

افتراق بین کارسینوم و هیپرپلازی ندولر پروستات با استفاده از رنگ آمیزی AgNOR

*دکتر عباسعلی امیدی **دکتر محمودرضا کلاتری

*دانشیار پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

**دستیار تخصصی پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

خلاصه

گرچه در بسیاری از موارد تمایز آدنوکارسینوم پروستات از هیپرپلازی آن آسان است، اما در موارد متعددی تمایز ضایعات خوش خیم از بدخیم، حتی توسط پاتولوژیست مجرب، به آسانی و با اطمینان مقدور نمی‌باشد. برای حل احتمالی این مشکل از رنگ آمیزی (Argyrophilic AgNOR) (Nucleolar Organizer Region) استفاده شده است.

برای انجام این پژوهش ۵۰ بلوک پارافینی آدنوکارسینوم پروستات و ۵۰ بلوک پارافینی هیپرپلازی پروستات انتخاب شده و پس از درجه بندی به روش گلیسون با روش AgNOR رنگ آمیزی گردید.

در هیپرپلازی پروستات تعداد متوسط نقاط AgNOR ۱/۳۵ عدد در هر سلول و در کارسینوم پروستات تعداد نقاط ۳/۷۷ عدد در سلول بود. هیپرپلازی پروستات ۱ تا ۲ نقطه NOR با حاشیه مشخص را نشان داد و در کارسینوم پروستات تعداد زیادی نقاط NOR نامنظم وجود داشت. در هیپرپلازی پروستات درصد سلولهایی که ۳ یا بیشتر نقطه NOR را نشان می‌دادند ۷/۴۶٪ و درصد سلولها با ۳ یا بیشتر نقطه NOR در آدنوکارسینوم پروستات ۷۲/۲۸٪ بود.

رنگ آمیزی AgNOR می‌تواند جهت تمایز آدنوکارسینوم پروستات از هیپرپلازی پروستات به کار گرفته شود. اما از این رنگ آمیزی ممکن است نتوانیم به عنوان یک اندکس قابل اعتماد برای درجه بندی آدنوکارسینوم استفاده نمائیم، چراکه در بعضی از موارد همپوشانی مشاهده شده است.

کلمات کلیدی: رنگ آمیزی AgNOR، کارسینوم پروستات، هیپرپلازی خوش خیم پروستات.

مقدمه

اگرچه در بسیاری از موارد تشخیص آدنوکارسینوم پروستات آسان است ولی در موارد متعددی تمایز آدنوکارسینوم از هیپرپلازی پروستات حتی توسط پاتولوژیست مجرب به سادگی و با اطمینان ممکن نیست. در این رابطه مجبوریم از روشهای دیگری نظیر ایمنوهیستوشیمی توسط کراتین با وزن مولکولی بالا مثل کلون 34-B-E12 جهت رنگ آمیزی سلولهای لایه بازال (۲۲ و ۶) و همچنین ارزیابی میزان پرولیفراسیون سلولی استفاده کنیم.

در سالهای اخیر مارکرهای متعددی برای نشان دادن فعالیت هسته جهت ارزیابی میزان پرولیفراسیون سلولی معرفی شده‌اند که شامل P53، پلوئیدی و محتوی معرفتی (آنتی ژن هسته‌ای سلول PCNA, Ki-67, AgNOR, DNA) در حال پرولیفراسیون هستند. از این میان رنگ آمیزی

AgNOR روش ساده و ارزان و دارای صحتی بیشتر از بسیاری روشهای دیگر است (۷).

هدف ما از این تحقیق ارزیابی توانایی روش ارزان و قابل دسترس رنگ آمیزی AgNOR در تمایز آدنوکارسینوم از هیپرپلازی پروستات می‌باشد. همچنین تلاش شد نتایج حاصله با درجه بدخیمی کارسینوم پروستات مقایسه شود.

NORS مناطقی از کروماتین می‌باشند که هستک ناپدید شده در جریان میتوز سلولی، در انتهای مرحله تلوفاز در اطراف آن تشکیل می‌شود (۷ و ۳). در انسان NORS روی بازوی کوتاه کروموزومهای آکروسنتریک یعنی کروموزومهای ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۱ و ۲۲ قرار دارند (۷). توسط روش هیبریداسیون درجا نشان داده شده است که NORS حاوی ژنهایی هستند که RNA ریبوزومی را کد

روش رنگ آمیزی

- ۱- برشهای بافتی به ضخامت ۴ - ۳ میکرون از بلوکهای پارافینی تهیه شد.
 - ۲- لامها در گزین دپارافینه شدند.
 - ۳- توسط محلول اتانول و آب مقطر هیدراته شدند.
 - ۴- محلول رنگ آمیزی AgNOR تازه تهیه شده روی لامها ریخته شد.
 - ۵- لامها به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۳۷ سانتی گراد انکوبه شدند.
 - ۶- با آب مقطر شستشو شدند.
 - ۷- به ترتیب درالکل ۷۰٪، ۹۶٪ و مطلق هریک به مدت دو دقیقه آگیری شده و در هوا خشک شدند.
- توجه: تمام ظروفی که بکار برده می شود باید کاملاً تمیز بوده و پس از شستشو با اسید، با آب مقطر سه بار تقطیر شده آبکشی شود.

