Archive of SID

دوره ی دوم/ شماره ی ۳/ بهار ۱۳۸۳

اهمیت تعیین میزان دی ان آ در تعیین پیش آگهی تومورهای بافت نرم

چکیده

مقدمه: در مقایسه با کارسینوم ها، سارکوم های بافت نرم، تومورهایی مهاجم تر هستند و میزان مرگ و میر در آنها بیشتر است. درجه بندی (گریدینگ)، یکی از مهم ترین عوامل مشخص کننده رفتار تومورهای بدخیم است. امروزه، باور بر این است که، باید افزون بر درجه بندی، از عوامل دیگر هم برای تعیین پیش آگهی تومورها بهره گرفت. هدف از بررسی کنونی، مقایسه ی وضعیت پلوییدی و نیز، تعیین میزان دی ان آ (DNA) در سارکوم های بافت نرم، تومورهای خوش خیم و ضایعات غیر توموری این ناحیه و نیز، مشخص کردن اهمیت این روش در رابطه با رده بندی سارکوم های بافت نرم است. **روش کار:** پنجاه و دو مورد تومور بافت نرم، در بردارنده ی ۳۴ مورد سارکوم و ۱۸مورد تومورهای خوش خیم و ضایعات غیر توموری گرد آوری گردید. نمونه های آسیب شناسی دوباره بررسی و تشخیص پایانی داده شد. تومورهای بدخیم بافت نرم با روش FNCLCC درجه بندی شد. در مرحله ی دیگر، بر روی بهترین اسلاید هر ضایعه، میزان دی ان آ، به وسیله ی دستگاه فلوسیتومتری مشخص گردید. داده ها گرد آوری و واکاوی شدند و میزان دی ان آ ، S-Phase Fraction و رده بندی تومورهای بدخیم بافت نرم مقایسه شد. **یافته ها:** از ۱۸ مورد ضایعات خوش خیم بافت نرم و غیر توموری، ۱۲مورد، از نظر اندازه ی دی ان آ دیپلویید بودند. یک مورد لنفانژیوم، یک مورد همانژیوم درون ماهیچه ای و یک مورد هیستیوسیتوم فیبروی آتی پی کال، هیپردیپلوییدی نشان دادند. در حالی که، یک پاراگانگلیوم و دو مورد گرانولار سل تومور، تتراپلویید بودند. میانگین S-Phase Fraction در تومورهای خوش خیم دیپلویید، ۲۳/۹ درصد و برای آناپلویید ها، ۴۱/۵ درصد بود. در حدود یک سوم سارکوم های بافت نرم، دیپلویید و دیگران، آناپلویید بودند. میانگین S-Phase Fraction برای سارکوم های دیپلویید، ۲۳ درصد و برای آناپلویید ها، ۴۲ درصد مشخص گردید (Cut-off Value برابر با ۲۰). هیچ گونه رابطه ای میان آناپلوییدی، رده بندی، وضعیت پلوییدی و تمایز

دکتر سیمین ترابی نژاد*،
دکتر بهرام کرمی**،
*دانشیار گروه آسیب شناسی،
**متخصص آسیب شناسی،
دانشگاه علوم پزشکی شیراز

نویسنده مسوول:
دکتر سیمین ترابی نژاد
شیراز، دانشکده پزشکی،
دفتر بخش آسیب شناسی
تلفن: ۰۷۱۱-۲۳۰۵۸۸۴
E-mail:
torabins@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

تومور دیده نشد. S-Phase Fraction به گونه ای چشمگیر با بالا رفتن درجه تومور در ارتباط بود (p=۰/۰۰۱).
نتیجه: تعیین میزان دی ان آ در تومورهای بافت نرم روش غیر قابل اعتماد برای تعیین پیش آگهی است، اما میزان S-Phase Fraction عاملی مهم در تعیین پیش آگهی و در رابطه با درجه تمایز تومور است.
کلید واژه ها: نئو پلاسم بافت نرم، سارکوم، فلوسیتومتری، پلوییدی، S فاز فراکشن، رده بندی

مقدمه

تومورهای خوش خیم و بدخیم بافت نرم، از نظر انواع بافت شناختی و نیز رفتار بالینی بسیار گوناگون هستند. تقسیم بندی آسیب شناختی این تومورها، برپایه ی همسانی ریخت شناختی (مورفولژیک) آنها به بافتی که از آن سرچشمه گرفته اند، می باشد[۱]. سارکوم های بافت نرم کمیاب بوده و به همین سبب، مشخص کردن عوامل تعیین کننده ی پیش آگهی و نیز، تصمیم برای درمان مناسب، به راحتی انجام پذیر نیست.

میزان بقاء کلی و مدت زمان نبود متاستاز تا حدی زیاد به اندازه ی تومور و درجه ی تمایز بافتی تومور مربوط می گردد [۳،۲]. گرچه رده بندی در سارکوم های بافت نرم هنوز در همه مراکز یکسان انجام نمی پذیرد، اما تعیین آن در هر صورت، به طور قطعی در برگزیدن شیوه ی درمان دخالت مستقیم دارد [۵،۴].

مشخص کردن شاخص های جدید برای تعیین پیش آگهی سارکوم های بافت نرم ضروری است. تعیین میزان دی ان آ به وسیله ی دستگاه فلوسیتومتری، در تعیین پیش آگهی تومورهایی مانند پستان و پروستات انجام شده و اهمیت آن به اثبات رسیده است، اما بررسی هایی اندک در رابطه با سارکوم های بافت نرم وجود دارد [۲].

