

# بررسی ارزش رنگ آمیزی Phosphotungstic acid haematoxylin (PTAH) در تشخیص افتراقی تومورهای غدد بزاقی

## در تشخیص افتراقی تومورهای غدد بزاقی

دکتر فرشته بقائی نائینی \* دکتر اسماعیل یزدی \*\* دکتر مریم سید مجیدی \*\*\*

\* استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی فک و دهان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

\*\* استاد گروه آموزشی آسیب شناسی فک و دهان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

\*\*\* استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی فک و دهان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی بابل

**Title:** An evaluation on the importance of phosphotungstic acid haematoxylin (PTAH) staining in differential diagnosis of salivary gland neoplasms

**Authors:** Baghaie Naeini F. Assistant Professor\*, Yazdi E. Professor\*, Seyed Majidi M. Assistant Professor\*\*

**Address:** \*Dept. of Oral and Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences

\*\*Dept. of Oral and Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences

**Abstract:** The differential diagnosis between pleomorphic adenoma, the most common salivary gland neoplasm, microscopically, and two other common salivary gland neoplasms, meaning adenoid cystic carcinoma and mucoepidermoid carcinoma, is difficult. The purpose of this study was to determine the differences between pleomorphic adenoma, adenoid cystic carcinoma and mucoepidermoid carcinoma regarding the staining intensity with PTAH and H&E and also to investigate the relationship between staining intensity with PTAH and malignancy grade in mucoepidermoid carcinoma. 72 paraffin embedded samples including 24 pleomorphic adenoma, 24 adenoid cystic carcinoma and 24 mucoepidermoid carcinoma were selected and stained with PTAH. The staining intensity in total, in nucleus and cytoplasm of tumoral cells were evaluated and compared with H & E staining, statistically. The results were analyzed by Kruskal-Wallis, and Wilcoxon signed ranks tests ( $P < 0.05$ ). The logistic model was presented to predict the degree of malignancies through the assessment of nucleus and cytoplasm staining intensity in tumoral cells, and the patient's age. In this study, a statistically significant relationship was observed between staining intensity by PTAH and H&E in nucleus of tumoral cells in pleomorphic adenoma. Moreover, statistically significant relation between staining intensity by PTAH and H&E in cytoplasm of tumoral cells in adenoid cystic carcinoma was found. But there was no relation in other cases. On the other hand, a statistically significant relation between intensity of staining in total, in nucleus and cytoplasm of tumoral cells and the type of tumor was found. No relation was obtained between malignancy grade of mucoepidermoid carcinoma and staining intensity in total, in nucleus and cytoplasm of tumoral cells. The presented logistic model indicated a direct relation between tumor malignancy with patient's age and staining intensity in nucleus of tumoral cells, but a reverse relation was found between cytoplasm staining intensity in tumoral cells and tumor malignancy. Our findings show that PTAH and H & E staining methods, lead to similar results, however, PTAH staining is a reliable method in differential diagnosis of such salivary gland tumors.

**Key Words:** Pleomorphic Adenoma – Adenoid Cystic Carcinoma – Mucoepidermoid Carcinoma – PTAH – Differential Diagnosis.

*Journal of Dentistry. Tehran University of Medical Sciences (Vol. 15, No. 4, 2003)*