طرز تهیه محلول رنگ آمیزی AgNOR

- ۱- ۵۰ گرم نیترا نقره را در ۱۰۰ ml آب مقطر حل می کنیم.
- ۲- دو گرم پودر ژلاتین را در ۱۰۰ ml آب مقطر با حرارت ملایم حل می کنیم، سپس ۱ ml اسید فرمیک غلیظ به آن اضافه می کنیم.
- ۳- ۱۰۰ ml از محلول (۱) را با ۵۰ ml از محلول (۲) مخلوط کرده بلافاصله بر روی اسلایدها می ریزیم.

روش ارزیابی

پس از رنگ آمیزی نواحی NOR به صورت نقاط سیاه مشخص داخل هسته ای نمایان می شوند و هسته ها رنگ قهوه ای روشن را به خود می گیرند (شکل ۸). اسلایدها توسط میکروسکوپ نوری با درشت نمائی $\times 1000$ به کمک روغن ایمرسیون مورد مطالعه قرار گرفتند. در هر نمونه ۱۰۰ سلول پوششی غددی به طور مجاورتی در چند میدان میکروسکوپی انتخاب شده و از نظر معیارهای زیر مورد توجه قرار گرفتند:

- ۱- تعداد متوسط نقاط رنگ گرفته با نقره در هسته.

می کنند (۷ و ۳). همچنین NORs حاوی پروتئینهای اسیدی نقره دوست است که دو پروتئین اصلی آن، پروتئین C23 یا نوکلئولین (nucleolin) و پروتئین B23 یا نماترین (nematin) می باشند. چون مولکولهای RNA محل اصلی سنتز پروتئین هستند، پیشنهاد شده است که تعداد و ویژگیهای NORs ممکن است منعکس کننده فعالیت هسته ای و سلولی باشد (۷) و به خاطر وجود پروتئینهای نقره دوست، NORs به طور واضح و سریعاً توسط رنگ آمیزی نیترا نقره با اسید فرمیک یا آمونیاک رنگ می گیرند (۷ و ۱۵).

پلوتون و همکارانش برای اولین بار روش AgNOR را برای بلوکهای پارافینی فیکس شده در فرمالین ابداع کردند (۲۱ و ۷) و سپس کروکر (Crocher) کاربرد این روش را در تشخیص پاتولوژی تومورها گزارش کرد (۷).

مواد و روش کار

نمونه ها

بلوکهای پارافینی از نمونه های بیوپسی سوزنی پروستات (FNA) و TURP و پروستاتکتومی باز (Enucleation) از ۱۰۰ بیمار از بخش پاتولوژی بیمارستان قائم و آزمایشگاههای خصوصی جمع آوری شدند. نمونه ها پس از برداشت در فرمالین ۱۰٪ فیکس شده بودند و شامل ۵۰ مورد آدنوکارسینوم پروستات و ۵۰ مورد هیپرپلازی ندولر بودند. همه نمونه ها مجدداً بازبینی شده و موارد آدنوکارسینوم بر اساس درجه بندی گلسیون تقسیم بندی شدند که نتایج به قرار زیر بود:

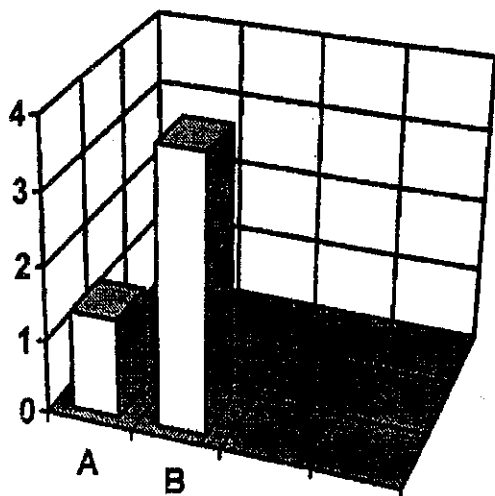
درجه ۱ (۳ مورد)، درجه ۲ (۹ مورد)، درجه ۳ (۱۶ مورد)، درجه ۴ (۱۳ مورد) و درجه ۵ (۹ مورد).

