهای پارافینی با بافت طبیعی تیروئید نیز مورد بررسی قرار گرفته اند.

i- Nucleolar Organizer Regions

ii- Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions

iii- Hasheron

Archive of SID

www.SID.ir

روش نمونه‌گیری بصورت سرشماری می‌باشد. یعنی هر تعداد که بدخیم یا خوش‌خیم باشند، در گروه‌های مربوطه قرار می‌گیرند. در این تحقیق بلوک‌های پارافینی موجود در آرشیو بیمارستان طالقانی مربوط به بیماران تیروئیدکتومی شده که دارای تومور خوش‌خیم یا بدخیم تیروئید یا دارای بافت طبیعی تیروئید بوده‌اند مورد بررسی قرار گرفته است. شیوع هر گروه محاسبه شده و همچنین شیمی درمانی یا رادیوتراپی قبل از جراحی مورد بررسی قرار گرفته است.

میانگین تعداد نقاط سازمان دهنده هستکی در ۱۰۰ سلول در تومورهای سرطانی نسبت به بافت نرمال در هر فرد و همچنین نسبت به تومورهای خوش‌خیم بررسی شده است. در هر گروه انحراف معیار محاسبه شده و بین هر دو گروه آزمون t انجام گرفته است. در مواردی که نمونه‌ها کم است یا واریانس‌ها نابرابر می‌باشند از روش‌های غیر پارامتری استفاده گردیده است.

نتایج

از تعداد ۶۵ بیمار، ۶۱ بیمار ۹۳/۸٪ دارای تومور بدخیم و ۴ (۶/۲٪) نفر دارای تومور خوش‌خیم تیروئید بودند. توزیع فراوانی برحسب نوع تومور مطابق با جدول (۱) می‌باشد.

میانگین NORs در سلول‌های تومورال و سلول‌های طبیعی بافت تیروئید ۶۵ بیمار مورد مقایسه قرار گرفت. اختلاف این دو میانگین از نظر آماری معنی‌دار بود (۲/۶۵±۰/۵۹ ذره در گروه مورد و ۱/۱۸±۰/۱۵ ذره در گروه شاهد؛ P<۰/۰۰۱)

جدول ۱- توزیع فراوانی برحسب نوع تومورها

شاخص‌ها / تومور	تعداد (n)	درصد (٪)
پاپیلری کارسینومای تیروئید	۳۱	۴۷/۷
پاپیلری کارسینومای تیروئید (نوع فولیکولر)	۱۱	۱۶/۸
هرتل سل کارسینومای تیروئید	۸	۱۲/۳
مدولاری کارسینومای تیروئید	۴	۶/۲
فولیکولر کارسینومای تیروئید	۴	۶/۲
آناپلاستیک کارسینومای تیروئید	۳	۴/۶
هرتل سل آدنومای تیروئید	۲	۳/۱
فولیکولر آدنومای تیروئید	۲	۳/۱
جمع	۶۵	۱۰۰

در مقایسه NORs در بافت تومورال و طبیعی در تومورهای بدخیم، اختلاف این دو میانگین از نظر آماری معنی‌دار بود (۲/۶۹±۰/۵۸ ذره در گروه مورد و ۱/۱۸±۰/۱۵ ذره در گروه شاهد؛ P<۰/۰۰۱).

در مقایسه NORs بافت تومورال در تومورهای بدخیم و خوش‌خیم (جدول ۲)، این دو میانگین اختلاف آماری معنی‌داری را نشان می‌داد (P<۰/۰۵). در صورتی که در مقایسه NORs بافت طبیعی در تومورهای بدخیم و خوش‌خیم، اختلاف معنی‌دار نبود.