## چکیده

تشخیص افتراقی بین پلئومورفیک آدنوما به عنوان شایعترین نئوپلاسم غده بزاقی از نظر تغییرات ریزینی با دو نئوپلاسم شایع دیگر غدد بزاقی، آدنوئید سیستیک کارسینوما و موکوپای درموئید کارسینوما دشوار و پیچیده می‌باشد. این مطالعه با هدف مقایسه شدت رنگ‌پذیری بین پلئومورفیک آدنوما، آدنوئید سیستیک کارسینوما و موکوپای درموئید کارسینوما در رنگ‌آمیزی با PTAH و H&E و نیز ارتباط بین شدت رنگ‌پذیری با PTAH و درجه بدخیمی در موکوپای درموئید کارسینوما انجام شد. ۷۲ نمونه پارافینه شامل ۲۴ مورد پلئومورفیک آدنوما، ۲۴ مورد آدنوئید سیستیک کارسینوما و ۲۴ مورد موکوپای درموئید کارسینوما انتخاب و برشها با PTAH رنگ‌آمیزی گردیدند. شدت رنگ‌پذیری به طور کلی و شدت رنگ‌پذیری هسته و سیتوپلاسم سلول‌های تومورال تعیین و با نتایج حاصل از روش رنگ‌آمیزی H&E مقایسه گردید. در تحلیل نتایج، از آزمونهای Kruskal-Wallis و Wilcoxon signed ranks استفاده شد. مدل Logistic برای بدست آوردن نسبت احتمال خوش‌خیم یا بدخیم بودن تومور با استفاده از شدت رنگ‌پذیری هسته و سیتوپلاسم سلول‌های تومورال و سن بیمار ارائه شد. در این مطالعه، بین شدت رنگ‌پذیری هسته سلول‌های تومورال در پلئومورفیک آدنوما و نیز بین شدت رنگ‌پذیری در سیتوپلاسم سلول‌های تومورال در آدنوئید سیستیک کارسینوما در دو روش رنگ‌آمیزی، تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید، اما در سایر موارد ارتباطی دیده نشد. از طرف دیگر، بین شدت رنگ‌پذیری کلی، هسته و سیتوپلاسم سلول‌های تومورال و نوع تومور ارتباط آماری معنی‌داری بدست آمد. بین درجه بدخیمی موکوپای درموئید کارسینوما و شدت رنگ‌پذیری کلی، شدت در هسته و سیتوپلاسم سلول‌های تومورال ارتباطی ملاحظه نشد. در مدل Logistic ارائه شده معلوم شد ارتباط مستقیمی بین بدخیم بودن تومور با سن بیمار و شدت رنگ‌پذیری هسته سلول‌های تومورال وجود دارد ولی شدت رنگ‌پذیری سیتوپلاسم سلول‌های تومورال و بدخیم بودن تومور با هم نسبت معکوس داشتند. یافته‌ها نشان داد که این دو روش رنگ‌آمیزی نتایج تقریباً مشابهی دارند ولی PTAH در تشخیص افتراقی ضایعات مورد نظر مؤثر و مفید می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: پلئومورفیک آدنوما - آدنوئید سیستیک کارسینوما - موکوپای درموئید کارسینوما - PTAH - تشخیص افتراقی

مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران (دوره ۱۵، شماره ۴، سال ۱۳۸۱)

## مقدمه

مانند ایمونوهیستوشیمی، میکروسکوپ الکترونی، روشهای مختلف بیولوژی سلولی و سینتوزنتیک استفاده شده است معذالک، هزینه بالا و روشهای پیچیده اجرایی، استفاده روزمره از آنها را با محدودیتهایی مواجه می‌سازد.

رنگ‌آمیزیهای اختصاصی روشهای ساده و در عین حال قابل دسترسی می‌باشند که در تشخیص افتراقی بسیاری از تومورها مطرح می‌گردند. تعداد زیادی از تومورهای غدد بزاقی از سلول‌های اپی‌تلیال و میوپای تلیال منشا می‌گیرند و تعداد دیگری نیز واجد سلول‌های انکوسیت می‌باشند (۲). از آنجایی که هر دو نوع این سلول‌ها با رنگ‌آمیزی

پلئومورفیک آدنوما شایعترین تومور غدد بزاقی است که شباهتهای بسیاری با دو تومور شایع دیگر غدد بزاقی یعنی موکو اپیدرموئید کارسینوما و آدنوئید سیستیک کارسینوما دارد به نحوی که گاه تشخیص میکروسکوپی این ضایعات از یکدیگر بسیار دشوار می‌باشد (۱).

همچنین به دلیل تفاوت‌های بسیار در پیش آگهی و روشهای درمانی، تشخیص قطعی نوع ضایعه و در نهایت طرح و اجرای درمان صحیح آن از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشد. در این راستا گرچه از روشهای پیشرفته و متعددی

اسلایدها با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند و وجود یا عدم وجود رنگ پذیری و شدت رنگ پذیری کلی، همچنین شدت در هسته و سیتوپلاسم سلول‌های تومورال مورد ارزیابی قرار گرفت. شدت رنگ پذیری به منفی، ضعیف، متوسط و شدید تقسیم بندی گردید و برای آنها بترتیب اعداد صفر، یک، دو، سه در نظر گرفته شد. سلول‌های تومورال در میدانهای میکروسکوپی با بزرگنمایی  $\times 100$  از نظر بررسی شدت رنگ پذیری کلی و با بزرگنمایی  $\times 400$  از نظر بررسی شدت رنگ پذیری در هسته و سیتوپلاسم توسط یک نفر مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای مقایسه میزان شدت رنگ پذیری در سه گروه تومور آزمون ناپارامتری Kruskal-Wallis و برای مقایسه دو روش مشابه رنگ آمیزی (H&E و PTAH) در هر یک از سه تومور از آزمون ناپارامتری Wilcoxon signed ranks استفاده شد. البته رابطه درجه بدخیمی در موکوپای درموئید کارسینوما با شدت رنگ پذیری نیز بررسی گردید. همچنین مدل Logistic برای یافتن نسبت شانس بدخیم یا خوش خیم بودن تومورهای مورد بررسی، با توجه به متغیرهای موجود ارائه شد.