از هر بلوک دو لام تهیه شده که یکی به روش AgNOR و دیگری به روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند.

مواد اولیه برای رنگ آمیزی AgNOR

نیترا نقره، پودر ژلاتین، اسید فرمیک غلیظ، آب مقطر سه بار تقطیر شده، اتانول

- ۲- درصد سلول‌هایی که هسته آنها حداقل ۳ نقطه رنگ گرفته مجزا را نشان می‌دادند.
 ۳- مورفولوژی و اندازه نقاط رنگ گرفته با نقره.



نمودار ۱: تعداد متوسط AgNOR در سلول در ضایعات خوش خیم و بدخیم پروستات (A) هیپرپلازی ندولر پروستات (B) آدنوکارسینوم پروستات

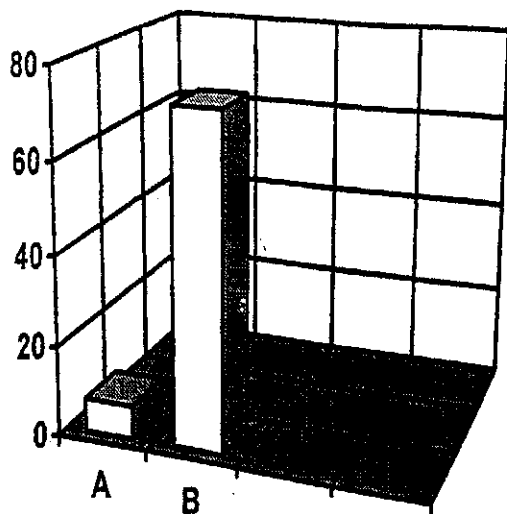
تذکر: مهمترین اشکال رنگ آمیزی رسوب رنگ در زمینه اسلاید می‌باشد که ممکن است با نقاط AgNOR اشتباه شود. برای جلوگیری از آن باید محلول رنگ آمیزی سه بار از صافی عبور داده شود.

نتایج

تعداد متوسط AgNOR و دامنه تغییرات آن در هسته در ضایعات مختلف در جدول ۱ و نمودارهای ۱، ۳ و ۵ نشان داده شده است.

هیچگونه همپوشانی در تعداد AgNOR بین BPH و آدنوکارسینوم پروستات وجود نداشت ولی دامنه تغییرات آن در ۵ گروه مختلف آدنوکارسینوم همپوشانی را نشان می‌داد (شکل ۵).

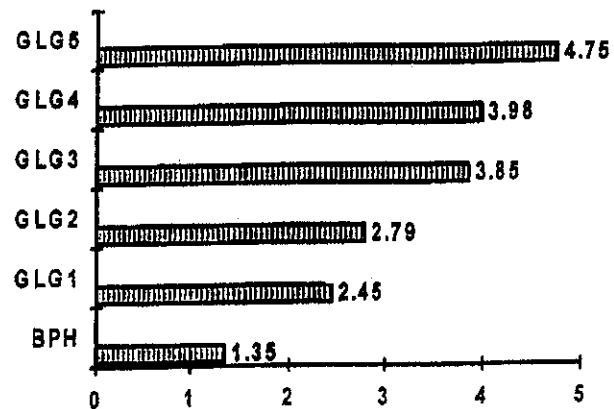
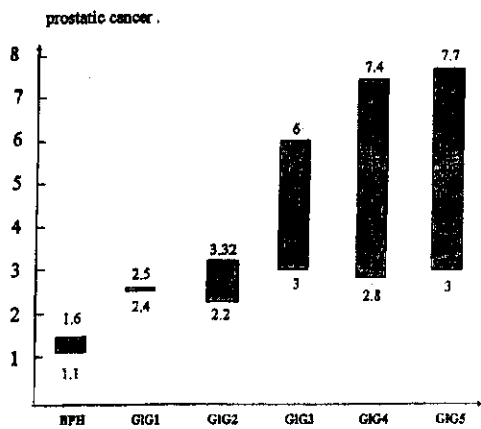
برای مقایسه تعداد متوسط AgNOR در هیپرپلازی پروستات و آدنوکارسینوم پروستات از آزمون t استفاده شد که با $P < 0.05$ اختلاف معنی دار وجود داشت.



