مطالعه هیستوپاتولوژیک و ایمونوهیستوشیمیایی الگوهای رایج تومورهای فولیکولی مو و اپیدرمال در سگ و گربه

شاهو قهرمانی‌دهبکری[1*]، فرهنگ ساسانی[2]، پژمان مرتضوی[3]، ایرج سهرابی‌حقدوست[3]

چکیده

هدف از این مطالعه، شناسایی الگوهای رایج تومورهای اپیدرمال و فولیکولی مو در حیوانات خانگی (سگ و گربه) می‌باشد. در مطالعات مروری که در رابطه با این تحقیق انجام گردید، پیشینهٔ علمی و عملی شایان توجهی در داخل کشور یافت نشد. از مجموع ۵۰ نمونهٔ ضایعات پوستی جمع‌آوری شده، ۱۵ نمونهٔ توموری پوست (۷ نمونهٔ اپیدرمال و ۸ نمونهٔ تومور فولیکول مو) به دست آمده و مورد بررسی‌های هیستوپاتولوژیک و ایمونوهیستوشیمیایی قرار گرفتند. نمونه‌های توموری مربوط به فولیکول مو شامل آکانتومای کراتینهٔ ایفاندیبولار (IKA)، تریکولمومای فرم بالبی یا پیازی (TLB)، تریکوبلاستومای فرم ترابکولار (TBT)، تریکوبلاستومای فرم ریبون یا نواری (TBR)، تریکوبلاستومای فرم گرانولار سل (TBG)، تریکوبلاستومای فرم مدوسوئید (TBM)، تریکواپیتلیوما (TE) و تریکواپیتلیومای بدخیم (MTE) و نمونه‌های مربوط به تومورهای اپیدرمال شامل بازال سل کارسینوما و لنفوسارکومای جلدی بودند. علاوه بر این، ضایعاتی غیر توموری و شبه توموری همچون هماتوم، آبسه‌های سازمان یافته و غیره نیز تشخیص داده شد. تومورهای فولیکولی به روش استاندارد تهیه مقاطع آسیب‌شناسی (H&E) بررسی شدند، اما بدخیمی‌های مربوط به تومورهای اپیدرمال تحت مطالعات ایمونوهیستوشیمیایی قرار گرفتند. بر اساس نتایج رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی به دست آمده از مطالعهٔ حاضر- صرفنظر از نوع حیوان مبتلا - میزان بیان مارکر P53 در نمونه‌های بازال سل کارسینوما در ۱ مورد (+۱) و در ۳ مورد (+۲) و همچنین در همهٔ نمونه‌های لنفوسارکومای جلدی (+۲) ارزیابی گردید. همچنین میزان بیان مارکر Ck8 در نمونه‌های بازال سل کارسینوما در ۳ مورد (+۱) و در ۱ مورد (+۳) بود. میزان بیان مارکر Ki67 در نمونه‌های لنفوسارکومای جلدی در ۲ مورد (+۱) و در ۱ مورد (+۲) و بالاخره میزان بیان مارکر CD99 در تمامی نمونه‌های لنفوسارکومای جلدی (+۲) ارزیابی گردید.

نتیجهٔ حاصل از این مطالعه آن است که مارکرهای P53 و Ck8 در مورد بازال سل کارسینوما و P53 و Ki67 و CD99 در مورد لنفوسارکومای جلدی نیز در سگ و گربه، یک الگوی تشخیصی سودمند خواهند بود که با توجه به پیشینهٔ تحقیق، استفاده از این مارکرها تاکنون گزارش نشده است.

واژگان کلیدی: *سگ، گربه، تومورهای اپیدرمال، تومورهای فولیکولی مو، ایمونوهیستوشیمی*

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۲

مقدمه

پوست یکی از بزرگترین اعضاء و در حقیقت وسیع‌ترین بافت بدن جانداران به شمار می‌رود که در طول دوره حیات، متأثر از عوامل اگزوژن و اندوژن فراوان و متنوعی خواهد بود. در میان گستره پرشمار ضایعات پوستی، موارد نئوپلاستیک و شبه نئوپلاستیک جزء اهم موارد محسوب می‌شوند. ۲۰٪ از ضایعات پوستی برداشت شده به وسیله جراحی که ممکن است در ابتدا به عنوان ضایعات توموری مورد سوءظن واقع شوند، ماهیتاً طبیعت نئوپلاستیک ندارند و در واقع جراحاتی شبه توموری هستند که پس از آزمایش‌های هیستوپاتولوژیک، اغلب در رده گرانولوم‌ها، هماتوم‌ها، کیست‌ها و... قرار می‌گیرند (۱۱ و ۱). در میان ضایعات نئوپلاستیک پوستی، الگوهای تومورهای مربوط به ضمائم پوست، بحث مهم و قابل توجهی است. بر اساس آنچه که در کتاب تومورشناسی حیوانات اهلی (۹) آمده است و نیز بر طبق طبقه‌بندی اعلام شده از سوی WHO (۱۷)، این الگوها شامل مواردی هستند که در جدول ۱ مرتب شده‌اند:

۱*- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، رزیدنت گروه پاتولوژی دامپزشکی، تهران، ایران.
(drshaho.path84@yahoo.com)
۲- دانشگاه تهران، گروه پاتولوژی دامپزشکی، تهران، ایران.
۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه پاتولوژی دامپزشکی، تهران ایران.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱ـ الگوهای دوازده‌گانهٔ تومورهای فولیکولی مو- طبقه بندی اعلام شده از سوی WHO (۱۷)

ردیف	الگوی معرفی شده از سوی WHO	نام لاتین	اختصار معرفی شده در این مقاله
۱	آکانتومای کراتینهٔ اینفاندیبولار	Infundibular Keratinizing Acanthoma	IKA
۲	تریکولمومای فرم بالبی یا پیازی	Tricholemmoma-Bulb type	TLB
۳	تریکولمومای فرم ایستموسی	Tricholemmoma-Isthmus/Isthmic type	TLI
٤	تریکوبلاستومای فرم ریبون یا نواری	Trichoblastoma-Ribbon type	TBR
٥	تریکوبلاستومای فرم ترابکولار	Trichoblastoma-Trabecular type	TBT
٦	تریکوبلاستومای فرم گرانولار سل	Trichoblastoma-Granular Cell type	TBG
۷	تریکوبلاستومای فرم مدوسوئید	Trichoblastoma-Medusoid type	TBM
۸	تریکوبلاستومای فرم اسپیندال یا دوکی	Trichoblastoma-Spindle type	TBS
۹	تریکواپیتلیوما	Trichoepithelioma	TE
۱۰	تریکواپیتلیومای بدخیم	Malignant Trichoepithelioma	MTE
۱۱	پیلوماتریکوما	Pilomatricoma	PM
۱۲	پیلوماتریکومای بدخیم	Malignant Pilomatricoma	MPM

همچنین، تومورهای نشأت گرفته از اپیدرم شامل پاپیلوما، پاپیلومای معکوس، کارسینوم سلول‌های سنگفرشی چند کانونهٔ درجا (بیماری بُوون)، کارسینوم سلول‌های سنگفرشی و کارسینوم سلول‌های سنگفرشی ـ بازال و کارسینوم سلول‌های بازال می‌باشند(۹ و ۱۷).

هدف از این مطالعه، شناسایی الگوهای رایج تومورهای اپیدرمال و فولیکولی مو در حیوانات خانگی (سگ و گربه) می باشد. قدر مسلّم آن است که با شناخت این الگوها و تلفیق این اطّلاعات با تاریخچه و سایر دانسته ها، این امکان فراهم می آید که تشخیص در کمترین زمان ممکن، حاصل گردد. تکنیک‌های تشخیصی روز دنیا همچون رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی و افتراقی، تست‌های دقیق مولکولی، ایمونوهیستوشیمی و غیره می‌توانند در نیل به این هدف مهم، بسیار مفید واقع گردند.

مواد و روش کار

به منظور انجام این مطالعه، با مراجعه به کلینیک‌ها و مراکز تشخیصی و درمانی حیوانات کوچک در شهرهای تهران، کرج، تبریز و ارومیه، تعداد ۵۰ نمونه بافتی مشکوک به ضایعات توموری و شبه توموری پوست (٤۷ نمونه سگ و ۳ نمونه گربه) از انواع نژادهای مختلف و مخلوط با جنسیت‌ها و سنین مختلف، در طی حدود دو سال – از اوایل بهار سال ۱۳۸۷ تا اوایل تابستان سال ۱۳۸۹– جمع‌آوری گردید.