#### یافته‌ها

##### الف) پلئومورفیک آدنوما

بیماران شامل ۱۳ نفر مؤنث (۵۴/۲٪) و ۱۱ نفر مذکر (۴۵/۸٪) با متوسط سن ۳۳ سال و محدوده سنی ۶-۱۷ سال بودند. نتایج حاصل از مقایسه بین دو روش رنگ آمیزی PTAH و H&E در جدول ۱ آمده است.

##### ب) موکوپای درموئید کارسینوما

بیماران شامل ۱۴ نفر مذکر (۵۸/۳٪) و ده نفر مؤنث (۴۱/۷٪) با متوسط سن ۴۴ سال و محدوده سنی ۶۵-۱۵

PTAH (Phosphotungstic haematoxylin acid) رنگ می‌گیرند قرار شد تا نقش این رنگ آمیزی در تشخیص افتراقی سه تومور شایع غدد بزاقی مورد بررسی قرار گیرد. نظر به اینکه تاکنون گزارشی از شدت رنگ پذیری با PTAH در تومورهای غدد بزاقی به منظور افتراق آنها در دست نمی‌باشد می‌توان گفت که مطالعه حاضر برای اولین بار شدت رنگ آمیزی را در سلول‌های تومورال، هسته و سیتوپلاسم آنها در پلئومورفیک آدنوما، آدنوئید سیستیک کارسینوما و موکو اپیدرموئید کارسینوما مورد بررسی قرار می‌دهد.

#### روش بررسی

مطالعه حاضر به صورت تجربی از نوع آزمایشگاهی می‌باشد. در این تحقیق پس از بررسی نمونه‌های موجود در بایگانی بخش آسیب شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران در فاصله سالهای ۱۳۴۹ تا ۱۳۷۹ و بایگانی بخش آسیب شناسی انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی (ره) تهران در فاصله زمانی ۱۳۷۵ تا ۱۳۷۹، ۷۲ نمونه از سه گروه شایعتر تومورهای غدد بزاقی که دسترسی به تعداد نمونه فوق برای آنها امکان پذیر باشد متشکل از ۲۴ مورد پلئومورفیک آدنوما، ۲۴ مورد آدنوئیدسیستیک کارسینوما و ۲۴ مورد موکوپای درموئید کارسینومای غده بزاقی انتخاب شد. کلیه اسلایدهای میکروسکوپی نمونه‌های مذکور به منظور تأیید تشخیص بازنگری شدند، سپس از بلوک های پارافینی برش شش میکرونی تهیه و با PTAH رنگ آمیزی گردید. لازم به ذکر است که جهت از بین بردن اثر غلظت و زمان کلیه نمونه‌ها با هم رنگ آمیزی شدند. در این رنگ آمیزی هسته سلول‌ها و فیبرین به رنگ آبی، رشته کلاژن به رنگ قرمز مایل به زرد یا قهوه‌ای و رشته‌های الاستیک ضخیم به رنگ ارغوانی در می‌آیند.

بدخیمی و شدت رنگ پذیری در هسته سلول‌های تومورال دست یافت ( $P=0/068$ ).

- در بررسی این مورد با آزمون ناپارامتری Kruskal-Wallis رابطه معنی‌داری بدست نیامد. ( $P > 0/05$ )

**ج) آدنوئید سیستیک کارسینوما**

بیماران شامل هشت نفر مؤنث (۳۳/۳٪) و ۱۶ نفر مذکر (۶۶/۷٪) با متوسط سن ۴۷ سال و محدوده سنی ۲۷-۷۸ سال بودند. نتایج بررسی رنگ آمیزی PTAH و مقایسه آن با H&E در جدول ۳ ارائه شده است.

سال بودند. مقایسه بین دو روش رنگ‌آمیزی PTAH و H&E در جدول ۲ آمده است.

در مورد بررسی درجه بدخیمی تومور و شدت رنگ‌پذیری با PTAH در موکوپای درموئید کارسینوما با استفاده از Spearman correlation نتایج زیر بدست آمد.