نمودار ۲: درصد متوسط سلول‌هایی که هسته آنها حداقل سه نقطه AgNOR را نشان دادند (A) هیپرپلازی ندولر پروستات (B) آدنوکارسینوم پروستات

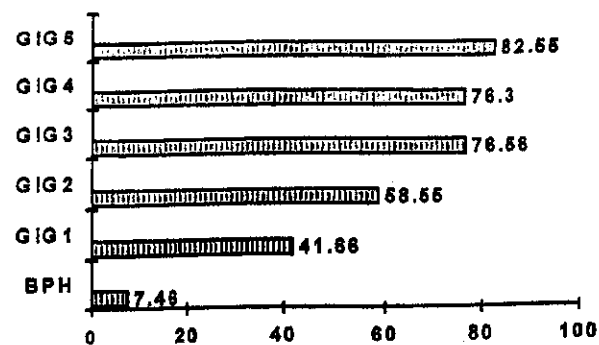
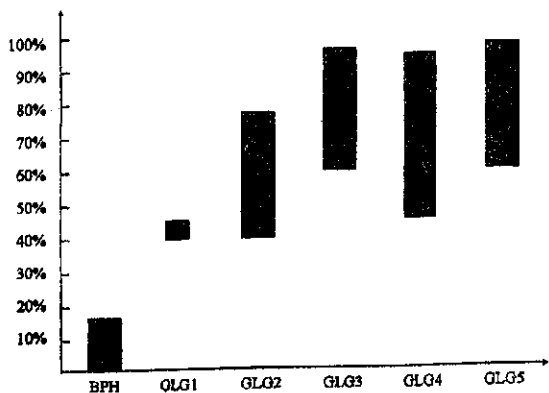
درصد متوسط سلول‌هایی که ۳ یا بیش از ۳ نقطه AgNOR را در هسته نشان دادند و دامنه تغییرات آن در ضایعات مختلف در جدول ۱ و نمودارهای ۲، ۴ و ۶ نشان داده شده است. هیچگونه همپوشانی در درصد سلول‌هایی که ۳ یا بیش از ۳ نقطه AgNOR را در هسته نشان می‌دادند بین هیپرپلازی پروستات و آدنوکارسینوم پروستات وجود نداشت ولی دامنه تغییرات آن در ۵ گروه مختلف آدنوکارسینوم همپوشانی را نشان می‌دادند.

نقاط AgNOR در هیپرپلازی پروستات، کوچک و با حاشیه منظم و یک شکل بودند (شکل ۱) در حالی که در آدنوکارسینوم پروستات بزرگ و نامنظم و پلنومورف و آتیپیک بودند و با افزایش درجه هیستولوژیک این تغییرات شدیدتر می‌گردیدند (شکل‌های ۲، ۳ و ۴).



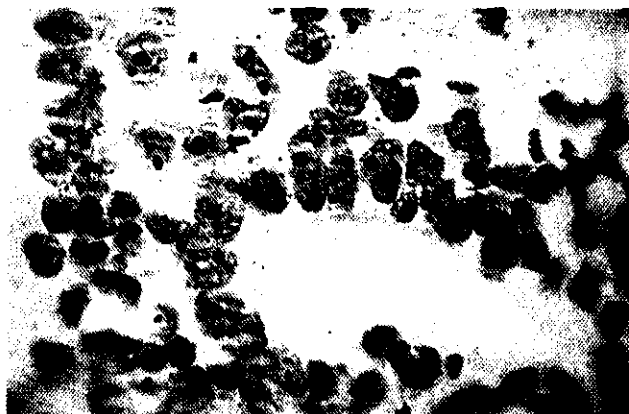
نمودار ۵: دامنه تعداد نقاط AgNOR در BPH و ۵ گروه آدنوکارسینوم پروستات براساس درجه بندی گلیسون (GLG)

نمودار ۳: مقایسه بین BPH و آدنوکارسینوم پروستات با درجه های مختلف براساس درجه بندی گلیسون (GLG) از نظر تعداد متوسط AgNOR در هسته

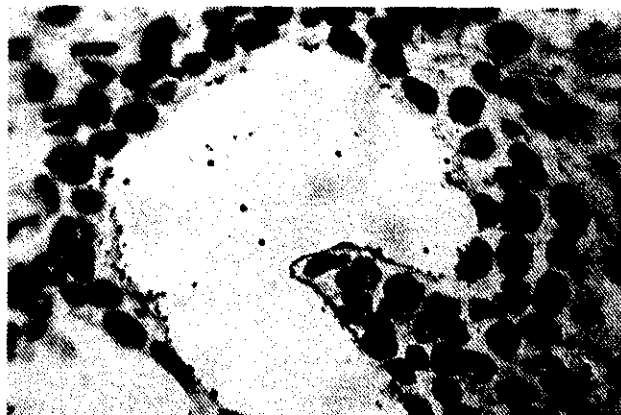


نمودار ۶: دامنه درصد متوسط سلولهایی که سه یا بیشتر نقطه AgNOR را در هسته نشان دادند، در BPH و ۵ گروه آدنوکارسینوم پروستات براساس درجه بندی گلیسون (GLG)