نمونه‌های ارجاعی، پس از ارزیابی بالینی و بررسی ظاهری ضایعات توموری و شبه توموری متنوع پوستی (اپیتلیالی)، از مرز نواحی سالم و ضایعه‌دار به صورت تمام ضخامت پوست و از نواحی مختلف منجمله سر و گردن، تنه و اندام های انتهایی و با توجه به فرم ظاهری ضایعات، جمع‌آوری شده و در ظروف حاوی فرمالین بافر ۱۰٪ قرار گرفتند. پس از تثبیت، نمونه‌ها به منظور آماده‌سازی بافتی در دستگاه اتوتکنیکون قرار گرفتند. سپس از آنها بلوک های پارافینی تهیه شده و از این بلوک‌ها، برش هایی به ضخامت پنج میکرومتر توسط دستگاه میکروتوم روتاری تهیه شد. برش های حاصله بعد از قرار گرفتن بر روی لام، با روش رایج هماتوکسیلین و

Archive of SID
www.SID.ir

ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. موارد بدخیمی و یا مشکوک به بدخیمی نیز جهت تأیید تشخیص، تحت بررسی های ایمونوهیستوشیمیایی قرار گرفتند. جهت انجام این قسمت از پروسهٔ تحقیق، کیت ایمونوهیستوشیمی DakoCytomation (محصول دانمارک) جهت ارزیابی مارکرهای P53، Ki67، Ck8 و CD99 با پروتکل ذیل، مورد استفاده قرار گرفت.

پروتکل رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی

I) تهیه مقاطع

۱) مقاطع بافتی ۵ میکرونی تهیه شده، در سطح آب گرم (حدوداً ۵۰ درجه سانتیگراد) شناور شدند.

۲) سپس مقاطع بافتی مورد نظر، بر روی اسلایدهای الکتروستاتیک منتقل و به مدت حدود ۱۰ ساعت در آون ٥٦ درجهٔ سانتیگراد خشک شدند.

۳) به منظور پارافین زدایی نیز، ابتدا هر یک از مقاطع، به مدت ۲ ساعت در آون ٦٠ درجه سانتیگراد قرار داده شده و بلافاصله (پیش از سرد شدن) به گزیلل منتقل گردیدند.

٤) این مقاطع، ۵ دقیقه بعد به ظرف دوم گزیلل منتقل شده و سپس یک دقیقه بعد با استفاده از غلظت‌های صعودی اتانول و آب مقطر، آب‌دهی شدند.

II) احیاء آنتی ژن

۵) با استفاده از جوشاندن، احیاء آنتی‌ژن‌ها انجام شد. بهترین ترکیب مورد استفاده جهت این امر، بافر تریس با PHهای ۵ و ۷ و ۹ (تنظیم شده با NaOH ۰/۱ نرمال و Hcl) به همراه بافر سیترات با PH خنثی و محلول احیاء کنندهٔ تجاری DakoCytomation بود.

٦) جهت بازیابی آنتی‌ژن‌ها ابتدا جار رنگ‌آمیزی عمودی حاوی ترکیب فوق‌الذکر را درون یک ارلن حاوی آبجوش که بر روی صفحه داغ قرار داشت، تخلیه کرده و به منظور ممانعت از وارد آمدن شوک حرارتی به مقاطع بافتی، اسلایدها را قبل از شروع جوشیدن محلول ترکیبی، درون جار عمودی گذاشته و پس از آغاز جوشش، مدت زمان محاسبه گردید. (به منظور تعیین بهترین زمان برای بازیابی آنتی ژن‌ها، زمان‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد.)

۷) مجددا برای پیشگیری از بروز شوک حرارتی، جار حاوی مقاطع به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند.

۸) سپس مقاطع به درون دو ظرف (هر ظرف، به مدت ۵ دقیقه) حاوی بافر تریس منتقل شدند.

۹) پس از شست و شو، اطراف مقاطع توسط قلم مخصوص محدود کننده Dako Pen محصور شدند. (استفاده از این قلم، اطمینان حاصل کردن، من باب عدم پخش شدن محلول اضافه شده بر روی مقاطع و همچنین اعمال صرفه جویی در میزان مصرف محلول هاست). در این حالت، بهترین مقدار محلول افزودنی در سایر مراحل، اعم از آنتی‌بادی اولیه و ثانویه و ... ۱۰۰ میکرولیتر است که کاملاً سطح مقطع بافتی را پوشش می دهد. لذا این حجم تا آخر پروسه، بعنوان یک عدد ثابت در برداشت محلول مدنظر قرار گرفت.

III) مهار آنزیم پراکسیداز داخلی موجود در مقاطع بافتی

۱۰) جهت تهیه نمودن محلول مهار کننده آنزیم پراکسیداز داخلی موجود در مقاطع بافتی، پراُکسید هیدروژن (H_2O_2) را با رقت ۱ به ۱۰ به متانول اضافه نموده و به منظور کاهش ایجاد زمینهٔ رنگی نامناسب ناشی از حضور پراکسیدازهای اندوژن، این مقاطع، به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در این محلول انکوبه شدند.

۱۱) پس از این مدت، لام‌ها در بافر تریس شست و شو داده شدند.

IV) مهار رنگ‌پذیری غیراختصاصی مقاطع بافتی

۱۲) سپس مقاطع بافتی در مقدار تعیین شدهٔ ۱۰۰ میکرولیتری از محلول مهار کننده پروتئین تجاری DakoCytomation، انکوبه شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

۱۳) سپس هر کدام از مقاطع، دو بار توسط بافر تحت شست و شو قرار گرفتند.

V) افزودن آنتی بادی اولیه

۱٤) ابتدا آنتی بادی ها به وسیلهٔ بافر تریسِ استریل، رقیق شدند. (این تعیین رقّت، به وسیلهٔ تیتراسیون انجام شد. برای این کار، حداقل و حداکثر رقّت ذکر شده در بروشور کیت به همراهِ یک رقّت بالاتر و یک رقّت پایین تر مورد آزمایش قرار گرفتند).

۱۵) سپس آنتی بادی ها بر روی مقاطع، افزوده شدند و لام ها در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت، در محفظهٔ مرطوب قرار گرفتند. (محفظهٔ مرطوب، شاملِ یک ظرف پلاستیکی گود بود که در کف آن یک دستمال تمیز مرطوب شده قرار داده شده و بر روی آن، دو عدد پیپت قطعه قطعه شده که به اندازهٔ پهنای ظرف بریده شده بودند، وجود داشت. نهایتاً اسلاید ها روی این پیپت های قطعه قطعه شده مستقر و با آنتی بادی انکوبه شدند).

۱٦) در این مدت، به طور مرتب و با حساسیت ویژه ای رطوبت دستمال تحت کنترل بود. چرا که خشک شدن دستمال، به خشک شدن محلول های موجود بر روی اسلایدها و در نهایت خشک شدن و از بین رفتن مقاطع منتج می‌شد.

VI) افزودن آنتی بادی ثانویه

۱۷) ابتدا مانند مرحلهٔ قبلی، آنتی بادی‌ها به وسیلهٔ بافر تریس استریل، رقیق شدند.

۱۸) سپس بر اساس پروتکل مندرج در بروشور کیت، از رقت ۱ به ۱۰۰ آنتی بادی ثانویهٔ کونژوگه با HRP استفاده شد و انکوباسیون اسلایدها به مدت ٤۵ دقیقه با آنتی بادی ثانویه صورت پذیرفت.

۱۹) سپس دو بار شست و شوی دقیق با بافر انجام گرفت.

VII) افزودن محلول DAB

۲۰) برای تهیه کردن محلول DAB، طبق دستورالعمل مندرج در بروشور کیت، به وسیلهٔ میکروپیپت و سرسمپلر مقدار ۲۰۰ میکرولیتر کروموژن به یک سی‌سی محلول سوبسترا اضافه شد و این دو با حرکات دورانی و ملایم مخلوط شدند.

۲۱) محلول فوق به مدت ۵ دقیقه بر روی مقاطع، تیمار گردید.

۲۲) در نهایت اسلاید ها به مدت ۵ دقیقه در آب جاری تحت شست و شو قرار گرفتند.

VIII) مرحلهٔ رنگ‌آمیزی زمینه و مونته کردن اسلایدها

۲۳) به منظور رنگ آمیزی افتراقی زمینهٔ اسلایدها، هر کدام از آنها (به جز اسلایدهای مربوط به مارکر P۵۳ که با فست گرین رنگ‌آمیزی شد) به مدت ۵ دقیقه در محلول هماتوکسیلین هاریس قرار گرفتند.

۲٤) سپس هر کدام از اسلایدها به مدت ۵ دقیقه در آب جاری شست و شو داده شدند و پس از آب گیری نهایی، شفاف شده و در نهایت با استفاده از لامل، مونته شده و آمادهٔ بررسی شدند.

ارزیابی نیمه کمّی رنگ آمیزی های ایمونوهیستوشیمیایی مارکر های مورد استفاده به شرح ذیل بود: P53 اساس قضاوت بر قهوه‌ای رنگ شدن هسته‌ها (رنگ‌پذیری یکنواخت هسته‌ها)، Ki67 اساس قضاوت بر رنگ‌پذیری منتشر هسته‌ها (رنگ‌پذیری هسته‌ها به طور لکه لکه و غیر یکنواخت)، Ck8 اساس قضاوت بر رنگ‌پذیری نواحی اطراف هسته‌ها (درون سیتوپلاسم) و CD۹۹ اساس قضاوت بر رنگ‌پذیری نواحی اطراف هسته‌ها (درون سیتوپلاسم) و بیشتر غشاء سلول‌هاست و در مورد تمامی مارکرهای فوق، عدم تشکیل رنگ (-)، رنگ‌پذیری کمتر از ۱۰٪ (+۱)، رنگ‌پذیری ۱۰ تا ۵۰٪ (+۲) و رنگ‌پذیری بیش از ۵۰ ٪ (+۳) در نظر گرفته شد (۹).