هدف این بررسی، تعیین اندازه ی دی ان آ و واکاوی دی ان آ پلوییدی در شماری از تومورهای خوش خیم و بد خیم بافت نرم و مقایسه ی این داده ها با رده بندی بافت شناختی است.

مواد و روش

پنجاه و دو مورد تومور بافت نرم در فاصله ی میان سال های ۱۳۷۶ تا ۱۳۸۱ از بخش آسیب شناسی سه بیمارستان وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شیراز گرد آوری شدند. از میان این ضایعات، ۱۸ مورد تومور خوش خیم بافت نرم و ضایعات غیر توموری این منطقه (شامل دو مورد گرانولار سل تومور، دو مورد میکزوم و نوروفیبروم، لیپوم، رابدومیوم، گانگلیونوروم، هیبرینوم، نوروم، لنفانژیوم، همانژیوم داخل ماهیچه، هیستیوسیتوم فیبرو آتی پی کال، فیبروم، پاراگانگلیوم، تومور کاذب التهابی، شوانوم و فیبروماتوز هر کدام یک مورد) و ۳۴ مورد سارکوم بافت نرم انتخاب گردید (جدول ۱). سارکوم های بافت نرم (تومورهای بدخیم)، برپایه ی شیوه رده بندی FNCLCC، به سه رده بخش شدند [۶].

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: تشخیص بافت شناختی در ۳۴ ضایعه ی بد خیم بافت نرم

تشخیص	شمار موارد	درجه ی یک	درجه ی دو	درجه ی سه
هیستیوسیتوم فیبرو بد خیم	۷	۱	۴	۲
لیپوسارکوم	۷	۴	۳	۰
فیبرو سارکوم	۳	۲		۱
تومور بد خیم اعصاب محیطی	۳		۲	۱
سارکوم کاپوزی	۳	۳		
رابدو میوسارکوم آلولار	۳		۳	
درماتوفیبروسارکوم پروتوبرانس	۲	۲		
همانژیو پری سیتوم	۲		۱	۱
آنژیو سارکوم	۱		۱	
لیومیو سارکوم	۱	۱		
سارکوم سلول روشن	۱		۱	
پاراگانگلیوم متاستاتیک	۱	۱		

سارکوم های بافت نرم (تومورهای بدخیم)، برپایه ی شیوه رده بندی FNCLCC، به سه رده بخش شدند [۶].

تمایز سلول های توموری، شمارش میتوز و بود یا نبود نکروز، شاخص های به کار رفته در این سامانه هستند و رده بندی، برپایه ی هشت نمره، شامل ۳، ۳ و۲ نمره، به ترتیب، برای هر یک از شاخص های تمایز سلول های توموری، شمارش میتوز و نکروز انجام گرفت (جدول ۲).

در مرحله ی دیگر، برای تعیین میزان دی ان آ، از گویاترین قطعات پارافینی، که دارای بیشترین و بهترین بخش تومور بود، استفاده شد. برش های فراوان به ضخامت ۲۵ تا ۵۰ میکرومتری از بلوک های پارافینی ضایعات فراهم و در لوله های پلاستیکی ویژه ی آزمایشگاهی ۷۰ میلی متری قرار داده شد. برای آماده سازی بافت در مشخص کردن میزان دی ان آ، از معروف ترین و قابل استفاده ترین روش، که به وسیله ی هیدلی [۷] توصیف شده است، استفاده شد.

برپایه ی این روش، در چندین مرحله ی گوناگون، که به ترتیب، شامل دپارافینه کردن، آب دهی دوباره، هضم آنزیمی، فیلتراسیون، هضم آر ان آ و رنگ آمیزی با پروپیدیم آیدین فلوروکروم (به عنوان رنگ مشخص کننده ی دی ان آ) بود، بافت ها برای بررسی میزان دی ان آ آماده گردید.

بررسی فلوسیتومتری دی ان آ به وسیله ی دستگاه فلوسیتومتر (Coulter Epics Profile FACSCAN II) دارای لامپ آرگون که برای

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: تعریف شاخص های استفاده شده در سامانه ی رده بندی FNCLCC

تمایز سلول های توموری	
نمره ی یک	سلول ها کاملا همانند با بافت مزانشیمی طبیعی
نمره ی دو	سارکوم با نوع بافت شناختی مشخص
نمره ی سه	سارکوم با سلول های جنینی یا غیر تمایز یافته با بافت غیر مشخص
شمارش میتوز	
نمره یک	۹ تا ۱۰ در ده دامنه با بزرگنمایی بالای میکروسکوپ
نمره دو	۱۰تا ۱۹ در ده دامنه با بزرگنمایی بالای میکروسکوپ
نمره سه	بیشتر از ۲۰ در ده دامنه با بزرگنمایی بالای میکروسکوپ
نکروز تومور(میکروسکوپی)	
نمره ی یک	نکروز
نمره ی دو	برابر یا کمتر از ۵۰ درصد نکروز
نمره ی سه	بیشتر از ۵۰ درصد نکروز
درجه ی بافت شناختی	
درجه ی یک	جمع نمره = ۲ و۳
درجه ی دو	جمع نمره = ۴ و۵
درجه ی سه	جمع نمره = ۶ و۷ و ۸

تهییج (Excitation) و امیسیون (Emission) از طول موج های، به ترتیب، ۴۸۸ و ۶۸۰ نانو متر استفاده می کرد، انجام شد. این دستگاه از لنفوسیت های طبیعی انسان، به عنوان استاندارد درونی دیپلوییید استفاده می کند.