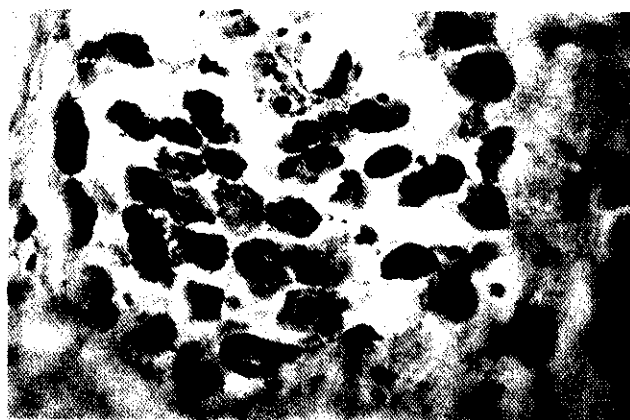
نمودار ۴: مقایسه بین BPH و آدنوکارسینوم پروستات با درجه های مختلف براساس درجه بندی گلیسون (GLG) از نظر درصد متوسط سلولهایی که سه یا بیشتر نقطه AgNOR را در هسته نشان دادند.



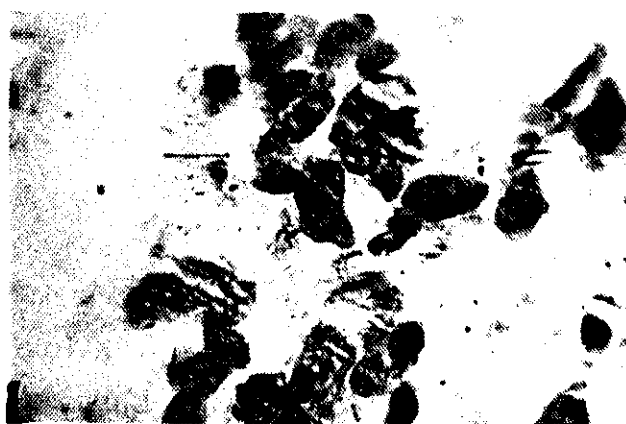
شکل ۳: آدنوکارسینوم پروستات GLG3. چندین نقطه AgNOR در هسته سلولها مشاهده می شود (رنگ آمیزی AgNOR، درشت نمائی ۱۰۰۰×).



شکل ۱: نمای میکروسکوپی یک هیپرپلازی خوش خیم پروستات. یک تا دو نقطه AgNOR کوچک و منظم در هسته سلولها مشاهده می شود (رنگ آمیزی AgNOR، درشت نمائی ۱۰۰۰×).



شکل ۴: آدنوکارسینوم پروستات GLG4. تعداد زیادی AgNOR درشت و نامنظم در هسته سلولها مشاهده می شود (رنگ آمیزی AgNOR، درشت نمائی ۱۰۰۰×).



شکل ۲: آدنوکارسینوم پروستات GLG2. دو تا سه نقطه AgNOR در هسته سلولها مشاهده می شود (رنگ آمیزی AgNOR، درشت نمائی ۱۰۰۰×).

جدول ۱: مورفولوژی، متوسط و دامنه تعداد نقاط AgNOR و همچنین متوسط و دامنه درصد سلولهایی که سه یا بیشتر نقطه AgNOR را در هسته نشان دادند.

گروه تشخیصی	تعداد موارد	متوسط نقاط AgNOR	دامنه تغییرات AgNOR	درصد متوسط	دامنه درصد	مورفولوژی
BPH	۵۰	۱/۳۵	۱/۱-۱/۶	٪۷/۴۶	٪۰-۱۸	کوچک منظم
آدنوکارسینوما	۵۰	۳/۷۷	۲/۲-۷/۲	٪۷۲/۲۸	٪۴۰-۹۶	متغیر
(همه موارد)	۳	۲/۴۵	۲/۴-۲/۵	٪۴۱/۶۶	٪۴۰-۴۵	کوچک
درجه ۱	۹	۲/۷۹	۲/۲-۲/۳۲	٪۵۸/۵۵	٪۴۰-۸۷	منظم - نامنظم کوچک و بزرگ
درجه ۲	۱۶	۳/۸۵	۳-۶	٪۷۴/۵۶	٪۶۰-۹۶	منظم - نامنظم بزرگ
درجه ۳	۱۳	۳/۹۸	۲/۸-۷/۴	٪۷۴/۳۰	٪۴۶-۹۶	منظم بزرگ
درجه ۴	۹	۴/۷۵	۳-۷/۷	٪۸۲/۵۵	٪۶۰-۹۷	نامنظم بزرگ
درجه ۵						نامنظم