از آنجایی که مطالعهٔ حاضر، بر اساس جمع آوری نمونه و در حقیقت از نوع مطالعات (Case Series) می باشد - که

www.SID.ir

خود یکی از انواع مطالعات توصیفی محسوب می شود – بنابراین تجزیه و تحلیل های آماریِ استنباطی با توجّه به ماهیّت مطالعه، قابل انجام نمی باشد. از سوی دیگر با توجه به این که در مطالعات توصیفی، میزان بروز را نمی توان محاسبه نمود، استفاده از آزمونهای آماری و تعیینِ رابطه بین نوع حیوان و یا جنس حیوان با میزان بروز انواع تومورها و یا بیان مارکرهای توموری، عملاً غیر قابل انجام است.

نتایج

در این مطالعه، ۵۰ نمونهٔ پوستی به لحاظ شناسایی تومورهای فولیکولی مو و تومورهای اپیدرمال، مورد بررسی هیستوپاتولوژیک قرار گرفتند که ٤٧ نمونه (٩٤ ٪) مربوط به سگ و ۳ نمونه (٦٪) مربوط به گربه بودند. ۸ نمونه (١٦٪ از کل نمونه‌ها و ۵۳/۳۳٪ نمونه‌های توموری) به قرار زیر مربوط به هشت الگو از مجموع دوازده الگوی تومورهای فولیکولی مو بودند که از هرکدام از آنها، تنها یک نمونه بدست آمد: آکانتومای کراتینهٔ اینفاندیبولار (IKA)، تریکولمومای فرم بالبی یا پیازی (TLB)، تریکوبلاستومای فرم ترابکولار (TBT)، تریکوبلاستومای فرم ریبون یا نواری (TBR)، تریکوبلاستومای فرم گرانولار سل (TBG)، تریکوبلاستومای فرم مدوسوئید (TBM)، تریکواپیتلیوما (TE) و تریکواپیتلیومای بدخیم (MTE). در این میان، فقط نمونهٔ تریکوبلاستومای فرم ترابکولار مربوط به گربه و سایر نمونه‌ها مربوط به سگ بودند. در این مطالعه، هر کدام از الگو های فوق، از مجموع ۱۵ نمونهٔ توموری، ٦/٦٦ ٪ و از مجموع ۸ نمونهٔ توموری مربوط به فولیکول های مو، ۱۲/۵ ٪ را به خود اختصاص دادند. میانگین سنی سگ‌های درگیر با این تومورها ۳/۰٦ ± ٦/۵ سال به دست آمد. از هیچکدام از ٤ الگوی تریکولمومای فرم ایستموسی (TLI)، تریکوبلاستومای فرم اسپیندال یا دوکی (TBS)، پیلوماتریکوما (PM) و پیلوماتریکومای بدخیم (MPM)، نمونه‌ای به دست نیامد.

۷ نمونه توموری دیگر (١٤٪ از کل نمونه‌ها و ٤٦/٦٧٪ نمونه‌های توموری)، به قرار زیر مربوط به دو الگو از تومورهای اپیدرمال بودند:

بازال سل کارسینوما (BCC = Basal Cell Carcinoma) ٤ مورد (۸ ٪ از کل نمونه‌ها و ٢٦/٦٧٪ نمونه‌های توموری و ۵۷/۱۵٪ تومورهای اپیدرمال) {۱ نمونه گربه و ۳ نمونه سگ}، لنفوما/لنفوسارکومای جلدی (CL = Cutaneous Lymphosarcoma) ۳ مورد (٦ ٪ از کلّ نمونه‌ها و ۲۰ ٪ نمونه‌های توموری و ٤٢/۸۵٪ تومورهای اپیدرمال) [۱ نمونه گربه و ۲ نمونه سگ].

حال، موارد توموری فوق که بدخیمی نشان داده بودند (بازال سل کارسینوما و لنفوسارکومای جلدی)، جهت تأیید تشخیص، با مارکرهای P53، Ki67، Ck8 و CD99 مربوط به کیت DakoCytomation تحت بررسی های ایمونوهیستوشیمیایی قرار گرفتند که نتیجهٔ این آزمایشات در ادامه خواهد آمد.

در اکثریت قریب به اتفاق موارد نمونه‌برداری شده، یکسری آثار بالینی غیراختصاصی در حیوانات، شامل موریختگی کانونی یا توده‌ای همراه با قرمزی و خارش و حتی تخریش نواحی موریخته، مشاهده می شد. تغییرات غیراختصاصی دیگری نیز شامل ضخیم شدن و هیپرپیگمانتاسیون پوست، زخم و خونریزی، ادم و اولسراسیون و نکروز، حالات ندولار جلدی و... دیده شدند.

تومورهای فولیکولی مو

الگوی *آکانتومای کراتینه اینفاندیبولار (IKA)* دارای یک منفذ مرکزی بود که به سطح پوست راه یافته بود و این همان اینفاندیبولوم فولیکولی است که به طور طبیعی از قبل وجود داشته است. منفذ با یک ماده کراتینی شاخی