دستگاه نامبرده، اندازه گیری میزان دی ان آ سلولی را، دست کم بر روی 10^4 سلول انجام داده و یافته ها را به صورت منحنی نمایان می سازد. اوج (Peak) نخست، که به G0/G1 مربوط است، به عنوان مرحله ی دیپلوییید در مرحله ی استراحت در نظر گرفته می شود. یافته ها ی اندازه گیری، به صورت بافت نگاری نشان داده می شود، که از کانال هایی استفاده می کند، که برای سلول های در اوج مرحله ی دیپلوییید و تتراپلوییید در نظر گرفته شده است. جمعیت سلولی، که بیرون از این دو کانال قرار می گیرند، به عنوان آناپلوییید در نظر

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳ : وضعیت پلوییدی بر پایه ی اندکس DNA

وضعیت پلوییدی	گروه یک	گروه دو
هیپودیپلویید	۰	۰
دیپلویید	۱۲	۱۰
نزدیک به دیپلویید	۱	۱۰
هیپوتتراپلویید	۲	۱۰
تتراپلویید	۳	۴
هیپرتتراپلویید	۰	۰

گرفته می شوند. نسبت سلول هایی که در مرحله ی G0/G1، S و G2/M چرخه ی سلولی قرار دارند، محاسبه می گردند. برای تومورهایی که اندازه ی دی ان آ بسیار بالا برای آنها نشان داده می شد، بررسی دوباره انجام می گرفت. شاخص دی ان آ DNA Index (DI) در جمعیت سلول ها، با استفاده از نسبت میزان دی ان آ توموری، اوج G0/G1 بر میزان سلول های طبیعی اوج G0/G1 محاسبه می گردید.

هیستوگرام های دی ان آ، برپایه ی DI، به پنج زیر گروه، دسته بندی شد. این زیر گروه ها، به ترتیب، شامل هیپودیپلویید (DI<1)، دیپلویید (DI=1)، نزدیک دیپلویید (Near Diploid، 1.05<DI<1.3)، هیپوتتراپلویید (1.3<DI<1.9)، تتراپلویید (1.9<DI<2.05) و هیپرتتراپلویید (DI>2.05) بودند [۹،۸].

اس فاز فراکشن (S Phase Fraction = SPF)، نشان دهنده ی توزیع Rectangular میان اوج G1 و G2 مشخص می گردید [۱۰]. رابطه ی میان داده های فلوسیتومتری و بافت شناختی به وسیله ی آزمون های آماری مربع کای، Kruskal-Wallis، مان ویتنی، Wilcoxan's Rank Sum Tests و فیشر مشخص گردید.

یافته ها

پنجاه و دو مورد ضایعات بافت نرم، به گروه یک، شامل تومورهای خوش خیم و ضایعات غیر توموری و گروه دو، شامل سارکوم ها بخش شدند. تشخیص های بافت شناختی، به تأیید دو متخصص آسیب شناسی رسید که در جدول یک مشخص شده است.

در بررسی ۱۸ مورد (۳۴/۶ درصد) تومورهای خوش خیم و غیر توموری، ارزیابی وضعیت پلوییدی آنها و مقایسه ی آن با سارکوم ها انجام گرفت. دوازده مورد (۶۷ درصد) دیپلویید بودند، که DI در همه ی۱۲ مورد انجام شد. در شش موردی که دیپلویید نبودند، یک مورد، همانژیوم درون ماهیچه ای نزدیک دیپلویید با DI=۱/۲۹۶ وجود داشت. دو مورد، شامل یک مورد هیستیوسیتوم فیبرو آتی پی کال و یک مورد لنفانژیوم، هیپوتتراپلوییدی با DI، به ترتیب، ۱/۴۹۷ و ۱/۴۴۹ مشاهده گردید. سه مورد دیگر، شامل یک مورد پاراگانگلیوم و دو مورد تومور گرانولار سل، تتراپلوییدی نشان دادند. جدول ۳ وضعیت پلوییدی گروه یک و دو را نشان می دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٤: تومورهای بدخیم با رده بندی گوناگون و رابطه با وضعیت پلوییدی

درجه ی بافت شناختی / شمار (درصد) / وضعیت پلوییدی	درجه ی یک	درجه ی دو	درجه ی سه	جمع
دیپلویید	۴ (۳۳)	۶ (۵۰)	۲ (۱۷)	۱۲ (۳۵)
آناپلویید	۱۰ (۴۵/۵)	۹ (۴۰/۹)	۳ (۱۳/۶)	۲۲ (۶۵)
جمع	۱۴ (۴۱)	۱۵ (۴۴)	۵ (۱۵)	۳۴ (۱۰۰)

در گروه دو، سی و چهار مورد سارکوم های بافت نرم بررسی شدند. بیشترین تومورهای این گروه، به ترتیب، هیستوسیتوم فیبرو بدخیم (۲۰ درصد)، لیپوسارکوم (۲۰ درصد)، فیبروسارکوم (۹/۵ درصد) و تومور بدخیم پرده ی عصب محیطی (۹/۵ درصد) بودند. همه ی سارکوم ها، برپایه ی دستگاه رده بندی FNCLCC، رده بندی شدند. چهارده مورد (۴۱ درصد)، در درجه (گرید) یک، پانزده مورد (۴۴ درصد)، در درجه دو و پنج مورد (۱۵ درصد)، در درجه سه قرار داشتند. از سی و چهار مورد سارکوم، ۱۰ مورد (۲۹ درصد)، دیپلویید و بیست و چهار مورد دیگر (۷۱ درصد)، آناپلویید بودند (جدول۳ و ٤).

