Archive of SID

کمیت و کیفیت هیستولوژیک مناطق سازمان دهندهٔ هستک نقره دوست در ضایعات بدخیم و خوش خیم پستان

دکتر فرانک یزدان پناه، دکتر سید علیرضا سبحانی

بخش آسیب شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان

طب جنوب / سال سوم؛ شماره دوم / ۱۳۷۹

چکیده:

اخیراً مناطق سازمان دهنده هستک نقره دوست شناخته *(AgNORs)* در تومورهای مختلف بعنوان شاخص تکثیر شناخته شده‌اند. این موضوع بر روی ۵۰ بیمار (۲۰ نفر با تومور بدخیم پستان و ۳۰ نفر با تومورهای خوش خیم پستان) که در سالهای ۱۳۷۸ و ۱۳۷۹ به بیمارستانهای وابسته به دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان مراجعه نموده بودند بررسی و ارزیابی شد. رنگ‌آمیزی *(AgNORs)* با استفاده از روش نقره پلوتون بر روی برشهای بافتی انجام گردید. برای هر نمونه تعداد *(AgNORs)* داخل هسته ۵۰ سلول توموری شمرده شد. تعداد (انحراف معیار ± میانگین) *AgNORs* در سرطان پستان (۰/۹۱ ± ۴/۱۱) از تومورهای خوش خیم پستان (۰/۳۹ ± ۱/۷۹۵) بیشتر بود ($P< ۰/۰۰۰۱$)؛ همچنین اندازه نقاط در *(AgNORs)* ضایعات بدخیم از ضایعات خوش خیم بزرگتر بود. در هر صورت رنگ‌آمیزی *(AgNORs)* می‌تواند بعنوان روش کمکی قابل اعتماد برای افتراق توده‌های بدخیم از خوش‌خیم پستان بکار رود.

واژگان کلیدی: پستان، هیستولوژی، مناطق سازمان دهندهٔ هستک نقره دوست، سرطان

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه:

مناطق سازمان دهندهٔ هستک *(AgNORs)* در ساخت *RNA* ریبوزومال از *DNA* اهمیت وافری دارند. *RNA* ریبوزومال، ریبوزومها را ایجاد می‌کند که در نهایت باعث تشکیل پروتئینها می‌شوند. مناطق سازمان دهنده هستک شامل نوارها یا حلقه‌های *DNA* ریبوزومال هستند که موسوم به *Secondary constriction* می‌باشند؛ در انسان این نواحی روی بازوی کوتاه کروموزموهای اکروسنتریک ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۱ و ۲۲ قرار دارند (۱).

مناطق سازمان دهندهٔ هستک را می‌توان با اتصال یون نقره *(Ag^+)* به پروتئین های همراه آنها نمایان ساخت. این واکنش *(AgNOR)* نامیده می‌شود و مکانهای واکنش را *(AgNORs)* می‌نامند که بصورت دانه‌های منفرد یا متعدد سیاهرنگ در هستک قابل مشاهده‌اند (۴-۲).

پروتئینهای زیادی در مناطق سازمان دهندهٔ هستک وجود دارند مانند پروتئین *B23* ، *100 kda, 80 kda* ، *C23* ، فسفوپروتئین های *PP105* و *PP135* . بنظر میرسد اساس ایجاد اتصالات نقره جذب یونهای نقره توسط گروههای کربوکسیل، دی سولفید و سولفیدریل پروتئین‌ها باشد؛ ظاهراً هستک، توسط تنظیم فعالیت *RNA* پلیمراز۱، در تنظیم نسخه‌برداری *DNA* ریبوزومال دخالت دارد. اندازه *AgNOR* به میزان فعالیت نسخه‌برداری *DNA* ریبوزومال بستگی دارد. بنابراین هر چه اندازه مکانهای *AgNOR* بر روی کروموزومها بزرگتر باشد، فعالیت نسخه برداری آن بیشتر است و همچنین هر چه سلول تمایز نیافته تر باشد، تعداد مناطق سازمان دهنده هستک بیشتر می‌شوند (۴-۲).

مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که تعداد نقاط *AgNOR* در هستهٔ سلول ضایعات شدیداً بدخیم، بسیار بیشتر از انواع با بدخیمی کمتر است (۱ و ۲). این موضوع باعث کاربرد روش *AgNOR* در محدودهٔ وسیعی از مشکلات تشخیصی شد که اغلب نتایج مثبتی نیز بدست آمد. در مطالعات متعددی، رنگ‌آمیزی *AgNOR* در نسخ پارافینهٔ پستان بکار برده شد و در مجموع علیرغم همپوشانی *(Overlap)* در برخی مطالعات (۴ و ۵)، اختلاف آماری معنی‌داری بین ضایعات بدخیم و خوش‌خیم مشاهده گردید (۳-۱ و ۸-۶).