Archive of SID

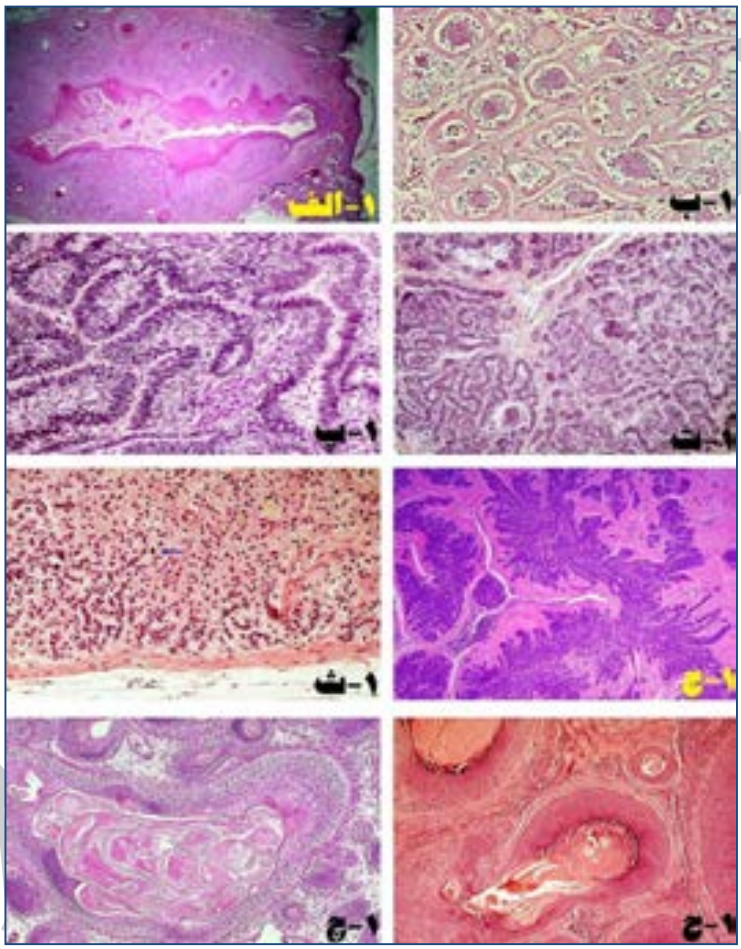
www.SID.ir

سفت شده پر شده بود که این تجمع کراتین در برش مقطع، در مرکز توده با ایجاد یک ناحیه قرمز قهوه‌ای، محدودهٔ مشخصی را توسط بافت درمی و زیر جلدی نمایان ساخته بود. در نمای ریزبینی منفذ تومور به وسیله اپیتلیوم سنگفرشی مطبق شاخی پوشیده شده بود و سیتوپلاسم این سلول‌ها حاوی دانه‌های کراتوهیالنی بود. در قسمت زیرین کراتین، کراتینوسیت‌های بزرگی با سیتوپلاسم کمرنگ در دیواره تومور وجود داشتند که گاهی گرانول‌های کراتوهیالنی بازوفیلیک را نشان می‌دادند. طناب‌های به هم پیوسته از رشته‌های همبندی و آشیانه‌هایی از اپیتلیوم سنگفرشی با تجمّعات کراتینی مرکزی و نیز تجمع استرومای فیبرووواسکولار در اطراف تومور با امتداد یافتگی به داخل رشته‌های سلولی به هم پیوستهٔ دیوارهٔ تومور مشاهده شد (نگاره ۱-الف). الگوی *تریکولوموای فرم پیازی (TLB)* شامل جزایری از سلول‌های اپیتلیال محاط شده با یک استرومای فیبروکلاژنی بود که این سلول‌ها دارای یک هستهٔ مرکزی و مقادیر متوسطی سیتوپلاسم ائوزینوفیلیک بودند. در حالی که سلول‌های اپیتلیال محیطی مانند یک پرچین بر روی بازال لامینای ائوزینوفیلیک ضخیم، شکل گرفته بودند (نگارهٔ ۱- ب). در نمای ریزبینی الگوی *تریکوبلاستوموای فرم ترابکولار (TBT)*، لبول‌های چندگانه‌ای از سلول‌های نئوپلاستیک که به وضوح به وسیله باندهای نازکی از استرومای کلاژنی بین لبولی محاط شده‌اند و سلول‌های اطراف لبولی مشخصاً پرچین مانند و همچنین سلول‌های مرکز لبولی دارای هسته بیضی شکل تا کشیده بوده و سیتوپلاسم فراوان ائوزینوفیلیک را نشان می‌دادند (نگارهٔ ۱- پ). در الگوی *تریکوبلاستوموای فرم ریبون یا نواری (TBR)*، شکل‌گیری رشته‌های طویل ساخته شده از سلول‌های به هم پیوستهٔ منشعبی دیده شدند که با ضخامت ۲ و گاهی ۳ سلول و با یک منظره پرچین مانند آرایش یافته بودند. هسته سلول‌های توموری، برجسته و سیتوپلاسم آنها مختصر مشاهده شد. هسته‌ها، نورموکروماتیک یا هیپرکروماتیک بوده و هستک‌های آنها نامعلوم بود (نگاره ۱- ت). در الگوی *تریکوبلاستوموای فرم گرانولار (TBG)*، جزایر کم و بیش کم تراکمی از سلول‌های نئوپلاستیک با دیوارهٔ سلولی مشخص و سیتوپلاسم وسیع گرانوله ائوزینوفیلیک و هسته‌های کوچک و هیپرکروماتیک مشاهده شدند. تعداد کمی نیز حالات در سلول‌ها دیده می‌شد (نگارهٔ ۱- ث). از بارزترین ویژگی‌های الگوی *تریکوبلاستوموای فرم مدوسوئید (TBM)* می‌توان به رشته‌های سلولی منشعبی اشاره کرد که از سمت تجمّعات سلولی مرکزی که دارای مقدار فراوانی سیتوپلاسم ائوزینوفیلیک هستند، به سمت خارج امتداد یافته بودند و الگوی پخش آنها حالت مدوزایی داشت. یک استرومای پررشته ائوزینوفیلیک با سلولاریتهٔ بسیار اندک نیز فضاهای اطراف این تجمعات را پر کرده بود. تجمعات سلولی منشعب گفته شده نسبت به استرومای پیرامون خود، بازوفیلیک به نظر می‌رسیدند (نگارهٔ ۱- ج). تغییرات بافتی مشاهده شده در الگوی *تریکواپیتلیوما (TE)* عبارت بودند از جزایری از سلول‌های نئوپلاستیک که به وسیله یک استرومای کلاژنی و یا در برخی نقاط موسینی محاط شده بودند. در مرکز این جزایر تجمعات کراتینی و سلول‌های شبح (ghost cell) مشاهده می‌شدند که وجود این سلول‌ها، دال بر تمایز تومور به ماتریکس مو می‌باشد.

لازم به ذکر است که سلول‌های شبح، در هر دو الگوی توموری تریکواپیتلیوما و پیلوماتریکوما دیده می‌شوند (۱۱). سلول‌های اپیتلیال خارجی یک جمعیت هتروژن بودند، شامل: سلول‌هایی که سیتوپلاسم ائوزینوفیلیک خفیف و هسته وزیکولی دارند (مانند سلول‌های قسمت پایینی ورقه خارجی ریشه مو)، سلول‌های کوچک با هسته هیپرکروماتیک و سیتوپلاسم کم (مانند سلول‌های تمایز نیافته پیاز مو)، سلول‌هایی با گرانول های کراتوهیالنی

www.SID.ir

داخل سیتوپلاسمی (مانند ورقه داخلی ریشه مو) (نگاره ۱- چ). سلول‌های توموری *تریکواپیتلیومای بدخیم (MTE)* به صورت یک تودهٔ ندولار اینفیلتره شده به داخل درم و بافت زیرجلدی مشاهده شدند. رشته‌ها و جزایری از سلول‌های بازوفیلیک که ضمن ارتباط با پوشش اپیدرمی و اینفاندیبولوم فولیکولی، به داخل درم نیز گسترش یافتگی داشتند. مرکز جزایر بزرگتر سلول‌های توموری، با تجمّعی از سلول‌های شبح با هسته هیپرکروماتیک و سیتوپلاسم ائوزینوفیلیک کمرنگ که دال بر کراتینه شدن ماتریکس است، همراه بود (نگارهٔ ۱- ح).



نگاره ۱: ۱ـ الف. آکانتومای کراتینه اینفاندیبولار (IKA) در سگ ماده ٤,٥ ساله (نژاد مخلوط). (H&E) (X40) / ۱- ب. تریکولمومای فرم پیازی (TLB) در سگ نر ٤ ساله (نژاد تریر). (H&E) (X100) / ۱- پ. تریکوبلاستومای فرم ترابکولار (TBT) در گربهٔ نر ۳,٥ ساله (نژاد مخلوط). (H&E) (X100) / ۱- ت. تریکوبلاستومای فرم ریبون یا نواری (TBR) در سگ نر ۲ ساله (نژاد تریر). (H&E) (X100) / ۱- ث. تریکوبلاستومای فرم گرانولار (TBG) در سگ نر ۱۱ ساله (نژاد تریر). پیکان آبی، متافاز و پیکان سبز، میتوز کامل شده را نشان می‌دهند. (H&E) (X100) / ۱- ج. تریکوبلاستومای فرم مدوسوئید (TBM) در سگ نر ٦ ساله (نژاد شیانلو). (H&E) (X40) / ۱- چ. تریکواپیتلیوما (TE) در سگ ماده ۱۰ ساله (نژاد مخلوط). (H&E) (X100) / ۱- ح. تریکواپیتلیومای بدخیم (MTE) در سگ ماده ۸ ساله (نژاد مخلوط). (H&E) (X40)

www.SID.ir

تومورهای اپیدرمال

۷ نمونه از کل ۵۰ نمونه، مربوط به تومورهای اپیدرمال (بافت پوششی) بودند که ٤ نمونه مربوط به بازال سل کارسینوما (BCC) و ۳ نمونه مربوط به لنفوسارکومای جلدی بودند. از ٤ مورد بازال سل کارسینومای مشاهده شده، ۱ نمونه مربوط به گربه و ۳ نمونه مربوط به سگ و از ۳ مورد لنفوسارکومای جلدی مشاهده شده، ۱ نمونه مربوط به گربه و ۲ نمونه مربوط به سگ بودند.

میانگین سنی سگ‌های درگیر با تومورهای اپیدرمال در مطالعهٔ حاضر، ٤/۰۸ ± ٦/۷ سال و میانگین سنی سگ‌های درگیر با کارسینوم سلول‌های بازال در مطالعهٔ حاضر، ۲/۰۵ ± ٦/۱٦ سال به دست آمد و همهٔ موارد درگیر با این تومور از جنس نر بودند. تنها مورد گربهٔ درگیر با این تومور، یک گربه پرشین مادهٔ ۲ ساله بود. میانگین سنی سگ‌های درگیر با لنفوسارکومای جلدی در مطالعهٔ حاضر، ۷/۵ سال به دست آمد و همه موارد درگیر با این تومور نیز از جنس نر بودند. تنها مورد گربه درگیر با این تومور، یک گربهٔ خانگی نر ٤ ساله بود.