مقایسه ی وضعیت دی ان آ پلوییدی و رده بندی بافت شناختی، رابطه ای معنی دار میان این دو شاخص نشان نداد ($p=۰/۵۸۲$).

میانگین شمار میتوز در سارکوم های آناپلوییدی ۶ در ۱۰ فیلد بالای میکروسکوپ در مقایسه با ۵ در۱۰ فیلد بالای میکروسکوپ سارکوم های دیپلویید بود، که تفاوتی چشمگیر در میان آنها

جدول ۵: مقایسه ی سارکوم ها از نظر تمایز سلول های توموری و وضعیت پلوییدی

تمایزتوموری / وضعیت پلوییدی	درجه ی یک شمار (درصد)	درجه ی دو شمار (درصد)	درجه ی سه شمار (درصد)	جمع شمار (درصد)
دیپلویید	۴ (۳۳)	۳ (۲۵)	۵ (۴۲)	۱۲(۳۵)
آناپلویید	۲ (۹)	۱۵ (۶۸)	۵ (۲۵)	۲۲ (۶۵)
جمع	۶ (۱۷)	۱۸ (۵۳)	۱۰(۳۰)	۳۴ (۱۰۰)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٦: مقایسه ی ضایعات خوش خیم و سارکوم ها برپایه ی SPF

SPF / بافت شناسی	طبیعی شمار (درصد)	افزایش یافته شمار (درصد)	جمع شمار (درصد)
خوش خیم	۶ (۳۳)	۱۲ (۶۶/۶)	۱۸ (۳۴/۶)
سارکوم	۶ (۱۷/۶)	۲۸ (۸۲/۴)	۳۴ (۶۵/۴)
جمع	۱۲ (۲۳)	۴۰ (۷۷)	۵۲ (۱۰۰)

مشاهده نمی شد. در سارکوم ها، ارزیابی میان تمایز سلول های توموری بر پایه ی رده بندی FNCLCC و پلوییدی آنها نشان داد که، با این که شماری بیشتر از موارد با درجه های یک و دو، وضعیت آناپلویید داشتند (۸۱ درصد)، در مقایسه با سارکوم های دیپلویید، که در ۶۷ درصد آنها، چنین درجه هایی دیده می شد، از نظر آماری معنی دار نبود (p=۰/۹۸۵) (جدول ۵).

بررسی چرخه ی سلولی بر روی همه ی موارد انجام شد. Cut Off Value برای SPF، ۲۰ محاسبه گردید. شش مورد (۱۷/۶ درصد) از سارکوم ها، SPF طبیعی داشتند، در حالی که، بیست و هشت مورد (۸۲/۴ درصد)، افزایش آن را نشان دادند. سارکوم های آناپلویید از نظر اندازه ی SPF اختلاف فراوان داشتند، به گونه ای که، تنها دو مورد (نه درصد) از آنها، SPF طبیعی و دیگران، شامل بیست مورد (۹۱ درصد)، افزایش آن را نشان دادند، اما اختلاف میان آنها و SPF ضایعات خوش خیم و غیر توموری، از نظر آماری معنی دار نبود (p=۰/۳) (جدول ٦).

میانگین SPF برای ضایعات خوش خیم و غیر سرطانی، ۲۹/۵ درصد و میانگین آن برای سارکوم ها، ۳۵ درصد بود. میانگین SPF سارکوم های دیپلویید، ۲۳ درصد، در حالی که، در سارکوم های آناپلویید، این میزان، ۴۲ درصد محاسبه گردید. ارزیابی SPF در رده بندی های گوناگون سارکوم، برپایه ی رده بندی FNCLCC، نشان داد که، سارکوم های درجه ی بالا، یعنی دو و سه، SPF بالاتری نسبت به رده یک داشتند، اما این تفاوت، از نظر آماری (p=۰/۱۷۳) معنی دار نبود (جدول ۷).

اختلافی معنی دار از نظر آماری، در رابطه ی میان وضعیت آناپلوییدی و درجه ی تومور مشاهده نشد.

بحث

تومورهای بافت نرم، تکثیر بدون مهار یاخته های مزانشیمی هستند که بسته به گونه ی آن، به انواع گوناگون تومورهای بافت نرم تبدیل می شوند و در نواحی بیرون استخوانی و بافت های

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۷: مقایسه ی SPF در رده های گوناگون سارکوم بافت نرم

SPF / رده	طبیعی شمار (درصد)	افزایش یافته شمار (درصد)	جمع شمار (درصد)
۱	۴ (۲۸/۵)	۱۰ (۶۱/۵)	۱۴ (۴۱)
۲	۲ (۱۳/۳)	۱۳ (۸۶/۷)	۱۵ (۴۴)
۳	۰	۵ (۱۰۰)	۵ (۱۵)
جمع	۶ (۱۷/۶)	۲۸ (۸۲/۴)	۳۴ (۱۰۰)

غیر پوششی، بجز ارگان های داخلی، سطح مغز و سیستم لنفورتیکولار مشاهده می گردند. تومورهای خوش خیم بافت نرم، ۱۰۰ برابر شایع تر از تومورهای بدخیم، یعنی سارکوم های این ناحیه هستند [۳،۱].