هدف مطالعهٔ ما، ارزیابی کاربرد روش *AgNOR* در هیستوپاتولوژی توده‌های پستان می‌باشد.

مواد و روشها:

از ۵۰ بلوک پارافینی توده‌های پستان (۳۰ عدد خوش خیم، ۲۰ عدد بدخیم) موجود در بخش پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان برشهای بافتی تهیه گردید و برای رنگ‌آمیزی مکانهای *AgNOR*، از روش رنگ آمیزی نقره *(Ploton)* استفاده شد. در هر مورد، بدون آگاهی از تشخیص، با بزرگنمایی ۱۰۰۰× میکروسکوپ، ۵۰ سلول بصورت اتفاقی انتخاب شد و تعداد *AgNOR* در هسته‌ها شمارش گردید. تفاوت بین گروهها با آزمونهای استیودنت تی، *ANOVA* و *Pairwise comparisons* تجزیه و تحلیل شد.

نتایج:

در ضایعات خوش خیم پستان، متوسط تعداد *AgNOR*، ۱/۷۹ در هسته (۳۰ نمونه) با انحراف معیار ۰/۳۹۶ و در ضایعات بدخیم متوسط *AgNOR*، ۴/۱۱

جدول ۱) مقایسه متوسط تعداد مناطق سازمان دهندهٔ هستک نقره دوست در ضایعات بدخیم و خوش خیم پستان در مطالعات گوناگون

	خوش خیم	بدخیم
کومار (۱)*	۱/۸۸±۰/۱۹	۶/۶۵±۱/۷۵
اسمیت (۶)	۵/۶±۱/۵	۱۳/۳±۹/۰
دروان (۳)	۴/۹±۱/۳	۱۳/۷±۱/۲
ریموند (۵)	۲/۱±۱/۳	۵/۵±۲/۳
مراد (۴)	–	۳/۰±۰/۶
یزادان پناه	۱/۷۹±۰/۳۹	۴/۱۱±۰/۹۱

* اعداد نشانگر شمارهٔ منبع می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

در هسته (۲۰ نمونه) با انحراف معیار ۰/۹۱۴ بود ($P<0/0001$).اما تعداد *AgNOR* شمارش شده در ضایعات خوش خیم فیبروآدنوم ۰/۳۸±۱/۸۳ (۲۴ نمونه) و فیبروسیستیک ۰/۴۵±۱/۶۳ (۶ نمونه) با یکدیگر تفاوت آماری نداشتند ($P> 0/05$).

اندازهٔ دانه‌های *AgNOR* را بر اساس قطر گلبولهای قرمز به سه گروه کوچک، متوسط و بزرگ طبقه‌بندی شدند که در بین ۳۰ نمونه خوش خیم، ۲۴ مورد اندازه کوچک، چهار مورد کوچک و متوسط و دو مورد کوچک و بزرگ یافت شد. در بین ۲۰ نمونه گروه بدخیم، چهار مورد *AgNOR* فقط بزرگ، ۳ مورد متوسط و ۱۲ مورد *AgNOR* کوچک و بزرگ (با برتری بزرگ) داشتند. در بین بررسی اختلافی بین ضایعات خوش خیم با دانه‌های *AgNOR* کوچک و ضایعات بدخیم با دانه‌های *AgNOR* بزرگ مشاهده شد ($P< 0/05$).

بحث:

سرطان پستان یکی از عوامل منجر به مرگ در زنان می‌باشد که تشخیص بموقع آن شانس بقای بیمار را بالا می‌برد. به علت مشکلات تشخیصی در روشهای رایج، متدهای تکمیلی مانند رنگ‌آمیزی *AgNOR* جذابیت ویژه‌ای پیدا کرده‌اند. این روش، در صورت وجود تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین تومورهای بدخیم و خوش خیم قابل استفاده‌تر خواهد بود.