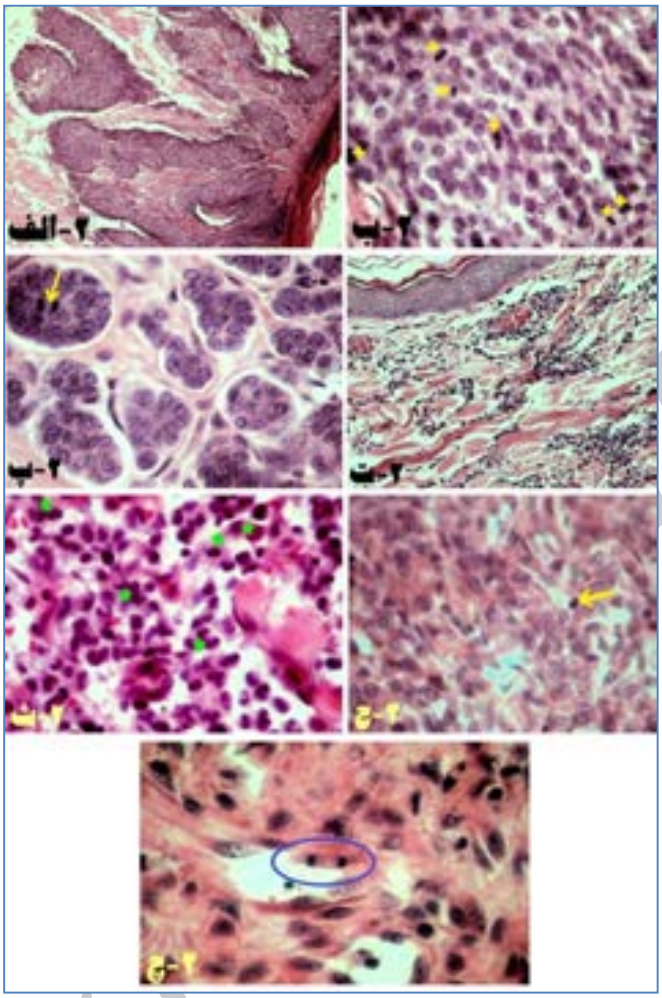
تغییرات قابل توصیف در نمونه‌های بازال سل کارسینوما در این مطالعه، اکثراً مطابق با شکل رایج (BCC) بودند. یعنی شامل توده‌هایی از سلول‌های بزرگ با هستهٔ مشخص هیپرکروماتیک که به حالت آجرچینی شده در یک گسترهٔ همبندی فیبروزه فراوان، محصور شده بودند. تعدادی نیز، دارای کانون‌های توپر سلولی متعدد با میزان سلول کمتر بودند که در حاشیهٔ هر کانون، چند ردیف سلول به حالت نردبانی و موازی با هم قرار داشتند و سلول‌های درونی‌تر، به صورت نامنظم و درهم و برهم قرار داشتند. در برخی نمونه‌ها، مناطق نکروزه‌ای نیز در درم زیرین مشاهده می‌شد.

با بزرگنمایی بیشتر، پلئومورفیسم و اشکال میتوزی نیز مشاهده شدند (نگاره‌های ۲- الف، ۲- ب و ۲-پ).

عمده مشاهدات ریزبینی در نمونه‌های لنفوسارکومایی بدست آمده، عبارتنداز: لنفوسیت‌های نئوپلاستیک که از سلول‌های تمایز یافته کوچک تا هیستیوسیتوئیدهای بزرگ، متغیر و به صورت منتشر یا در دستجاتی کوچک به داخل درم و اپیدرم تهاجم داشتند (نگارهٔ ۲- ت). اپیتلیوتروپیک بودن ضایعه، در دو مورد از نمونه‌ها، معیار تشخیص فرم اپیتلیوتروپیک تومور تلقی شد که در آنها اشکال میتوزی کاملاً اندک بودند و در برخی فیلدهای میکروسکوپی، اثری از میتوز دیده نمی‌شد. در این نمونه‌ها، با بزرگنمایی بیشتر انتشار یکدست این سلول‌های بازوفیلی، ابتدا تنها تغییر قابل مشاهده بود. اما بررسی‌های دقیق‌تر، حضور جمعیت لنفوسیتی را به همراه اشکال میتوزی فراوان در آنها آشکار ساخت (نگارهٔ ۲- ث). البته در یکی از نمونه‌های مورد بحث، لنفوسیت‌های نئوپلاستیک غالباً با لنفوسیت‌ها و پلاسماسل‌ها و هیستیوسیت‌های طبیعی درهم آمیخته و ذات نئوپلاستیک ضایعه چندان آشکار به نظر نمی‌رسید. اما می‌شد از روی پلئومورفیسم موجود (نگاره‌های ۲- ث، ۲- ج و ۲- چ) و نیز مشاهدهٔ اشکال میتوزی قابل توجه، به تشخیص نزدیک‌تر شد (نگاره‌های ۲- ث و ۲- ج).

Archive of SID

www.SID.ir

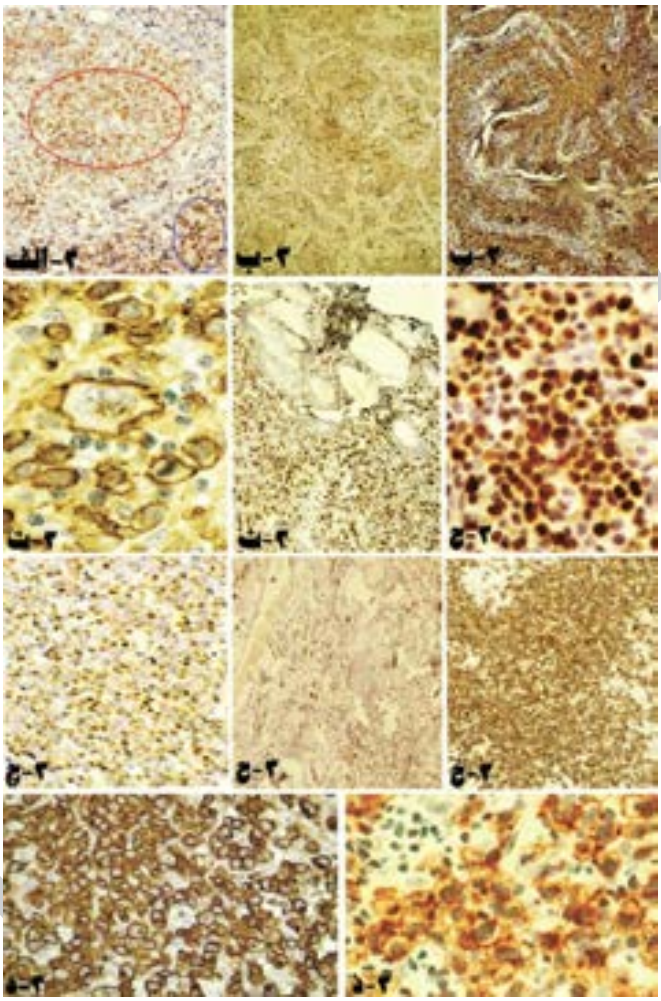


نگارهٔ ۲: ۲- الف. بازال سل کارسینوما (BCC) در سگ نر ٦ ساله (نژاد تریر). (H&E) (X40) / ۲- ب. بازال سل کارسینوما (BCC) در گربهٔ پرشین ماده ۲ ساله. پلئومورفیسم توأم با اشکال میتوزی فراوان (علامت‌های زردرنگ). (H&E) (X400) / ۲- پ. بازال سل کارسینوما (BCC) در سگ نر ۸ ساله (نژاد کولی). پلئومورفیسم توأم با یک فرم تلوفاز (پیکان زردرنگ). (H&E) (X400) / ۲- ت. لنفوسارکومای جلدی در سگ نر ۵ ساله (نژاد تریر). نفوذ سلول‌های لنفاوی به زیر اپیدرم و بین رشته های کلاژن دیده می‌شود. (H&E) (X40) / ۲- ث. لنفوسارکومای جلدی در گربه نر ٤ ساله. پلئومورفیسم جمعیت لنفوسیتی به همراه اشکال میتوزی فراوان (ستاره‌های سبز رنگ) (H&E) (X400) / ۲- ج. لنفوسارکومای جلدی در سگ تریر نر ۱۰ ساله. پلئومورفیسم و نیز مشاهدهٔ متافازِ میتوز در بافت توموری (پیکان زرد رنگ) (H&E) (X400) / ۲- چ. (مرتبط با نگارهٔ ۱۱): لنفوسارکومای جلدی در سگ نر ۵ ساله (نژاد تریر). پلئومورفیسم و نیز مشاهدهٔ تلوفاز میتوز (H&E) (X400)

تمامی موارد بدخیمی به دست آمده در این مطالعه (٤ مورد بازال سل کارسینوما و ۳ مورد لنفوسارکومای جلدی) به روش ایمونوهیستوشیمی و با مارکرهای P53 و Ck8 برای بازال سل کارسینوما و مارکرهای P53 ، Ki67 و CD99 برای لنفوسارکومای جلدی، تحت بررسی قرار گرفتند. بر اساس نتایج رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی به دست آمده از مطالعهٔ حاضر ـ صرف‌نظر از نوع حیوان مبتلا ـ میزان بیان مارکر P53 در نمونه‌های بازال سل کارسینوما در ۱ مورد (+۱) و در ۳ مورد (+۲) و همچنین در همه نمونه‌های لنفوسارکومای جلدی (+۲) ارزیابی گردید. همچنین میزان

www.SID.ir

بیان مارکر Ck8 در نمونه‌های بازال سل کارسینوما در ۳ مورد (۱+) و در ۱ مورد (۳+) بود. میزان بیان مارکر Ki67 در نمونه‌های لنفوسارکومای جلدی در ۲ مورد (۱+) و در ۱ مورد (۲+) و بالاخره میزان بیان مارکر CD99 در تمامی نمونه‌های لنفوسارکومای جلدی (۲+) ارزیابی گردید. نگارهٔ ۳ به همراه جداول ۲ تا ۵، نتایج رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی به دست آمده از مطالعهٔ حاضر را به تفکیک جنس و گونهٔ حیوان مبتلا نشان می‌دهند.