جدول ۲- مقایسه میانگین NORS بافت تومورال در تومورهای بدخیم و خوش‌خیم

گروه‌ها / شاخص‌ها	تعداد (n)	میانگین (X)	انحراف معیار (SD)	حداقل Min	حداکثر Max
بافت‌تومورال‌بدخیم	۶۱	۲/۶۹	۰/۵۸	۱/۶۶	۲/۷۴
بافت‌تومورال‌خوش‌خیم	۴	۲/۰۸	۰/۴۶	۱/۸۶	۴/۸۸
P<0.005					

Archive of SID

www.SID.ir

میانگین NORs در سلول‌های تومورال و سلول‌های طبیعی بافت تیروئید در زیرگروه‌های تومورهای بدخیم تیروئید مورد مقایسه قرار گرفت و نتایج زیر بدست آمد.

۱. در پاپیلری کارسینومای تیروئید[i] اختلاف میانگین NORs سلول‌های بافت تومورال (۲/۵۸) با میانگین NORs بافت طبیعی (۱/۲۰) از نظر آماری معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۰۱).

۲. در هرتل سل کارسینوما[ii] اختلاف میانگین NORs بین بافت تومورال (به طور متوسط ۲/۶۶ ذرع) با بافت طبیعی (به طور متوسط ۱/۰۶ ذره) معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۰۱).

۳. در مدولاری کارسینومای تیروئید[iii] اختلاف میانگین NORs بین بافت تومورال (به طور متوسط ۲/۳۴ ذره) با بافت طبیعی (به طور متوسط ۱/۱۳ ذره) معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵).

٤. در فولیکولر کارسینومای تیروئید،[iv] اختلاف میانگین NORs بین بافت تومورال (به طور متوسط ۳/۳۷ ذره) با بافت طبیعی (به طور متوسط ۱/۱۳ ذره) معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵).

۵. در آناپلاستیک کارسینومای تیروئید،[v] اختلاف میانگین NORs بین بافت تومورال (به طور متوسط ۳/۷۱ ذره) با بافت طبیعی (به طور متوسط ۱/۲۹ ذره) از نظر آماری معنی‌در بوده است (P<۰/۰۵).

٦. سلول‌های تومورال و بافت طبیعی مربوط به دو گروه سرطان خوش‌خیم و بدخیم بدون در نظر گرفتن نوع سرطان، از نظر متوسط تعداد ذرات NORs در سلول با هم مورد مقایسه قرار گرفت. ابتدا هر چهار گروه با هم به طور یکجا مورد آنالیز واریانس قرار گرفتند که اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید (P<۰/۰۰۱) (جدول ۳).

سپس هر گروه به طور جداگانه با سه گروه دیگر مورد مقایسه قرار گرفتند که بین گروه‌های زیر اختلاف آماری مشاهده گردید:

الف) سلول‌های تومورال و سلول‌های غیرتومورال در سرطان‌های بدخیم.

ب) سلول‌های تومورال در سرطان‌های بدخیم و سلول‌های تومورال در تومورهای خوش‌خیم.

ج) سلول‌های تومورال و غیرتومورال در تومورهای خوش‌خیم.

نمودار (۱) این اختلاف را به طور تجربی نشان می دهد.

۷. در مقایسه بین میانگین NORs در بافت تومورال بین فولیکولر کارسینوما به طور متوسط ۳/۳۷±۰/۹۴ و در پاپیلری کارسینوما به طور متوسط ۲/۵۸±۰/۴۴ ذره در هر سلول مشاهده گردید. اختلاف این دو میانگین از نظر آماری معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵).

۸. در مقایسه بین میانگین NORs بین آناپلاستیک کارسینوما ۳/۷۱±۱/۴۱ و پاپیلری کارسینوما ۲/۵۸±۰/۴۴ ذره در هر

i Papillary Carcinoma of thyroid
ii- Hurtle cell carcinoma
iii- Medullary Carcinoma
iv- Follicular Carcinoma
v- Anaplastic Carcinoma

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- مقایسه سلول‌های تومورال و غیرتومورال سرطان‌های خوش‌خیم و بدخیم از نظر متوسط تعداد ذرات NORs

نوع سرطان		N	میانگین	انحراف معیار	٪۲۵	٪۵۰	٪۷۵
بدخیم	تومورال	۶۱	۲/۷۰	۰/۵۹	۲/۳۴	۲/۶۱	۲/۹۵
	غیرتومورال	۶۱	۱/۱۸	۰/۱۶	۱/۰۸	۱/۱۳	۱/۲۸
خوش‌خیم	تومورال	۴	۲/۰۷	۰/۴۷	۱/۸۰	۱/۹۴	۲/۳۵
	غیرتومورال	۴	۱/۱۴	۰/۰۷	۱/۰۹	۱/۱۴	۱/۱۹

سلول مشاهده گردید. اختلاف این دو میانگین از نظر آماری معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵).