گرچه سارکوم های بافت نرم در مقایسه با کارسینوم ها و دیگر سرطان ها به گونه ای نسبی کمیاب تر بوده و کمتر از یک در صد همه تومورهای بدن را تشکیل می دهند، اما آنها مسوول دو درصد مرگ ومیر افراد به علت سرطان هستند، که این، نشان دهنده ی رفتار تهاجمی سارکوم ها است [۱۱،۱]. از سوی دیگر، به سبب کمیاب بودن سارکوم های بافت نرم، شماری اندک از متخصصان آسیب شناسی درباره ی آنها تجربه ی کافی داشته و در نتیجه، پس از نمونه برداری و در زمان تشخیص طبقه بندی تومورها و تعیین رفتار آنها به راحتی صورت نمی گیرد. در مرحله بعد از تشخیص، متخصصان سرطان شناسی باید با گرد آوری داده های کافی، در رابطه با رفتار سارکوم های بافت نرم، درمان مناسب را برای آنها آغاز کنند [۱].

پیش آگهی تومورهای بافت نرم، به عواملی، مانند اندازه ی تومور، عمق ضایعه، رده ی میکروسکوپی، مرحله ی بالینی، میزان تکثیر توموری و تغییرات سرطان زایی مرتبط است [۱۵-۱۲].

گرچه رده ی میکروسکوپی تومور، یکی از مهم ترین عوامل تعیین کننده ی پیش آگهی سارکوم های بافت نرم است، اما به دلیل ذهنی (Subjective) بودن آن، نیاز برای تعیین دیگر شاخص ها که عینیت بیشتر داشته باشند، احساس می شود.

در شماری زیاد از بررسی ها، سودمند بودن تعیین اندازه ی دی ان آ سلول های توموری با روش فلوسیتومتری در مشخص کردن رفتار تومور تأیید شده، اما بررسی های اندک درباره ی تومورهای بافت نرم انجام شده است [۱۹،۱۱،۲-۱۶]. بیشتر این بررسی ها، نشان داده اند که در

www.SID.ir

Archive of SID

تومورهای خوش خیم و ضایعات غیر سرطانی بافت نرم اندازه ی دی ان آ، دیپلوییید و همیشه یکنواخت نیست.

آل هو (Alho) و همکاران هفت مورد تومور بافت نرم و استخوان که از نظر اندازه ی دی ان آ آناپلوییید بودند، را گزارش کردند. تشخیص پایانی این تومورها مشخص نشده است، اما یک مورد لیپوم آناپلوییید با DI=۱/۷۰ در پنج درصد سلول های توموری در میان آنها مشاهده شد. همچنین، اوج آناپلوییدی (Aneuploid Peak) را در دو مورد لیپوم و یک مورد فیبروم آپونوروتیک کلسیفیکه (Calcifying Aponeurotic Fibroma) نشان دادند [۱۶].

کولین (Collin) و همکاران، در یک بررسی که بر روی پنجاه و سه مورد تومور خوش خیم و ضایعات غیر توموری بافت نرم انجام دادند، به یک مورد شوانوم و یک مورد فیبروماتوز برخورد کردند، که اولی، تتراپلوییید و دومی، هیپو تتراپلوییید بود [۲۰]. آگاروال (Agarwal)، اوج آناپلوییدی را در یک مورد شوانوم که هیچ گونه علایم بدخیمی را نشان نمی داد، گزارش کرد [۱۹]. کروزه (Kroese) و همکاران نیز، در بررسی خود، به موردی از آنژیوفیبروم جوانان (Juvenile Angiofibroma) اشاره کردند، که آناپلوییید بوده و DI آن ۱/۶ بود [۱۷]. مندال (Mandahl) و گروه خود، مطرح کردند که، در لیپوم، علت آناپلوییدی می تواند اشکالات کاریوتایپی در کروموزوم ۱۲ باشد [۲۱].

در بررسی کنونی، شش مورد (۳۳ درصد) از هجده مورد ضایعات غیر توموری و تومورهای خوش خیم بافت نرم، آناپلوییدی نشان دادند. نخستین مورد هیستیوسیتوم فیبرو آتی پیکال بود، که همان گونه که از نام آن مشخص است، علایم گویای آتی پی کال بودن را نشان داد و احتمال این که این مورد به سوی هیستیوسیتوم فیبرو بدخیم پیش رود، زیاد است. یک مورد همانژیوم درون ماهیچه ای با وضعیت نزدیک به دیپلوییید هم مشاهده شد. از یافته های جالب در این بررسی، وجود تتراپلوییدی در سه مورد تومورهای خوش خیم بافت نرم با سرچشمه ی عصبی بود، که دو مورد آن، گرانولار سل تومور و سومی، پاراگانگلیوم بود. به دلیل این که در همه ی این سه مورد، هیچگونه علایمی مبنی بر بدخیمی مشاهده نمی شد، می توان گفت، احتمال این که به گونه ی طبیعی، تتراپلوییدی در تومورهای خوش خیم با سرچشمه ی عصبی دیده شود، وجود دارد و نباید تتراپلوییدی در مورد این تومورها به رفتار تهاجمی آنها ارتباط داده شود. چون تتراپلوییدی، در یک مورد از موارد بررسی کنونی، که پاراگانگلیوم با دست اندازی بود نیز، دیده شد، این باور قوت بیشتری می گیرد. در یک مورد لنفانژیوم، وضعیت پلوییدی، هیپو تتراپلوییدی در ۱/۶ درصد از جمعیت سلول های توموری دیده شد و گزارش هایی مطرح می سازند که دیدن جمعیت آناپلوییدی در کمتر از ده در صد سلول های توموری را، هنوز می توان دیپلوییید

www.SID.ir

Archive of SID

انگاشت. در نتیجه، شاید این تومور را نتوان به طور قطع در دسته ی آناپلوییدها جا داد. همچنین، مانند بیشتر بررسی های همانند، آشکار شد که تعیین اندازه ی دی ان آ با دستگاه فلوسیتومتری، روشی مناسب برای مشخص کردن خوش خیمی تومور بافت نرم و پیش بینی رفتار آنها نیست.