- بین درجه بدخیمی تومور و شدت رنگ‌پذیری کلی و شدت در سیتوپلاسم سلول‌های تومورال رابطه معنی‌داری دیده نشد ( $P = 0/05$ ).

- از طرف دیگر به نظر می‌رسد که با انتخاب حجم بزرگتری از نمونه بتوان به رابطه معنی‌داری بین درجه

**جدول ۱- شدت و میزان رنگ‌پذیری سلول‌های تومورال در پلنومورفیک آدنوما با دو روش رنگ‌آمیزی**

سیتوپلاسم سلول		هسته سلول		کلی		رنگ‌پذیری شدت رنگ‌پذیری
H&E	PTAH	H&E	PTAH	H&E	PTAH	
۰٪	۴/۲٪	۰٪	۰٪	۰٪	۰٪	عدم رنگ‌پذیری
۷۵٪	۶۲/۵٪	۸۳٪	۳۷/۵٪	۱۶/۷٪	۱۶/۷٪	رنگ‌پذیری خفیف
۲۵٪	۳۳/۳٪	۸۷/۵٪	۶۲/۵٪	۸۳/۳٪	۸۳/۳٪	رنگ‌پذیری متوسط
۰٪	۰٪	۴/۲٪	۰٪	۰٪	۰٪	رنگ‌پذیری شدید
P = 0/۷۲۸		P = 0/۰۱۱		P = 0/۳۶۷		نتیجه آزمون

**جدول ۲- شدت و میزان رنگ‌پذیری سلول‌های تومورال در موکوپای درموئید کارسینوما با دو روش رنگ‌آمیزی**

سیتوپلاسم سلول		هسته سلول		کلی		رنگ‌پذیری شدت رنگ‌پذیری
H&E	PTAH	H&E	PTAH	H&E	PTAH	
۴/۲٪	۲۵٪	۰٪	۰٪	۰٪	۰٪	عدم رنگ‌پذیری
۹۵/۸٪	۵۴/۲٪	۲۰/۸٪	۴۱/۷٪	۲۹/۲٪	۴۵/۸٪	رنگ‌پذیری خفیف
۰٪	۱۶/۷٪	۷۰/۸٪	۳۷/۵٪	۶۶/۷٪	۳۷/۵٪	رنگ‌پذیری متوسط
۰٪	۴/۲٪	۸۳٪	۲۰/۸٪	۴/۲٪	۱۶/۷٪	رنگ‌پذیری شدید
P = 0/۷۹۶		P = 0/۵۹۳		P = 0/۸۵۱		نتیجه آزمون

جدول ۳- شدت و میزان رنگ پذیری سلول‌های تومورال در آدنوئید سیستیک کارسینوما با دو روش رنگ آمیزی

سیتوپلاسم سلول		هسته سلول		کلی		رنگ پذیری
H&E	PTAH	H&E	PTAH	H&E	PTAH	شدت رنگ پذیری
٪۴/۲	٪۲۷/۵	٪۰	٪۰	٪۰	٪۰	عدم رنگ پذیری
٪۷۹/۲	٪۴۵/۸	٪۴/۲	٪۴/۲	٪۴/۲	٪۰	رنگ پذیری خفیف
٪۱۶/۷	٪۱۶/۷	٪۵۴/۲	٪۵۰	٪۵۴/۲	٪۶۶/۷	رنگ پذیری متوسط
٪۰	٪۰	٪۴۱/۷	٪۴۵/۸	٪۴۱/۷	٪۳۳/۳	رنگ پذیری شدید
P = ۰/۰۴۶		P = ۰/۷۶۳		P = ۰/۷۰۵		نتیجه آزمون

شدت رنگ پذیری با PTAH مؤثر است ( $P < ۰/۰۵$ ). با محاسبات آماری، مدل سازی Logistic انجام گرفت و نتایج زیر حاصل شد:  
 از ۷۲ نمونه مورد مطالعه، ۲۴ مورد (۳۳/۳٪) دارای تومور خوش خیم و ۴۸ مورد (۶۶/۷٪) بقیه دارای تومور بدخیم غدد بزاقی بودند. حداقل سنی بیماران ۱۵ و حداکثر ۷۸ سال بود (متوسط سن ۴۱ سال). مدل ارائه شده به صورت زیر است:

$$\text{Logit } P(X) = (-۲/۸۸) + (۱/۶۲)(\text{تومورال سلول‌های تومورال}) + (۰/۰۶۲)(\text{سن}) + (-۱/۶۲)(\text{شدت رنگ پذیری در سیتوپلاسم سلول‌های تومورال})$$