۹. در مقایسه بین میانگین NORs در بافت تومورال نمونه‌ها بین فولیکولر آدنوما به طور متوسط ۱/۹۶±۰/۰۴ و پاپیلری کارسینوما ۲/۵۵±۰/۴۲ ذره در هر سلول مشاهده گردید. اختلاف این دو میانگین از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

۱۰. در مقایسه بین میانگین NORs بین فولیکولر آدنوما (به طور متوسط ۱/۹۶±۰/۰۴ ذره) و هرتل سل کارسینومای تیروئید (به طور متوسط ۰/۳۵ ± ۲/۶۶ ذره) اختلاف این دو میانگین از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

□ در بررسی آنالیز ROC بین قسمت تومورال و قسمت طبیعی بافت‌های بیمار می‌توان نتیجه گرفت چنانچه تعداد نقاط هستکی در یکصد سلول بافت بالاتر از ۱۷۰ باشد، می‌توان آن بافت را تومورال تلقی کرد. این مشخصه شمارش ۱۷۰ NORs در یکصد سلول با حساسیت ۹۸/۵٪ و ویژگی ۹۸/۵٪ و efficiency ۹۸/۵٪ می‌باشد که از لحاظ آماری قابل قبول و ارزشمند می‌باشد و منحنی از نوع Excellent curve می‌باشد.

بحث

می‌توان نتایج طرح را به شرح زیر طبقه بندی کرد:

دامنه NORs در بافت نرمال و تومورال بدخیمی جداست:

اگرچه دامنه NORs در بافت تومورال و طبیعی کل تومورهای تیروئید دارای Overlap بود، ولی دامنه NORs در بافت تومورال و طبیعی تومورهای بدخیم کاملاً از یکدیگر جدا بود.

Archive of SID

www.SID.ir

نمودار ۱- مقایسه سلول‌های تومورال و غیرتومورال سرطان‌های خوش‌خیم و بدخیم از نظر چارکهای تعداد NORs در سلول‌های تومورال و غیرتومورال سرطان‌های خوش‌خیم و بدخیم

شمارش میانگین NORs در قسمت تومورال سرطان‌های بدخیم تیروئید با قسمت طبیعی همان بافت متفاوت است:

با رسیدن به این نتیجه که میانگین NORs در قسمت تومورال سرطان‌های بدخیم تیروئید با قسمت طبیعی همان بافت تفاوت معنی‌دار دارد، می‌توان به این نتیجه رسید که اگر در یک لام پاتولوژی تومور بدخیم تیروئید، قصد داریم قسمت طبیعی را از قسمت بافت تومورال تفکیک کنیم، این کار را می‌توان با شمارش میانگین نقاط NORs انجام داد.

میانگین NORs در قسمت تومورال سرطان‌های خوش‌خیم تیروئید با قسمت طبیعی همان بافت متفاوت است.

میانگین NORs بین بافت تومورال بدخیم و خوش‌خیم تیروئید متفاوت است:

از آنجایی که در بررسی میانگین NORs، در تومورهای بدخیم و خوش‌خیم تفاوت معنی‌داری وجود دارد. می‌توان از روش شمارش میانگین NORs برای تفکیک تومورهای بدخیم از خوش‌خیم استفاده نمود.