نگارهٔ ۳: ۳- الف. بازال سل کارسینوما در سگ. P53 (۲+). برخی از هسته‌ها (ناحیهٔ مشخص شده با خط قرمز) رنگ‌پذیری کمتری نسبت به بقیهٔ نواحی (ناحیهٔ مشخص شده با خط آبی) دارند. (X100) / ۳- ب. بازال سل کارسینوما در سگ. P53 (۱+). رنگ‌پذیری کمتر هسته‌ها نسبت به نمونهٔ قبلی. (X40) / ۳- پ. بازال سل کارسینوما در گربه. Ck8 (۳+). رنگ‌پذیری مناسب سیتوپلاسم سلول‌ها. (X40) / ۳- ت. بازال سل کارسینوما در سگ. Ck8 (۲+). رنگ‌پذیری متوسط سیتوپلاسم سلول‌ها. (X400) / ۳- ث. لنفوسارکومای جلدی در سگ. P53 (۲+). رنگ‌پذیری هستهٔ سلول‌ها. (X100) / ۳- ج. لنفوسارکومای جلدی در گربه. P53 (۲+). رنگ‌پذیری هستهٔ سلول‌ها. (X400) / ۳- چ. لنفوسارکومای جلدی در گربه. Ki67 (۱+). رنگ‌پذیری منتشر هستهٔ سلول‌ها. (X100) / ۳- ح. لنفوسارکومای جلدی در سگ. Ki67 (۱+). رنگ‌پذیری متوسط منتشر هستهٔ سلول‌ها. (X40) / ۳- خ. لنفوسارکومای جلدی در سگ. CD99 (۲+). رنگ‌پذیری مناسب غشاء سلول‌ها. (X40) / ۳- د. لنفوسارکومای جلدی در سگ. CD99 (۲+). رنگ‌پذیری مناسب غشاء سلول‌ها. (X400) / ۳- ذ. لنفوسارکومای جلدی در گربه. CD99 (۲+). رنگ‌پذیری نسبی غشاء سلول‌ها. (X400)

www.SID.ir

جدول ۲ـ نتایج بیان مارکرهای P53 و Ck8 در نمونه‌های بازال سل کارسینوما به تفکیک نوع حیوان

حیوان مبتلا	P53	Ck8
سگ	+۱	+۲
سگ	+۲	+۲
سگ	+۲	+۲
گربه	+۲	+۳

جدول ۳ـ نتایج بیان مارکرهای P53 و Ki67 و CD99 در نمونه‌های لنفوسارکومای جلدی به تفکیک نوع حیوان

حیوان مبتلا	P53	Ki67	CD99
سگ	+۲	+۲	+۲
سگ	+۲	+۱	+۲
گربه	+۲	+۱	+۲

جدول ٤ـ میزان بیان مارکرهای P53 و Ck8 در نمونه‌های بازال سل کارسینوما

نوع مارکر	(–)	(+۱)	(+۲)	(+۳)
P53	–	۱	۳	–
Ck8	–	–	۳	۱

جدول ۵ـ میزان بیان مارکرهای P53 و Ki67 و CD99 در نمونه‌های لنفوسارکومای جلدی

نوع مارکر	(–)	(+۱)	(+۲)	(+۳)
P53	–	–	۳	–
Ki67	–	۲	۱	–
CD99	–	–	۳	–

بحث

Goldschmidt و همکاران (۲۰۰۵) مطالعه‌ای را بر پایهٔ اپیدمیولوژی تومورهای متمایز به ساختار فولیکول مو انجام داده‌اند. جزئیات اطلاعات این مطالعه بر فراوانی توزیع سنّی و جنسی (نر و مادهٔ سالم و مادهٔ عقیم شده)، محل های وقوع و همچنین میزان درگیری در نژاد های مختلف سگ استوار است (۱۰). Scott و همکاران در سال ۲۰۰۸ با انجام یک بررسی گذشته نگر روی ۸۰ نمونه از نئوپلاسم های مربوط به ساختارهای فولیکول مو در بازهٔ زمانی ۱۹۸٦ تا ۱۹۸۷، اعلام کردند که این دسته از تومور ها ۵/۳ ٪ کلّ موارد تومور های پوست سگ را تشکیل می دهند (۱٦).

در مطالعهٔ حاضر، الگوی آکانتومای کراتینهٔ اینفاندیبولار در یک قلاده سگ مادهٔ ٤/۵ ساله رخ داده بود. سگ تنها گونه ایست که درگیر این تومور می شود(۹). این تومور در سگ شایع بوده و بخصوص در سنین ٤ تا ۹ سال بوجود می آید (۹). مطالعهٔ Bidur و همکاران در سال ۲۰۰۷ ، به ۲۱ مورد (۲/۹٪) وقوع آکانتومای کراتینهٔ اینفاندیبولار از مجموع ۷٤۸ مورد تومور پوستی در سگ اشاره نموده است (۵). در گزارشی که در سال ۲۰۰۹ توسط اختردانش و همکاران منتشر شد، به فرم غیرمتعارفی از هیپرکراتوز آکانتوماتوز منتشر در گربه اشاره شده است که بسیار مشابه (IKA) بوده است (۲).

در خصوص الگوی تریکواپیتلیوما (TE) نیز می‌توان اذعان داشت که به غیر از چند مورد ثبت گزارشات و یا مطالعات گذشته‌نگر، مطالعهٔ چندانی صورت نگرفته است. در تحقیق حاضر، الگوی تریکواپیتلیوما مربوط به یک قلاده سگ ماده ۱۰ ساله از نژاد مخلوط بود. این تومور خوش خیم است که به هر سه قسمت فولیکول مو تمایز نشان می‌دهد و تریکوژنز (موزایی) ناقص یا بی نتیجه در آن مشاهده می‌شود. تریکواپیتلیوما در سگ شایع، در گربه غیر معمول و در بقیه گونه‌ها نادر بوده و یا تشخیص داده نشده‌اند. این تومور در سگ‌هایی اتفاق می‌افتد که در محدوده سنی ۱ تا ۱۵ سال قرار دارند ولی بیشتر موارد ایجاد شده در سنین بین ۵ تا ۹ سال است (۹). Bidur و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعهٔ

Archive of SID

www.SID.ir

خود، به ۱۱ مورد (۱/٤۷٪) وقوع تریکواپیتلیوما از مجموع ۷٤۸ مورد تومور پوستی در سگ اشاره کرده‌اند (۵). تراز حدود ۷۸/۸ درصدی وقوع تریکواپیتلیوما که در مطالعه Scott و همکاران در سال ۲۰۰۸ اعلام گردید، یک یافتهٔ جالب توجه است که تاکنون در جایی به آن اشاره نشده است (۱٦). لازم به ذکر است که این محققین اشاره ای به خوش خیم یا بدخیم بودن نمونه‌های تریکواپیتلیومای بدست آمده نکرده اند.

تریکوبلاستوما توموری خوش خیم بوده که یا از ریشهٔ موی در حال تشکیل در فولیکول مو مشتق می‌گردد و یا به آن تمایز نشان می‌دهد. این تومور سابقاً تحت عنوان تومور سلول‌های بازال خوانده می شد. البته در حال حاضر نیز در اغلب متون علمی، به همین نام خوانده می‌شود. این تومور در سگ و گربه شایع، در اسب غیر شایع و در سایر گونه‌ها نادر است. در سگ‌ها غالباً این تومور در سنین ٤ تا ۹ سال اتفاق می‌افتد(۹). فرم ریبون یا نواری تریکوبلاستوما (TBR) که در این مطالعه به دست آمد، مربوط به یک قلاده سگ تریر نر ۲ ساله بود. اشرفی هلان و همکاران (۲۰۰۵) نیز رخداد یک مورد تریکوبلاستومای فرم ریبون یا نواری را در یک رأس خرگوش گزارش نمودند (٤). تنها نمونهٔ تریکوبلاستومای فرم مدوسوئید به دست آمده در این مطالعه متعلق به یک قلاده سگ شیانلوی نر ٦ ساله بود. تریکوبلاستومای فرم مدوسوئید علیرغم اینکه شبیه فرم ریبون است، اما به هرحال رشته‌های سلولی، از سمت تجمّعات سلولی مرکزی که دارای مقدار فراوانی سیتوپلاسم ائوزینوفیلیک هستند، به سمت خارج منشعب می‌شوند. این نوع تومور با بیشترین تکرارپذیری در سگ دیده می‌شود (۹). نمونهٔ تریکوبلاستومای فرم گرانولار به دست آمده در این مطالعه، متعلق به یک قلاده سگ تریر نر ۱۱ ساله بود. الگوی تریکوبلاستومای فرم ترابکولار موجود در یافته‌های مطالعهٔ حاضر، به یک گربه نر ۳/۵ ساله خانگی از نژاد مخلوط تعلق داشت. این نوع تومور با بیشترین تکرارپذیری در گربه دیده می‌شود(۹). Bidur و همکاران در مطالعهٔ خود، بدون اشاره به فرم خاصی از این تومور، به ۱۵ مورد (۲/۰۱ ٪) از مجموع ۷٤۸ مورد تومور پوستی در سگ اشاره کرده‌اند (۵).