بحث

کانسر پروستات شایعترین بدخیمی احشایی مردان را تشکیل می‌دهد و شیوع آن و همچنین شیوع هیپرپلازی پروستات با افزایش سن بیشتر می‌شود. گاهی تمایز تشخیص بین هیپرپلازی پروستات و آدنوکارسینوم پروستات به خصوص نوع خوب تمایز یافته آن بسیار مشکل است و این مشکل به ویژه در نمونه‌های بیوپسی سوزنی پروستات پیچیده‌تر می‌گردد.

هنگامی که با یک بیوپسی پروستات بحث انگیز مواجه می‌شویم برای افتراق آدنوکارسینوم از هیپرپلازی چه باید بکنیم؟ بسیاری از اوقات حتی چشمهای مجرب هم در این تمایز دچار تردید می‌شوند. بنابراین در چنین مواردی روشهای تشخیصی اضافه ضروری بنظر می‌رسد. این روشها شامل فلوسیتومتری، ایمنو هیستوشیمی و رنگ آمیزی AgNOR می‌باشد که مورد اخیر روشی ساده،

ارزان و در دسترس است. NORs مناطقی از کروماتین هستند که هستک در اطراف آنها تشکیل می‌گردد و حاوی ژنهای کدکننده RNA ریبوزومی می‌باشند (۷). تعداد AgNOR با سرعت رشد تومور مرتبط بوده و ممکن است کاربرد تشخیصی در تومورهای انسانی داشته باشد (۷). تعداد متوسط AgNOR در ۱۰۰ سلول منعکس کننده DNAploidy است (mAgNOR) و عقیده بر این است که درصد سلولهایی که تعداد نقاط بیش از مقدار معین را نشان می‌دهند منعکس کننده فعالیت پروليفراتیو سلولی است (PAgNOR) (۷) و به عقیده برخی از مؤلفین مطالعه AgNOR ارزش تشخیصی و پروگنوستیک بیشتری نسبت به فلوسیتومتری در پاتولوژی تومورها دارد (۲۳).
علل افزایش تعداد AgNOR قابل مشاهده در هسته در

نمونه‌های برونش (۷) و بین سلولهای بدخیم (متاستاتیک و مزوتلیوما) و سلولهای مزوتلیال راکتیو در مایع پلور مشاهده نشده است (۷) و بالاخره بر ارزش تشخیصی و پروگنوستیک AgNOR در کارسینوم کولورکتال نیز تاکید شده است (۲۴ و ۸).

مطالعات متعدد و مستقل ضایعات پروستات اختلاف مشخصی را در تعداد AgNOR بین هیپرپلازی و کارسینوم پروستات نشان دادند و نقش این روش را در تمایز بین این دو ضایعه مشخص کردند (۳، ۹، ۱۰، ۱۴، ۱۶، ۱۷ و ۱۹). همچنین رنگ آمیزی AgNOR برای افتراق بین کانسر پروستات با درجه هیستولوژیک بالا از درجه پائین نیز مفید بوده است. بیان شده است که تعداد AgNOR به طور مشخص با درجه بندی گلسیون مرتبط است و بنابراین شمارش AgNOR می‌تواند به عنوان مارکری برای تمایز تومور و در نتیجه اندکس پروگنوستیک به حساب آید (۳، ۵، ۱۹ و ۲۰).

اما چند مطالعه، همپوشانی قابل توجهی را در شمارش AgNOR بین BPH و آدنوکارسینوم و بنابراین عدم کاربرد آنها برای افتراق این دو ضایعه از یکدیگر گزارش کردند (۱ و ۴). ولی مطالعات دیگر نشان داد که این تناقض می‌تواند ناشی از نحوه فیکساسیون باشد. در برداشتهای بزرگی که بعلت اندازه بزرگشان بخوبی فیکس نشده بودند مناطق رنگ پذیر NORs کاهش یافته و یا حتی منفی بود، در مقابل نمونه‌هایی که برای برشهای یخ زده تهیه شده بودند و یا نمونه‌های کوچک، رنگ پذیری خوبی را نشان می‌دادند (۷ و ۲۳).