تعداد *AgNORs* ارتباط مستقیم با میزان فعالیت تکثیری نئوپلاسم دارد (۲ و ۴). در مطالعات اخیر مطرح شده است که ممکن است علاوه بر تعداد *AgNOR*، ارزیابی اندازهٔ *AgNOR* نیز مفید واقع شود (۵). همچنین شمارش *AgNOR* با اندکس‌های فاز رشد، فلوسیتومتری *DNA* و پلوئیدی آن ارتباط مستقیم دارد. بنابراین تومورهای آنا‌پلوئید، تعداد *AgNOR* بیشتری دارند. اسمیت *(Smith)* و کروکر *(Crocker)* در سال ۱۹۸۸ متوجه شدند که تعداد *AgNORs* در برشهای هیستولوژیک ضایعات بدخیم پستان، بسیار بیشتر از پستان طبیعی یا حتی ضایعات خوش خیم پستان می‌باشد و تعداد *AgNOR* بخصوص در افتراق حالات خوش خیم مانند اسکلروزینگ آدنوزیس از کارسینومای مهاجم مفید است و می‌تواند در مشکلات تشخیصی در بررسی برشهای رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین، راه‌گشا باشد. برخی از مطالعات با روش رنگ‌آمیزی *AgNOR* بر روی برشهای بافتی توده‌های پستان، تفاوت آماری محسوسی در شمارش *AgNOR* بین ضایعات خوش خیم و بدخیم نشان دادند (۳-۱ و ۸-۶).

هر چند تعداد متوسط *AgNOR* هر گروه (خوش خیم و بدخیم) در مطالعات مختلف، متفاوت بود (جدول ۱). این اختلافات ممکن است بدلائلی مانند روشهای آماده سازی متفاوت، زمان نگهداری، استفاده از آب دیونیزه برای جلوگیری از رسوب، اختلافات فردی در شمارش *AgNOR* توسط میکروسکوپ نوری و غیره باشند. در مطالعهٔ ما نیز تعداد *AgNOR* بین دو گروه خوش خیم و بدخیم تفاوتی معنی دار داشت.

همانطور که در جدول (۱) مشاهده می‌شود نتایج مطالعات، تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین ضایعات خوش خیم و بدخیم پستان نشان می‌دهند. ولی در مورد استفاده از این روش بعنوان تنها راه تشخیص، اختلاف نظر وجود دارد و برخی از مطالعات همپوشانی بین دو گروه را گزارش نموده‌اند (۵-۴).

باسو و همکاران *(Basu)*. ارزشیابی شکل و اندازه *AgNOR* را در افتراق ضایعات خوش خیم و بدخیم مفید دانسته‌اند (۵). در مطالعه ما همچنین اندازه‌های کوچک و بزرگ دانه‌های *AgNOR* در ضایعات خوش خیم و بدخیم به نحو معنی‌داری متفاوت بودند.

در هر صورت، بر اساس مطالعهٔ ما و دیگران (۳-۱ و ۸-۶)، رنگ آمیزی *AgNORs* می‌تواند بعنوان روش کمکی قابل اعتمادی برای افتراق توده‌های بدخیم از خوش خیم پستان بکار رود.

www.SID.ir

Archive of SID

REFERENCES:

1. *Kumar A, Kumar-Kushwaha A, Kumar M, et al. Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions: Their value and correlation with clinical prognostic factors in breast carcinoma. J Surg Oncol 1997;65:201-204.*
2. *Subramanian S, Shariff S, Andrade C. AgNORs and their relationship to cell size, histological grade, lymph node involvement, metastases and survival pattern in carcinoma of the breast: A study from south India. J Sury Oncol 1996;62:139-143.*
3. *Dervan P, Gilmartin I, Loftus B, et al. Breast carcinoma kinetics: Argyrophilic Nucleolar Organizer Region count correlates with Ki67 Scores. Am J Clin Pathol 1989;92:401-407.*
4. *Mourad W, Erkman-Balis B, Livington S. Argyrophilic Nucleolar Region in breast carcinoma; correlation with DNA flow cytometry, histopathology and lymph node status. Cancer 1992;69:1739-1744.*
5. *Basu A, Sanyal S, Bhattaccharyya A, et al. A comparative study of Silver Binding Nucleolar Organizer Regions (AgNOR) of breast lesions in histological sections and fine needle aspiration smears. J Indian Med Assoc 1997;95:443-7.*
6. *Smith R, Crocker J. Evaluation of Nucleolar Organizer Regions Associated Proteins in breast malignancy. Histopathol 1998;12:113-125.*
7. *Kesari AL, Chellam VG, Nair PP, et al. Tumor proliferative fraction in infiltrating duct carcinoma. Gen Diagn Pathol 1997;143:219-24.*
8. *Dasgupta A, Ghosh RN, Sarkar R, et al. Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions (AgNORs) in breast lesion. J Indian Med Assoc 1997;95:492-4.*

www.SID.ir