با توجه به مدل بدست آمده شدت رنگ پذیری با PTAH در هسته سلول‌های تومورال با شدت بدخیمی تومور نسبت مستقیم دارد ( $\text{Odds Ratio} = ۵/۱۰۳۳$ ). همچنین می‌توان گفت که شدت رنگ پذیری با PTAH در سیتوپلاسم سلول‌های تومورال با شدت بدخیمی رابطه عکس دارد ( $\text{Odds Ratio} = ۰/۱۹$ ). از طرف دیگر در مورد ارتباط بدخیم بودن تومور با سن می‌توان گفت هر چه سن افزایش یابد، خطر بدخیم بودن تومور بالا می‌رود.  
 $\text{Odds Ratio} = ۱/۰۶۴۸$  (جدول ۴).

با توجه به جداول شماره ۲، ۱ و ۳ و انجام آنالیز ناپارامتری Wilcoxon signed ranks ارتباط معنی‌داری بین شدت رنگ‌پذیری در هسته سلول‌های تومورال در آدنوئید سیستیک کارسینوما بین دو روش رنگ‌آمیزی دیده شد. همچنین این ارتباط در مورد شدت رنگ‌پذیری در سیتوپلاسم سلول‌های تومورال در پلئومورفیک آدنوما بین دو روش فوق صادق بود، ولی در سایر موارد ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد.

آنالیز ناپارامتری Kruskal-Wallis test برای بررسی رابطه بین نوع تومور و شدت رنگ‌پذیری کلی، شدت در هسته و سیتوپلاسم سلول‌های تومورال با PTAH انجام شد که در تمامی موارد معنی‌دار بود، به این صورت که سلول‌های تومورال به‌طور کلی درموکوپای درموئید کارسینوما کمتر از پلئومورفیک آدنوما و هر دو کمتر از آدنوئید سیستیک کارسینوما رنگ می‌گیرند ( $P = ۰/۰۰۱$ ) حال آنکه شدت رنگ‌پذیری در هسته سلول‌های تومورال در پلئومورفیک آدنوما کمتر از موکوپای درموئید کارسینوما و هر دو کمتر از آدنوئید سیستیک کارسینوما می‌باشد ( $P = ۰/۰۰۰$ ). از طرف دیگر شدت رنگ‌پذیری در سیتوپلاسم سلول‌های تومورال در آدنوئید سیستیک کارسینوما کمتر از موکوپای درموئید کارسینوما است و هر دو کمتر از پلئومورفیک آدنوما هستند ( $P = ۰/۰۳۹$ ). پس نوع تومور در

جدول ۴- رابطه بین شدت رنگ پذیری، سن و Odds Ratio

متغیر	ضریب $\beta$	P.Value	Odds Ratio $\beta$ (نسبت شانس)	حدود اطمینان ۹۵٪ برای نسبت شانس
شدت رنگ پذیری در هسته سلول های تومورال با PTAH	۱/۶۲۹۹	۰/۰۰۶۳	۵/۱۰۳۳	۱/۵۸۶۵ - ۱۶/۴۱۶۰
شدت رنگ پذیری در سیتوپلاسم سلول های تومورال با PTAH	-۱/۶۲۱۲	۰/۰۰۴۷	۰/۱۹۷۷	۰/۰۶۴۳ - ۰/۱۶۰۷۷
سن	۰/۰۶۲۸	۰/۰۰۶۴	۱/۰۶۴۸	۱/۰۱۷۸ - ۱/۱۱۴۰

## بحث

برای مشخص کردن سلول های میوایپ تلیال در غدد بزاقی طبیعی موفقتر است. هم چنین Shear در ۱۹۶۶ و Hamperl در ۱۹۷۰ هر دو روش PTAH و Iron haematoxylin را برای نشان دادن سلول های میوایپ تلیال موفق دانستند (۷، ۹۸).

در ۱۹۸۶، Palmer سلول های میوایپ تلیال را در غدد بزاقی انسان بررسی کرد و دریافت که همان سلول های رنگ شده با PTAH در محیط آسینی ها هستند (۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴).

انکوسیتوما یا Oxyphilic granular cell adenoma تومور خوش خیم و بی نهایت نادر غدد بزاقی است که در رنگ آمیزی H&E متشکل از سلول های درشت با سیتوپلاسم گرانولر انوزینوفیلیک یا همان انکوسیت می باشد. این گرانول ها در رنگ آمیزی PTAH آبی رنگ می شوند (۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸ و ۱۹). این موضوع در ۱۹۸۹ توسط Iskander و همکارانش مورد بررسی قرار گرفت (۲۰).