در مطالعه ما تعداد متوسط AgNOR در ۱۰۰ سلول (mAgNOR) و درصد سلولهایی که ۳ یا بیش از ۳ عدد AgNOR را در هسته خود نشان می‌دادند (pAgNOR) در آدنوکارسینوم پروستات، به طور مشخص بیش از هیپرپلازی پروستات بود. همچنین از نظر مورفولوژی AgNORs در سرطان پروستات بزرگتر و نامنظم تر بودند، در مقابل نقاط AgNORs در هیپرپلازی کوچک و منظم

سلولهای ثنوپلازیک عبارت است از:

۱- افزایش تقاضا برای بیوژنز ریبیوزومی که مشخصه سلولهای درحال تقسیم است. در این حالت نوکلئول باز شده و منجر به قابل مشاهده شدن AgNORهای منفردی که قبلاً متراکم بودند می‌شود (۷).

۲- افزایش تعداد کروموزومهای آکروسنتریک حامل NOR که با افزایش تعداد کلی تعداد کروموزومها مرتبط است. حضور مقادیر بالای NOR اینترفاز در سلولهای سرطانی ممکن است نتیجه حالت هیپر دیپلوئیدی باشد، در واقع هیپر دیپلوئیدی شایعترین تغییر در تعداد کروموزومهای سلولهای بدخیم است (۷).

۳- مطالعات مختلف نشان دادند که حالت تقسیم مداوم ممکن است مسئول تعداد بیشتر AgNOR اینترفاز باشد. تعداد AgNOR به طور پیشرونده از فاز G1 به S افزایش می‌یابد (۷).

از نظر تئوری سلولهای ثنوپلازیک ممکن است یک یا همه حالت‌های ذکر شده را نشان دهند، بنابراین تعداد AgNOR بیشتری را بروز خواهند داد (۷). مطالعه تومورهای مختلف این تئوری را ثابت کرده است. برای مثال: مطالعه سرطان پستان نشان داد که AgNOR نه تنها در تشخیص سرطان کمک کننده است، بلکه می‌تواند یک ابزار مفید برای تعیین پیش آگهی بیماری نیز باشد. بدین ترتیب که هرچه تعداد AgNOR در تومور اولیه بیشتر باشد و از نظر مورفولوژی نامنظم تر و بدشکل تر باشد، متاستاز به گره لنفاوی گسترده تر شده و پیش آگهی بدتر می‌شود (۷ و ۱۸).

این روش همچنین برای تمایز ضایعات خوش خیم از بدخیم دیگر نیز بکاربرده شده است برای مثال تمایز آدنوم فولیکولر تیروئید از کارسینوم فولیکولر (۱۳ و ۲۳)، تمایز سیروز از HCC (۱)، تمایز ضایعات خوش خیم از بدخیم در مخاط دهان (۲۵) و مثانه (۱۲) و تمایز هیپرپلازی آندومتر از ثنوپلاسم آن (۷). همچنین هیچگونه همپوشانی بین انفیلترای لنفوسیتی و کارسینوم Oat cell انفیلتره در

- pathology, Damjanov I., 10th Ed, Mosby, U.S.A, 1996, 2203 - 2222.
7. Derizini M., Sirri V., Tere D., 1994, Nucleolar organizer region in tumor cell, *The Cancer J.*, 7(2): 70-77
 8. Eminovic Behrem S., Trobonjaca Z., Petrovecki M., 2000, Prognostic significance of DNA ploidy pattern and AgNORs in colorectal carcinoma, *Croat Med. J.*, 41(2): 154 - 8.
 9. Hansen A. B., Ostergard B., 1990, Neucleolar organizer region in hyperplastic and neoplastic prostatic tissue, *Virch Arch [A]*, 417: 9 - 13.
 10. Helpap b., Riede C., 1995, NORs in low and high grade carcinomas of prostate, *World J., Urol.*, 13(3): 195 - 9.
 11. Jain R., Malhotra V., Kumar N., Sarin S. K., 1998, NORs in cirrhosis and hepatocellular carcinoma, *Gasteroenterol.*, 19(3): 100 - 1.
 12. Jinza S., Iki M., Noguchi S., 1996, AgNOR staining of cell imprint preparation of human bladder cancar, *Acta Cytol.*, 40(6): 1159 - 64.
 13. Kawasaki F., Odonon N., Ishikawa T., Ogava Y., 2000, Evaluation of AgNOR in differentiated Thyroid carcinoma as an indicator for disease recurrence, *Oncol. Rep.*, 7(4):853 - 7.
 14. Kawase N., Shiokawa A., Ota H., 1994, NORs and PCNA expression in prostatic cancar, *Pathol. Int.*, 44(3): 213 - 22.
 15. Lohr C. V., Driemeier D., Teifke J. P., 1995, Ployethylenglycol - Thiosulfate (PEG - Th) staining - a modification of the AgNOR method, *Zentralbl Pathol.*, 140(6): 465 - 8.
 16. Liyod S. N., Johnson C. P., Brown I. L., Kirk D., 1991, NORs in benign and malignant prostatic disease, *Histopathology*, 18(5): 449 - 52.
 17. Mamaeva S., Lundgren R., Elfying P., Limon J., 1991, AgNOR staining in benign hyperplasia and carcinoma of the prostate, *Prostate*, 18(2) : 155 - 62.
 18. Mourad W. A., Setrakian S., Hales M. L., 1994, The AgNOR in ductal carcinoma in situ of the breast, *Cancer*, 74(6): 1739 - 45.
 19. Ohki T., Akakura K., Ueda T., 1996, Change in histologic grade and AgNORs during progression of prostatic cancer, *Japen J. Clin. Oncol.* 26(12): 82 - 7.