تریکولمومای فرم پیازی به دست آمده در این مطالعه، به یک قلاده سگ تریر نر ٤ ساله تعلق داشت. این تومور در سگ‌ها غیر شایع و در دیگر گونه‌ها نادر بوده و یا شرح داده نشده است(۹). Bidur و همکاران در مطالعهٔ خود، بدون اشاره به فرم خاصی از این تومور، به ۲ مورد (۰/۲ ٪) از مجموع ۷٤۸ مورد تومور پوستی در سگ اشاره کرده اند (۵). Diters و همکاران در سال ۱۹۸۳ وقوع تومور هایی را در ٦ قلاده سگ گزارش نمودند که شباهت بسیاری به تریکولموما داشتند (۸). تراز پایین ۱/۲ درصدی وقوع تریکولمومای بدست آمده از مطالعه گذشته‌نگر Scott و همکاران (۲۰۰۸) بر روی ۸۰ قلاده سگ، بدون اشاره به فرم خاصی از این تومور اعلام شده است (۱٦).

تریکواپیتلیومای بدخیم موجود در یافته های این مطالعه، مربوط به یک قلاده سگ ماده ۸ ساله از نژاد مخلوط بود. این تومور غیر شایع پوست، فقط در سگ‌ها شرح داده شده است و هیچ وابستگی به سن و جنس و گونه در مورد وقوع این تومور شرح داده نشده است (۹). Bidur و همکاران در مطالعهٔ خود، به ۱ مورد (۰/۱۳٪) تریکواپیتلیومای بدخیم از مجموع ۷٤۸ مورد تومور پوستی در سگ اشاره کرده‌اند (۵).

در مطالعه گذشته نگر ٤۲ ماههٔ Bidur و همکاران (۲۰۰۷) در خصوص تومورهای جلدی سگ‌ها در کره جنوبی، پس از بررسی ۲۹۵۲ نمونهٔ توموری بیوپسی شده در نژادهای مختلف سگ، ۷٤۸ مورد مربوط به انواع تومورهای پوست اعلام شد که در این بین، تومور های فولیکولی و اپیدرمال با ۷٤ مورد فراوانی (۹/۹٪) را به خود اختصاص دادند (۵). میانگین سنی سگ‌های درگیر با تومورهای فولیکولی در مطالعهٔ حاضر، ۳/۰٦ ± ٦/۵ سال به دست آمد.

www.SID.ir

۷ نمونه از کل ۵۰ نمونهٔ مطالعهٔ حاضر، مربوط به تومورهای اپیدرمال بودند و میانگین سنی سگ‌های درگیر با این تومورها ٦/٤٤ ±۲/۷٤ سال به دست آمد.

کارسینوم سلول‌های بازال (BCC) یکی از سرطان های شایع پوست در سگ و انسان و نسبتاً رایج در گربه بوده و به ندرت در سایر حیوانات اهلی مشاهده می شود. بر اساس مشاهدات انجام شده در مطالعات گذشته نگر قبلی، میانگین سن ابتلاء به این تومور در سگ‌ها حدود ۷ سال است و میزان وقوع در نرها بیشتر از ماده‌ها می‌باشد. کارسینوم سلول‌های بازال، فاقد تمایزات اپیدرمی و ضمائم پوستی بوده و به لحاظ مورفولوژی، مشابه سلول‌های بازال طبیعی اپیدرم می باشد. به طور معمول در سگ‌ها، کمتر در گربه‌ها و به ندرت در دیگر گونه‌ها گزارش شده است. گربه‌ها و سگ‌های سه تا چهارده ساله به این تومور مبتلا می‌شوند (۹). از ٤ مورد بازال سل کارسینومای مشاهده شده، ۱ نمونه مربوط به گربه و ۳ نمونه مربوط به سگ بودند. میانگین سنی سگ‌های درگیر با کارسینوم سلول‌های بازال در مطالعهٔ حاضر، ۳/۳٦ ± ٥/٨٦ سال به دست آمد و فراوانی جنس مادهٔ درگیر با این تومور نیز بیشتر بود.

لنفوما/لنفوسارکوما توده های توموری پر سلول و متراکمی به ویژه در اندام های لنفاوی هستند (۹). از ۳ مورد لنفوسارکومای جلدی مشاهده شده در این مطالعه، ۱ نمونه مربوط به گربه و ۲ نمونه مربوط به سگ بودند. میانگین سنی سگ‌های درگیر با لنفوسارکومای جلدی در مطالعهٔ حاضر، ۰/۲۹± ۷/۵ سال به دست آمد.

بررسی فراوانی موتاسیون P53، در بیش از ۱۰۰۰۰ تومور نشان داده است که احتمال کسب موتاسیون P53 بطور برجسته‌ای بسته به بافتی که از آن تومور منشاء می گیرد متفاوت است. برای مثال در سرطان ریه، فراوانی موتاسیون P53 بیش از ۷۵ ٪ است. در صورتیکه در تومورهای پستان، حدود ۳۰ ٪ و در لوسمی‌ها که موتاسیون P53 را کسب نموده اند، کمتر از ۵ ٪ است. تاکنون نقش ژن P53 در بسیاری از تومورهای انسانی مورد مطالعه قرار گرفته است. در برخی از سرطان ها تا ۵۰ ٪ موارد در ژن P53 جهش دیده می شود که حدود ۸۷ ٪ موارد جهش‌ها در اگزون‌های ۵ تا ۸ هستند. موتاسیون ژن P53 در انواع تومورهای دامی نظیر تومور سلول‌های سنگفرشی پوست، تومور پستان سگ، لنفوم، سرطان کولون، سرطان ریه، استئوسارکوم و ماست سل تومور گربه نیز گزارش شده است. مطالعه ای بر روی SCC پلک سگ‌ها، نشان دهنده بیان ٦٨٪ پروتئین P53 در این نمونه‌ها بوده است. همچنین مطالعه‌ای بر روی ۱۵ عدد تومور SCC پلک نشان دهندهٔ آن بوده است که ۱۰ مورد از تومورها P53 مثبت بوده اند. نتیجهٔ میزان بیان P53 را در تومور SCC ملتحمه در گربه، گاو و اسب نیز نشان داده است که بیان بیش از حد ژن P53 ارتباط مستقیم با جهش القاء شده ناشی از اشعه فرابنفش خورشید دارد (۱). رضایی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۲، بیان پروتئین P53 را در یک قلاده سگ لابرادور میکس مبتلا به لنفوم زیرجلدی گزارش نمودند (۱۵).

Pena و همکاران در سال ۱۹۹۸ با مطالعه میزان بیان این مارکر در سگ‌های مبتلا به سرطان پستان و ارتباط آن با اندیکس میتوزی، نشان دادند که هرچه اندیکس میتوزی کمتر باشد، میزان بیان مارکر ki67 نیز در هسته سلول‌های توموری کمتر بوده و پیش آگهی تومور بهتر است (١٤). مطالعه Carvalho و همکاران (۲۰۰۵) بر روی میزان بیان مارکر ki67 در SCC چشم گاو حاکی از آن بود که اندکس ki67 ارتباط معناداری با الگوی هیستولوژیک تومور و میزان پرولیفراسیون سلولی دارد. بدین ترتیب هرچه میزان بیان مارکر فوق در توموری شدیدتر و میزان تکثیر و تزاید سلولی بسیار زیاد باشد، تومور از نظر تمایز ضعیف تر خواهد بود. ولی ارتباط معنی‌داری میان میزان بیان این مارکر و درجه بدخیمی تومور مشاهده نگردید(٦). در مطالعهٔ حاضر نیز، بیان همزمان P53 و ki67 در نمونه‌های مربوط به لنفوسارکومای جلدی دیده شد. Apaydin و همکاران نیز در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۵ انجام دادند، بیان داشتند که Ck1-8 مؤید رخداد تومور بازال سل کارسینوماست (۳). Kooy و همکاران در سال ۱۹۹۵ نقش ویژهٔ Ck8 را در شناسایی ۹۱٪ موارد ارجاعی بازال سِل کارسینوما بیان نمودند (۱۳). Kooy و

Archive of SID

www.SID.ir

همکاران در سال ۱۹۹٦ نیز به انضمام تکیه بر یافته‌های تکنیک میکروسکوپ الکترونی، بر نقش Ck8 در شناسایی بازال سل کارسینومای درجا صحه گذاردند (۱۲). Yamamoto و همکاران در سال ۱۹۹۹ با بررسی چند نوع از مارکرهای سیتوکراتینیِ مختلف در انسان از جمله CK8، اعلام کردند که بیان این مارکرها قضاوت را در مورد افتراق صحیح بازال سل کارسینوما از فیبروما‌ی تریکوبلاستیک و تریکواپیتلیوما تسهیل می‌کند. بیان CK8 و عدم بیان CK7 در اکثر نمونه‌های بازال سل کارسینوما از یافته‌های حائز اهمیت این مطالعه بود (۱۸).