در ۱۹۸۸ هم Ellis مواردی از انکوسیتوما را گزارش کرد که همگی با PTAH رنگ می گرفتند (۲۱) و معتقد بود که سلول های روشن در انکوسیتوما بر خلاف Mucoepidermoid و adenocarcinoma Acinic cell carcinoma با PTAH رنگ می گیرند (۲۲).

Palmer و همکارانش در ۱۹۸۹ مواردی از ضایعات غدد بزاقی را مورد بررسی قرار دادند که دارای تغییرات

واژه میوایپ تلیال اولین بار توسط Renault در سال ۱۸۹۷ مطرح شد. این سلول شباهت زیادی به سلول اپی تلیالی و سلول عضله صاف دارد و دارای منشأ اکتودرمی می باشد. جایگاه این سلول ها بین سلول های غددی و غشا پایه است و دارای زواید سیتوپلاسمی دندریتیکی بلند و میکروفلامنت ها می باشند (۲ و ۳).

طبق نظر Emmelin و Garrett اعمال این سلول ها در غدد بزاقی عبارتند از:

- کمک به خروج بزاق ( با انقباض خود)
  - کاهش فشار Luminal
  - حمایت از پارانشیم زیرین در مقابل فشار ترشحات
  - کمک به جریان بزاق با غلبه بر مقاومت محیطی (۴)
- از طرف دیگر آنکوسیت ها سلول های اپی تلیالی بزرگی هستند که واجد سیتوپلاسم گرانولر انوزینوفیلیک بوده و در بررسی با میکروسکوپ الکترونی، ماهیت این گرانول ها را میتوکندری دانسته اند.
- Zimmerman در ۱۹۲۷ اولین محقق بود که سلول های میوایپ تلیال را در برشهای بافتی طبیعی با استفاده از Iron haematoxylin<sup>۳</sup> Heidenhain مشاهده و گزارش کرد (۵ و ۶).
- بعد از او Mylius در ۱۹۶۰ نشان داد که رنگ آمیزی Mallory<sup>۳</sup> s'phosphotungstic acid haematoxylin

انکوسیتیک بودند. اکثر این ضایعات به طور اولیه انکوسیتوما گزارش شده بودند ولی در حقیقت یا تغییر غیر ئوپلاستیک یا تغییر انکوسیتیک در دیگر انواع آدنوماها بودند (۲۳).

Davy در ۱۹۹۴ Clear cell oncocytoma و Mitochondrial- Rich oncocytoma را بررسی و بیان کرد که هر دو نوع تومور با PTAH رنگ می گیرند (۲۴).

Hamed در ۱۹۹۴ گزارش موردی از موکوپای درموئید کارسینومای غده پاروتید را به چاپ رسانید که در بررسی بافت شناختی متشکل از کیست هایی با اندازه های مختلف و مفروش از انکوسیت به همراه معدودی سلول موکوسی Goblet بود و آن را Oncocytic mucoepidermoid carcinoma نام نهاد (۲۵).

Ferreiro در ۱۹۹۵ تمایز انکوسیتیکی را در موکوپای درموئید کارسینوما و پلئومورفیک آدنوما شرح داد که همین مسأله باعث اشتباه در تشخیص افتراقی پلئومورفیک آدنوما از انکوسیتوما شده بود (۲۶).

محققان متعددی نظیر Christopherson (۱۹۴۹)، Greenberg & Haley (۱۹۵۷)، Blanck و همکاران (۱۹۷۰)، Gray و همکاران (۱۹۷۶)، Feiner (۱۹۸۶)، Pulitzer (۱۹۸۷)، Palmer (۱۹۸۹)، Jahan - Parwar (۱۹۹۹) نیز تغییرات انکوسیتیکی را در تومورهای غدد بزاقی شرح داده اند (۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۰، ۳۱ و ۳۲).

Thompson هم در ۱۹۹۶ مروری بر ۲۲ مورد انکوسیتومای غده بزاقی داشت که با PTAH آبی تیره می شدند، این مسأله توسط Ellis در ۱۹۹۸ هم مورد بررسی قرار گرفت (۳۳). Shintaku و Honda در ۱۹۹۷ مشاهده کردند که تومور وارترین دارای سلول هایی با ماهیت انکوسیتی است که با PTAH رنگ می گیرند (۳۴).