بودند (شکل ۱).

همچنین اندکسهای فوق به تناسب افزایش درجه هیستولوژیک (از درجه ۱ تا ۵) افزایش و تشدید می‌یافت (شکل‌های ۲، ۳ و ۴). دامنه تعداد AgNOR و دامنه درصد سلول‌هایی که ۳ یا بیش از ۳ عدد AgNOR را در هسته خون نشان می‌دادند در ۵ گروه مختلف درجه هیستولوژیک همپوشانی را نشان می‌دادند ولی هیچگونه همپوشانی بین آدنوکارسینوم پروستات و هیپرپلازی پروستات وجود نداشت (نمودار ۵ و ۶).

تعداد AgNOR با محتوای DNA و سرعت رشد سلولی در ارتباط است و ممکن است مارکر بالقوه پرولیفراسیون سلولی و احتمالاً مارکری برای دیفرانسیاسیون سلولی باشد. مطالعه ضایعات پروستات و تومورهای دیگر این موضوع را تأیید کردند. بنابراین روش AgNOR ممکن است یک تکنیک ساده و ارزان برای افتراق آدنوکارسینوم از هیپرپلازی پروستات و همچنین تعیین میزان تمایز آدنوکارسینوم پروستات باشد.

References

1. Ahiskali R., Alican Y., 1995, Evaluation of three different AgNOR counting method in advanced carcinoma of the prostate, *Prostate*, 26(2): 105-10.
2. Biol J., 1991, Acinic cell carcinoma of salivary gland histoprognosis, value of NORs stained with AgNOR technique and examined with semi - automatic image analysis, *Buccale*, 19(3) : 205 - 10.
3. Botticelli A. R., Marandola P., Jallous H., 1995, Quantitative and qualitative AgNORs rates of prostatic cancer on needle core biopsies"; *Pathologica*, 87: 624 - 30.
4. Chevillie J. C., Clamon G. H., Robinson R. A., 1990, Silver stained NORs in the differentiation of BPH and adenocarcinoma, *Mod. Pathol.*, 595-8.
5. Chiusa L., Galliano D., Formiconi F., 1997, High and low risk prostatic carcinoma determined by histologic grade and proliferative activity, *Cancer*, 79(10) : 1956 - 63.
6. David G., Bostwick, Mahul B-Amin In Anderson's

- cell neoplasm of the thyroid, *American J. Surgical Pathology*, 17(2): 1281 - 88.
24. Sugai T., Nakamura S. I., Habano W., Vesugi N., 1999, Usefulness of proliferative activity, DNA ploidy pattern and p53 products as diagnostic adjuncts in colorectal carcinomas and intramucosal carcinoma, *Pathol. Int.*, 49(7): 617 - 25.
25. Xie X., Clausen O. P., Sudbu J., Boysen M., 1997, Diagnostic and prognostic value of NORs in normal epithelium, dysplasia and S.C.C. of the oral cavity, *Cancer*, 79(11): 2200 - 8.
20. Pich A., Chiusa L., Margaria E., 2000, Prognostic relevance of AgNOR in tumor pathology, *Micron* 3(2) : 133 - 41.
21. Ploton D., Menager M., Jeannenson P., 1986, Improvement in the staining and in the visualization of the argiophilic protein of the nucleolar organizer region at the optical level, *Histochem. J.*, 18(5-14).
22. Rosai J., *Akerman's surgical pathology*, 8th Ed, Mosby, U.S.A, 1996, 1221 - 1246.
23. Ruschoff J., Prasser C. H., Cortez T., 1993, Diagnostic value of AgNOR staining in follicular