Archive of SID

www.SID.ir

در بافت تومورال تیروئید تعداد NORs در ۱۰۰ سلول بیش از ۱۷۰ می‌باشد:

اگر بافتی از تیروئید به روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شود و در ۱۰۰ سلول این بافت تعداد NORs بیش از ۱۷۰ باشد، با حساسیت ۹۸/۵٪ و ویژگی ۹۸/۵٪ و efficiency ۹۸/۵٪ می‌توان گفت این بافت تیروئید تومورال است.

در بافت بدخیم تیروئید تعداد NORs در ۱۰۰ سلول بیش از ۲۰۰ می‌باشد:

اگر بافتی از تیروئید به روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شود و در ۱۰۰ سلول این بافت تعداد NORs بیش از ۲۰۰ ذره باشد با حساسیت ۸۸/۵٪ و ویژگی ۷۵٪ و efficiency ۸۷/۷٪ می‌توان گفت این بافت تومورال تیروئید بدخیم است.

تقدیر و تشکر

در پیشبرد این تحقیق همکاران بسیاری در زمینه‌های مختلف ما را یاری نمودند، خصوصاً معاونت پژوهشی و شورای تخصصی پژوهشی دانشگاه، جناب آقای مجید حاجی فرجی و جناب آقای دکتر بهنام اسلامی و خانم دکتر فرزانه رحیمی که تجربیات و اطلاعات خود را در زمینه شیوه رنگ‌آمیزی NORs و تهیه مقالات در اختیار این تحقیق گذاشته‌اند و همچنین از آقای دکتر محرابی و آقای امامی که در زمینهٔ تهیه آمار و تفسیر نتایج کمک فراوان نموده‌اند. صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنیم.

References

1. ROBBINS, Pathologic basis of disease, WB Saunders, 5th Ed.
2. Devita VJ, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer Principles and Practice of Oncology JB Lippincott company, 3nd Ed 1989.
3. Harrison, Principles of internal medicine, MC Graw Hill inc. 13th ed, 1994.
4. Ackerman's Surgical Pathology, Mosby, Vol 1, 1996.
5. Pich A, Chiusa L, Margaria E. Role of argyrophilic nucleolar organizer regions in tumor detection and prognosis. Cancer Detect Prev 1995; 19:282-91.
6. Iuele R, Gallippi G, Giacchetto C. Thyroid pathology: evaluation of the average value of NORs and its potential diagnostic application. Pathologica. 1994; 89:525-7.
7. Epidemiology Biostatistics and Preventive Medicine; James F. Jekel; 1996.
8. Goodpasture C, et al. Human nucleolus organizers: the satellites or the stalks. Am J Hum Genet 1976; 28:559-66.
9. Ohno T, et al. Nucleolar organizer regions in bone tumors. Clin Orthopaedics 1991; 272: 287-91.
10. Abe S, et al. Nucleolar organizer regions or a marker of growth rate in squamous cell carcinoma of the lung. Thorax 1992; 47:778-80.
11. Croker J, Nar P. Nucleolar organizer regions in lymphoma. J Pathol 1987; 151:111-9.
12. Croker J, Skilbeck N. Nucleolar organizer regions associated proteins in cutaneous melanotic lesions: a quantitative study. J Clin pathol 1989; 40: 885-9.
13. Rosa GD, et al. Nucleolar organizer regions in aggressive and nonaggressive basal cell carcinoma of the skin. Cancer 1992; 59:123-6.
14. Allen JP, Gallimore AP. Nucleolar organizer regions in benign and malignant glandular lesions of the cervix. J Pathology 1992; 166:150-6.
15. Beer TW, Rowlands Dc, et al. AgNOR counts and determination of malignancy in stromal tumors of the stomach and small intestine, J Clin Pathol 1992; 45:172-4.
16. Szot W, et al. Fine needle aspiration cytology combined with argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in diagnosis of thyroid neophlasm. Endocrinol Po 1993; 44:413-26.
17. Shem-Tov-y, Stranus M, Talmi YP, Rath-Wolfsom L, Zohar Y, Gal R. Nucleolar organizer regions in follicular tumors of the thyroid. Head Neck. 1994; 16:420-3.

Archive of SID

www.SID.ir