از آنجایی که این مطالعه برای اولین بار شدت رنگ پذیری را در جهت تشخیص افتراقی تومورهای غدد

بزاقی مورد بررسی قرار می دهد از بسیاری جهات قابل مقایسه با مطالعات قبلی نمی باشد. اما در مجموع می توان گفت که به جز در مورد شدت رنگ پذیری در هسته سلول های تومورال در آدنوئید سیستیک کارسینوما و در سیتوپلاسم سلول ها در پلئومورفیک آدنوما، در سایر موارد دو روش رنگ آمیزی PTAH و H&E یکسان عمل کرده اند. در بررسی رابطه بین درجه و شدت رنگ پذیری با PTAH در موکوپای درموئید کارسینوما رابطه معنی داری بین درجه بدخیمی تومور با شدت رنگ پذیری کلی و شدت رنگ پذیری در سیتوپلاسم سلول های تومورال دیده نشد، ولی به نظر می رسد با انتخاب حجم بزرگتری از نمونه، بتوان در این مورد دقیقتر اظهار نظر کرد.

از نکات برجسته این مطالعه وجود ارتباط آماری کاملاً معنی دار بین نوع تومور و شدت رنگ پذیری کلی، شدت در هسته و سیتوپلاسم سلول های تومورال با PTAH است که نشان دهنده ارزشمند بودن این روش در تشخیص افتراقی این ضایعات از یکدیگر می باشد.

در مورد مدل Logistic بدست آمده می توان گفت که شدت رنگ پذیری در هسته سلول های تومورال و سن بیمار با بدخیم بودن تومور رابطه مستقیم دارند [Odds Ratio = ۵/۱۰۳۳] و (Odds Ratio = ۱/۰۶۴۸) بدین ترتیب که هسته سلول های بدخیم با درجه بیشتری از هسته سلول های خوش خیم رنگ می پذیرند. دلیل این امر را می توان به فعالیت بالای میتوزی و متراکم شدن کروماتین جهت انجام تقسیمات بیشتر سلولی نسبت داد که با نتایج دیگر آزمونهای آماری انجام شده در مطالعه، تطابق دارد. همان طوری که دیده شد شدت رنگ پذیری در هسته سلول های تومورال در آدنوئید سیستیک کارسینوما بیش از موکوپای درموئید کارسینوما و هر دو بیشتر از پلئومورفیک آدنوما بوده است. در رابطه با سن نیز می توان گفت که به طور کلی با بالا

## نتیجه گیری

به طور خلاصه می توان گفت رنگ آمیزی PTAH بین سه نوع تومور مورد بررسی تفاوت های مشخصی از لحاظ شدت رنگ پذیری کلی، شدت در هسته و شدت در سیتوپلاسم را نشان می دهد و در تشخیص افتراقی آنها سودمند خواهد بود. از طرف دیگر با توجه به متغیرهای مذکور و سن بیمار در مدل Logistic ارائه شده می توان در مورد بدخیم یا خوش خیم بودن تومور، در مورد سه تومور شایعتر غدد بزاقی بررسی شده، اظهار نظر کرد.

رفتن سن فرد خطر بدخیم بودن تومور ایجاد شده افزایش می یابد. اما در مورد شدت رنگ پذیری در سیتوپلاسم سلول های تومورال با شدت بدخیمی تومور نسبت عکس دیده شد (Odds Ratio = ۰/۱۹) که با نتایج بدست آمده از سایر آزمونهای آماری انجام شده در این مطالعه نیز تطابق دارد. همان طوری که مشاهده شد در مورد شدت رنگ پذیری در سیتوپلاسم سلول های تومورال، پلئومورفیک آدنوما بیش از موکوپایی درموئید کارسینوما و هر دو بیش از آدنوئید سیستیک کارسینوما رنگ می پذیرند.