CD99، یک مارکر مفید برای تمایز نوروبلاستوماها از سایر تومورهای دارای سلول‌های گرد و کوچک (small round cell tumors) می باشد. بررسی انواع موارد لنفوما و لنفوسارکوما در انسان، واکنشِ مارکر CD99 را به خوبی نشان داده است. استفاده از مارکر CD99 برای تشخیص لکوسیت ها سودمند است. این مارکر در موارد (Round Cell Tumors) جهت افتراق لنفوسیت‌ها از سایر تک هسته‌ای‌ها از جمله پلاسماسل توصیه شده است (۷). در خصوص دستیابی به یک پیشینه تحقیق قابل مقایسه با یافته‌های ایمونوهیستوشیمیایی مطالعهٔ حاضر، اذعان می دارد که به این شیوه و نیز به لحاظ استفاده از مارکر های P53 و Ck8 به صورت توأماً و یا حتی منفرد برای بازال سل کارسینوما و مارکرهای P53 و Ki67 و CD99 توأماً و منفرد برای لنفوسارکومای جلدی در سگ و گربه، تاکنون موردی یافت نشده است. نتیجهٔ نهایی حاصل از این مطالعه آن است که مارکرهای P53 و Ck8 در مورد بازال سل کارسینوما و P53 و Ki67 و CD99 در مورد لنفوسارکومای جلدی نیز در سگ و گربه، یک پانل تشخیصی سودمند خواهند بود که می‌توان از آن بهره جست.

شمار بسیاری از ضایعات جلدی و علی الخصوص، توموری مرتبط با موضوع این مطالعه ممکن است به کرات در انواع گونه‌های حیوانی حادث شوند که یا مورد توجّه موشکافانهٔ درمانگران واقع نمی‌شوند و یا اصلاً به آزمایشگاه های تشخیص پاتولوژی ارسال نمی‌گردند. ضرورت تعیین نوع و نامگذاری دقیق برای این تومورها، از اهمیت فراوانی برخوردار است و بایستی از یک متد مشخص و دقیق استفاده نمود که به نظر می رسد بر طبق اصول گفته شده در کتاب تومورشناسی حیوانات اهلی (۹)، بتوان به این ضرورت دست یافت که در نهایت نتایج این تحقیق در سایر موارد مشابه نیز می تواند قابل بحث و استنباط باشد.

با عنایت به اینکه بطورکلی، کلیّتِ دنیای تومورها و علل وقوع و شیوع آنها، تاکنون همواره ممزوج با ناشناخته‌ها بوده و نیز اینکه عوامل زیادی ممکن است مستقیم یا غیرمستقیم سبب ایجاد این ضایعات گردند و از سویی نیز ممکن است برخی فاکتورها، چهره هیستولوژیک این الگوها را دستخوش تغییر قرار دهند و نهایتاً با توجه به تنوع و استعدادهای نژادی حیواناتی مانند سگ و گربه، توصیه می‌شود در آینده مطالعاتی جامع‌تر، با حذف عوامل مخدوشگر و نیز دخالت مستقیم و مؤثر یکسری از فاکتورها و متغیرها از جمله سن، جنس و نژاد طراحی و انجام شوند. چرا که طی مطالعه حاضر، به دلیل محدودیت‌های زمانی و مکانی و صد البته اقتصادی، امکان آزادی عمل و انجام اقدامات لازم، جهت نیل به نتایج جامع تر، میسر نشد.

بهتر آن است که مطالعات آتی که در این زمینه انجام خواهند شد، تک تک در مورد هر کدام از گونه‌های حیوانی سگ و گربه انجام گیرند و حتی مسئله تفکیک نژاد، سن و جنس و ... نیز لحاظ گردند. از سوی دیگر نیز استفاده از تکنیک ایمونوهیستوشیمی با مارکرهای دیگر به شرح زیر توصیه می‌گردد. حتی‌الامکان نیز از کیت‌های مخصوص حیوانات استفاده شود تا اینکه یک نتیجه کلی و نهایی در خصوص این تومورها و فراوانی آنها و حتی بررسی اتیوپاتولوژی و چه بسا روش‌های درمانی آنها نیز فراهم آید. بررسی جامع تر و دقیق تر این الگوها در آینده، با در نظر گرفتن یکسری متغیرها و حذف برخی عوامل مخدوش‌گر، توأم با لحاظ نمودن اطلاعات مربوط به یافته‌های بالینی و ضایعات ظاهری و... دید کلی بهتری را در خصوص اتیوپاتولوژی و فراوانی مطلق و نسبی این ضایعات، فراهم خواهد آورد.

Archive of SID
www.SID.ir

فهرست منابع

۱. سهرابی حقدوست، الف. (۱۳۷۰): سرطانزایی و سرطان شناسی دامپزشکی، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ایران،: ۱۳۱ – ۲۰۸.

2. Akhtardanesh, B., Derakhshanfar, A., Ghanbarpour, R. (2009): Unusual Case of Acanthomatous Hyperkeratosis in a Domestic Short Hair Cat. Online J.Vet.Res. 13(1): 32-40.
3. Apaydin, R., Gürbüz, Y., Bayramgürler, D., Bi˙len, N. (2005): Cytokeratin Contents of Basal Cell Carcinoma, Epidermis Overlying Tumour, and Associated Stromal Amyloidosis; An Immunohistochemical Study. ISA. J.Vol. 12(1): 41-47.
4. Ashrafi Halan, J. (2005): Trichoblastoma in a Rabbit. J.Vet. Med. Tehran Univ. 3: 301-302.
5. Bidur, P., Kang, M.S., Bae, H.I., Park, M.S., Jee, H., You, M.H., Kim, J.H., Yoon, B.I., Choi, Y.K., Kim, D.Y. (2007): Retrospective Study of Canine Cutaneous Tumors in Korea. J.Vet. Sci. 8(3): 229–236.
6. Carvalho, T., Vala, H., Pinto, C., Pinho, M., Pleteiro, M.C. (2005): Immunohistochemical Studies of Epithelial Cell Proliferation and P53 Mutation in Bovine Ocular Squamous Cell Carcinoma. J.Vet.Pathol. 42(1): 66-73.
7. Dabbs, D.J. (2010): Diagnostic Immunohistochemistry; Theranostic and Genomic Applications 3rd edition. Saunders; Elsevier. 1-57, 464-499.
8. Diters, R.W., Goldschmidt, M.H. (1983): Hair Follicle Tumors Resembling Tricholemmoma in Six Dogs. J.Vet.Pathol. 20: 123–125.
9. Goldschmidt, M.H., Hendrick, M.J. (2002): Tumors of the Skin and Soft Tissues. In: Tumors in Domestic Animals, 4th edition (ed. Meuten D.J.). Iowa State Press: Iowa; 45-117.
10. Goldschmidt, M.H., Shofer, F.S. (2005): Tumors with Differentiation to Hair Follicular Structures. Web Site of Abramson Cancer Center of the University of Pennsylvania.
11. Hargris, A.M., Ginn, P.E. (2007): The Integument. In: Pathologic Basis of Veterinary Diseases, 4th edition (eds. McGavin, M.D., Zachary, J.F.). Mosby, Missouri; 1107-1261.
12. Kooy, A.J.W., Tank, B., DeJong, T.A.W., Vuzevski, V.D., Bosman, F.T., VanJoost, T. (1996): Expression of Cytokeratin8 in Basal Cell Carcinoma; A Comparative Immunohistochemical and Immunoelectron Microscopy Study. Anticancer.Res. 16: 277-282.
13. Kooy, A.J.W., Tank, B., Vuzevski, V.D., VanJoost, T. (1995): Expression of Cytokeratin8 and Other Low Molecular Weight Cytokeratins in Human Basal Cell Carcinoma. Anticancer.Res. 15: 241-247.
14. Pena, L.L., Nieto, A.I., Rerez-Alenza, D., Cuesta, P., Castano, M. (1998): Immunohistochemical Detection of Ki67 and PCNA in Canine Mammary Tumours; Relationship to Clinical and Pathologic Variables. J.Vet.Diagn.Investig. 10:237–246.
15. Rezaie, A., Tavassoli, A. (2012): P53 Expression in a Mixed Labrador Subcutaneous Lymphoma. Vet.Res.Forum. 3 (2): 147 - 149.
16. Scott, D.W., Anderson, W.I. (2008): Canine Hair Follicle Neoplasms; a Retrospective Analysis of 80 Cases (1986 – 1987). J.Vet.Dermatol. 2(3-4):143 – 150.
17. WHO (1998): Histological Classification of Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin of Domestic Animals. 2nd Series, vol.3, Armed Force Institute of Pathology (AFIP). Washington D.C.
18. Yamamoto, O., Asahi, M. (1999): Cytokeratin Expression in Trichoblastic Fibroma (small nodular type trichoblastoma), Trichoepithelioma and Basal Cell Carcinoma. Br J Dermatol. Jan.140(1):8-16.

Archive of SID

www.SID.ir