درباره ی SPF تومورهای خوش خیم بافت نرم، دیگر بررسی ها نشان داده اند که به طور نسبی، اندازه ی SPF در تومورهای خوش خیم و ضایعات غیر توموری بافت نرم، پایین تر از سارکوم های بافت نرم است [۲۲،۱۶،۱۰،۸،۵].

در بررسی کنونی نشان داده شده است که، میانگین SPF تومورهای خوش خیم و ضایعات غیر توموری بافت نرم، ۲۹/۵ درصد و سارکوم ها، ۳۵ درصد بود. میانگین SPF تومورهای خوش خیم با وضعیت آناپلوییدی (۴۱/۵ درصد) در مقایسه با تومورهای خوش خیم دیپلوییید (۲۳/۹ درصد)، بالاتر بود.

تشخیص بدخیمی در تومورهای بافت نرم هنوز در برخی موارد دشوار بوده و بهتر است که با استفاده از شاخص هایی که عینیت داشته باشند، مانند داده هایی درباره ی وضعیت دی ان آ و یا اندازه گیری شاخص های تکثیری دیگر، چون AgNOR و KI 67 در کنار رده بندی درست تومور بتوان بر این دشواری پیروز شد. گزارش هایی درباره ی اهمیت اندازه گیری دی ان آ با دستگاه فلوسیتومتری، دامنه ای از آناپلوییدی را در سارکوم های بافت نرم نشان می دهد که این میزان از ۱۲ درصد در فیبروسارکوم ها تا ۸۷ درصد در سارکوم های دیگر متفاوت است [۱۸،۱۲].

پژوهش کولین و همکاران نشان داد که یک سوم سارکوم های بافت نرم مورد بررسی دیپلوییید بوده و دو سوم باقیمانده آناپلوییدی نشان دادند. آنها همچنین اعلام نمودند که در بعضی موارد میزان SPF تومورهای خوش خیم بافت نرم Overlapping با سارکوم های بافت نرم دارد [۲]. این میزان اختلاف در گزارش های مختلف، می تواند به علت استاندارد نبودن این فرآوری بویژه در مورد آماده سازی بافتی، روش رنگ آمیزی دی ان آ و نوع دستگاه فلوسیتومتری مورد استفاده باشد [۲۱-۲۴،۱۸،۱۶].

از ۳۴ سارکوم بررسی شده، یک سوم (۳۳ درصد)، دیپلوییید و دو سوم (۶۷ درصد)، آناپلوییید بودند. در میان آناپلوییدها، نزدیک به دیپلوییدی و هیپو تتراپلوییدی، شایع ترین زیر گروه آناپلوییدی را تشکیل می دادند، که به طور برابر ۱۰ مورد در هر زیر گروه جا گرفت.

رابطه ی میان وضعیت پلوییدی سارکوم ها با رده بندی میکروسکوپی نشان داد که، تقریبا" توزیع آناپلوییدی در درجه ی پایین (یک) با رده های بالا (دو و سه) یکسان بوده و نمی توان با بررسی وضعیت پلوییدی به رده بندی سارکوم های بافت نرم کمک کرد. آناپلوییدی در ۱۰ مورد (۴۵ درصد) سارکوم های درجه ی یک در مقایسه

www.SID.ir

Archive of SID

با ۱۲ مورد (۵۳ درصد) سارکوم های درجه ی دو و سه وجود داشت. نکته ی چشمگیر در بررسی کنونی، بودن دیپلوییدی در دو مورد سارکوم با رده ی بالا با علایم آشکار و بودن شاخص هایی نمایان بود، که قطعاً تومور را در درجه ی بالا جا می داد. نخستین مورد، هیستیوسیتوم فیبرو بدخیم درجه ی سه و دومین مورد، پری سیتوم بدخیم درجه ی سه بود. فوکانگا و همکاران، در ارزیابی پنج مورد همانژیوپری سیتوم بدخیم، سه مورد دیپلوییدی مشاهده کرده و بیان نمودند که تعیین رابطه ای معنی دار میان دی ان آ پلوییدی و بدخیمی و نیز، رده بندی تومور دشوار است و دست کم، در مورد تومورهای بدخیم بافت نرم با سرچشمه ی عروقی این کار شدنی نیست [۲۶،۲۵].

در باره ی وضعیت پلوییدی و تمایز سلولی سارکوم های بافت نرم، برپایه ی سیستم درجه بندی FNCLCC، در پنج مورد (۴۲ درصد) سارکوم ها یی که دیپلویید بودند، نمره ی سه از نظر تمایز سلولی دیده شد و بنابراین نمی توان رابطه ای معنی دار میان این دو شاخص را نشان داد.

در چندین گونه ی بدخیمی اندام های گوناگون بدن، نشان دادند که اندازه گیری SPF، شاخصی برای تعیین پیش آگهی است.

چندین بررسی درباره ی اهمیت تعیین SPF در سارکوم های بافت نرم و ارزیابی آن، به عنوان عامل نشان دهنده ی پیش آگهی، انجام شده است [۲۸،۲۷،۲۲،۱۶،۸]. در این بررسی ها، عددی یکسان برای Cut-off Value وجود ندارد، بلکه، برپایه ی گونه ی بافت، روش آماده سازی، روش رنگ آمیزی خاص دی ان آ و استفاده از دستگاه خاص فلوسیتومتری، عدد های مورد استفاده متفاوت است [۲۹،۲۲،۸]. در بررسی کنونی، عدد ۲۰ درصد برای Cut-off Value در نظر گرفته شده است.

گاستافن و همکاران، در بررسی بر روی ۱۶۰ سارکوم بافت نرم، اندازه ی SPF را گوناگون و از ۰/۱ درصد تا ۲۵ درصد گزارش کرده اند [۱۰].

در بررسی کنونی، افزایش تدریجی SPF با افزایش درجه ی بافت شناختی سارکوم ها دیده می شد، به گونه ای که، در چهار مورد از ۱۴ مورد سارکوم های درجه ی یک و در دو مورد درجه ی دو SPF طبیعی بود. SPF در هیچ یک از سارکوم های درجه ی سه طبیعی نبود و در همه ی موارد، افزایش نشان می داد. در باره ی سارکوم های دیپلوییدو آناپلوییدو، با بالا رفتن درجه ی تومور، افزایش SPF مشاهده می شد. این یافته، در سارکوم های آناپلوییدو چشمگیر تر بود.

نتیجه گیری

تعیین پلوییدی دی ان آ نمی تواند شاخصی قابل اعتماد برای تشخیص بدخیمی در تومورهای بافت نرم باشد اما SPF می تواند، به عنوان عامل غیر وابسته ی تعیین بدخیمی و مشخص کردن

www.SID.ir

Archive of SID

رفتار بالینی سارکوم های بافت نرم مورد استفاده قرار گیرد.

Prognostic Significance of DNA Content Analysis in Soft Tissue Tumors

*S. Torabi Nezhad, M.D. *,*
*B. Karami, M.D. ***
**Associate Professor of Pathology*
***Pathologist*
Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Correspondence:
S. Torabi Nezhad
Department of Pathology, School of Medicine, Shiraz, Iran
Tel: *+98-711-2305884*
E-mail:
torabins@yahoo.com

Background: Soft tissue sarcomas are aggressive tumors with a relatively high mortality rate in comparison to carcinomas. Grading is one of the most important determinators of biological behavior in these tumors. The aim of the present study was to compare the ploidy status and DNA content in soft tissue sarcomas versus benign soft tissue tumors and to determine the value of the objective method of grading in soft tissue sarcomas. **Materials and Methods:** Fifty–two soft tissue tumors, including thirty-four sarcomas and eighteen benign tumors as well as non-neoplastic lesions were collected. Histologic diagnoses were reviewed and the grading system (FNCLCC grading system) was reassessed for sarcomas. DNA contents of all cases were determined on paraffin-embedded tissue blocks by flow cytometry. DNAs were analyzed for ploidy status, S-phase fraction and grading. **Results:** Twelve cases among 18 benign soft tissue lesions were DNA diploid. One lymphangioma, one intramuscular hemangioma and one atypical benign fibrous histiocytoma exhibited hyperdiploidy while two granular cell tumors and one paraganglioma were tetraploid. The mean of S-phase fraction for benign diploid and aneuploid lesions was 23.9 and 41.5 percent, respectively. About one-third of the sarcomas were diploid and two-third exhibited aneuploidy. The mean of S-phase fraction for diploid sarcomas was 23 percent, as compared to 42 percent in aneuploid sarcomas (with a cut–off value of 20). No relationship was found between aneuploidy and grading or ploidy status and tumor differentiation. The mean of S-phase fraction significantly correlated with higher grades (p=0.001). **Conclusion:** Evaluation of DNA ploidy status is an unreliable method for predicting prognosis in soft tissue sarcomas. Nevertheless, S-phase fraction determination in soft tissue tumors may be considered as a prognostically valuable adjuvant.

Keywords: Soft tissue neoplasm, Sarcoma, Flow cytometry, Ploidy, S-phase fraction, Grading

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

[1]Weiss SW, Goldblum JR: Soft tissue tumors. In: Enzinger and Weiss, eds. ***Soft tissue tumors***. 4th ed. Philadelphia, USA: Mosby Co., 2001:10-25.
[2]Collin F, Chassevent A, Bonichon F, et al.: Flow cytometric DNA content analysis of 185 soft tissue neoplasms indicates that S-phase fraction is a prognostic factor for sarcoma. ***Cancer*** 1997;79(12):2371-90.
[3]Cotran RS: Soft tissue. In: ***Robbin's pathologic basis of diseases.*** 6th ed. Philadelphia, USA: WB Saunders Co., 1999:1259-67.
[4]Rosai J: Soft tissue tumors. In: ***Ackerman's surgical pathology.*** 8th ed. Philadelphia, USA: Mosby Co., 2004:2237–30.
[5]Trojani M, Contesso G, Conidre JM, et al.: Soft tissue sarcomas of adults: Study of pathlogical prognostic variable and definition of histopathological grading system***. Int J Cancer*** 1984;33:37-42.
[6]Guillou L, Conidre JM, Bonichon F, et al.: Comparative study of National Institute and French Federation of Cancer Center Sarcoma Group Grading System in a population of 410 adult patients with soft tissue sarcoma. ***J Clin Oncol*** 1997;15(1):350-62.
[7]Hedley DW: Flow cytometry using paraffin–embedded tissue: Five years on. ***Cytometry*** 1989;10(3):229-41.
[8]Zalpluski MM, Ryan JR, Ensley JF, et al.: Development and optimization of tissue preparative methodology for DNA content analysis of soft tissue neoplasms. ***Cytometry*** 1993;14(8):922-30.
[9]Tan X, Chen G: DNA content and cell cycle phase analysis in uterine sarcomas and its clinical significance. ***Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*** 1999; 34(9):551-4.
[10]Gustafson P, Ferno M, Ackerman M, et al.: Flow cytometric S-phase fraction in soft tissue sarcoma: Prognostic importance analyzed in 160 patients. ***Br J Cancer*** 1997;75(1): 94-100.
[11]Calonje E, Fletcher C: Immunohistochemistry and DNA flow cytometry in soft tissue sarcoma. ***Hematol Oncol Clin North Am*** 1995;9(3):657-75.
[12]Oshiro Y, Fukuda T, Tsuneyosh M: Fibrosarcoma versus fibromatosis and cellular nodular fascists: A comparative study of their proliferative activity using proliferating cell nuclear antigen, DNA flow cytometry and P 53. ***Am J Surg Pathol*** 1994;18(7):712-9.
[13]Levine EA: Prognostic factors in soft tissue sarcoma. ***Semin Surg Oncol*** 1999;17(1):23-32.
[14]Levine EA, Holzmayer T, Bacus S, et al.: Evaluation of newer prognostic markers for adult soft tissue sarcomas. ***J Clin Oncol*** 1997; 15(10):3249-57.
[15]Niezabitowski A, Rye J, Rossener A, et al.: Assessment of proliferative activity, DNA values and some clinicopathologic parameters in mesenchymal tumors: Immunohistochemical and flow cytometric study. ***Gen Diag Pathol*** 1997;142(5-6):327-33.
[16]Alho A, Skejeldal S, Petterson EO, et al.: Aneuploidy in benign tumors and non-neoplastic lesions of musculoskeletal tissues. ***Cancer*** 1994; 73(4):1200-5.

www.SID.ir

Archive of SID

[17]Kroese MC, Rutgers DH, Wils IS, et al.: The relevance of the DNA index and proliferation rate in grading of benign and malignant soft tissue tumors. ***Cancer*** 1990; 65(8):1782-8.
[18]Xiang J, Spanier SS, Benson N, et al.: Flow cytometric analysis of DNA in bone and soft tissue tumors using nuclear suspension. ***Cancer*** 1987; 59(11):1951-8.
[19]Argawal V, Greenebaum E, Wersto R, et al.: DNA ploidy of spindle cell soft tissue tumors and its relationship to histology and clinical outcome. ***Arch Pathol Lab Med*** 1991;115(6):558-62.
[20]Manadahl N, Bullerdick J, Bartnitzke S: Chromosome 12 aberration in human solid tumors: Cytogenetics and molecular genetics. ***Berlin, Heidelberg:*** Springer Verlag 1994;26-38.
[21]Mohamed AN, Zalpuski MM, Ryan JR, et al.: Cytogenetic aberration and DNA ploidy in soft tissue sarcoma. ***Cancer Genet Cytogenet*** 1997; 99(1):45-53.
[22]Heident T, Castero J, Graf BM, et al.: Comparison of routine flow cytometric DNA analysis of fresh tissue in two laboratories: Effect of differences in preparation methods and background models of cell cycle calculation. ***Cytometry*** 1998;34(4):187-97.
[23]Mandahl N, Baldetorp B, Ferno M, et al.: Comparative cytogenetic and flow cytometric analysis of 150 bone and soft tissue tumors. ***Int J Cancer*** 1993;53(3):358-64.
[24]Radio SJ, Woolridage TN, Linder J: Flow cytometric DNA analysis of malignant fibrous histiocytoma and related fibrohistiocytic tumors. ***Human Pathology*** 1988;19(1):74-77.
[25]Wersto RP, Liblit RL, Koss LG: Flow cytometric DNA analysis of human solid tissue: A review of the interpretation of DNA histogram. ***Human Pathology*** 1991; 22(11):1085-92.
[26]Fukunaga M, Shimoda T, Nikaido T, et al.: Soft tissue vascular tumors: A flow cytometric DNA analysis. ***Cancer*** 1993;71(7):2233-41.
[27]Gustafson P, Baldetrop B, Ferno M: Prognostic implication of various models for calculation of S-phase fraction in 259 patients with soft tissue sarcomas. ***Br J Cancer*** 1999;79(7-8):1205-9.
[28]Hvuhtaman RL, Blomqvist CP, Wiklund TA, et al.: S-phase fraction of 155 soft tissue sarcomas: Correlation with clinical outcome. ***Cancer*** 1996;77(9):1815-22.
[29]Dreinhofer KE, Baldtrop B, Ackerman M, et al.: DNA ploidy in soft tissue sarcoma: Comparison of flow and image cytometry with clinical follow up in 93 patients. ***Cytometry*** 2002;50(1):19-24.

www.SID.ir