## منابع

- 1- Grenko RJ, Abendroth CS, Davis AT, Levin RJ, Dardick I. Hybrid tumors or salivary gland tumors sharing differentiation pathways? Reexamining adenoid cystic and epithelial- myoepithelial carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 86: 188-95.
- 2- Gardesa AL, Bombi JA. Myoepithelial tumors of salivary glands: A clinicopathologic, immunohistochemical, ultrastructural and flowcytometric study. *Semin Diagn Pathol* 1996; 13: 138-47.
- 3- Palmer RM. The identification of myoepithelial cells in human salivary glands. A review and comparison of light microscopical methods. *J Oral Pathol* 1986; 15: 221-29.
- 4- Garrett JR, Emmelin N. Activities of salivary myoepithelial cells. A review. *Med Biol* 1979; 51:1.
- 5- Young JA, Van Lennep EW. Morphology and physiology of salivary myoepithelial cells. *Int Rev Physiol* 1977; 12: 105.
- 6- Van Bogaert LJ, Maldague P, Collette JM, Abarca J. Study on the histochemical specificity for myoepithelial cells of the tanno- molybdic method. *Ann Histochem* 1976; 21:229.
- 7- Van Bogaert LJ, Abarca J, Maldague P. Appraisals and pitfalls of myoepithelial cell staining by levano fast cyanine 5RN. *Histochemistry* 1977; 54: 251.
- 8- Van Bogaert LJ, Quinones JA, Maldague P. A modified levanol fast cyanine 5RN staining method for myoepithelial cells. *J Microsc* 1979; 115: 289.
- 9- Franke WW, Schmid E, Freudenstein C, Appelhans B, Osborn M, Weber K, Keenan TW. Intermediate cells of the prekratin type in myoepithelial cells. *J Cell Biol* 1980; 84:633.
- 10- Daley TD, Wysocki GP, Smout MS, Slinger RP. Epithelial-myoepithelial carcinoma of salivary glands. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984 May;57(5):512-19.
- 11- Corio RL, Sciubba JJ, Brannon RB, Batsakis JG. Epithelial-myoepithelial carcinoma of intercalated duct origin. A clinicopathologic and ultrastructural assessment of sixteen cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982 Mar;53(3):280-7.
- 12- Luna MA, Ordonez NG, Mackay B, Batsakis JG, Guillaumondegui O. Salivary epithelial-myoepithelial carcinomas of intercalated ducts: a clinical, electron microscopic, and immunocytochemical study *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985 May;59(5):482-90.
- 13- Lampe H, Ruby RR, Greenway RE, DeRose G, Wysocki GP. Epithelial-myoepithelial carcinoma of the salivary gland. *J Otolaryngol* 1984 Aug;13(4):247-51.



- 14- Redman R. Myoepithelium of salivary glands. *Microsc Res Techn* 1994; 27:24-25.
- 15- Neville BW. *Oral and Macillofacial Pathology*. 1st ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995, 336.
- 16- Sapp JP, Eversole LR. *Contemporary Oral and Maxillofacial Pathology*. 1st ed. St Louis: Mosby; 1997: 292-300.
- 17- Dardick I. *Color Atlas. Text of Salivary Gland Tumor Pathology*. New York, Tokyo: Igaku- Shoin Medical Publishers INC; 1996: 69-74,105-116.
- 18- Rosai J. *Ackerman's Surgical Pathology*. 8th ed. New York: Mosby; 1995: 826-27.
- 19- Regezi JA, Sciubba JJ. *Oral Pathology*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders; 1999: 247-48.
- 20- Iskander KG, Hamid S, Moussa M, Seif EJ. Oxyphilic granular cell adenoma (Oncocytoma)-a histochemical and ultrastructural study. *Egypt Dent J* 1989; 35(4): 359-68.
- 21- Ellis GL. Clear Cell oncocytoma of salivary gland. *Hum Pathol* 1988; 19(7): 862-67.
- 22- Paulino AF, Huvos AG. Oncocytic and oncocytoid tumors of the salivary glands. *Semin Diagn Pathol* 1999 May;16(2):98-104. Review.
- 23- Palmer TJ, Gleeson MJ, Eveson JW, Cawson RA. Oncocytic adenomas and oncocytic hyperplasia of salivary glands. A clinicopathologic study of 26 cases. *Histopathol* 1989; 16: 487-93.
- 24- Davy GL, Dardick I, Hammond E, Thomas J, Rapids G. Relationship of clear cell oncocytoma to mitochondrial-rich (typical) oncocytomas of parotid salivary gland. An ultrastructural study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1994; 77:469-78.
- 25- Hamed G, Shmookler BM, Ellis GL, Punja U, Feldman D. Oncocytic mucoepidermoid carcinoma of the parotid gland. *Arch Pathol Lab Med* 1994; 118(3): 313-14.
- 26- Ferreiro JA, Stylopoulos N. Oncocytic differentiation in salivary gland tumors. *J Laryngol Otol* 1995; 109: 569-71.
- 27- Stylopoulos FJA. Oncocytic differentiation in salivary gland tumors. *J Laryngol Otol* 1995; 109:569-70.
- 28- Brandwein MS, Huvos AG. Oncocytic tumors of major salivary glands. A study of 68 cases with follow-up of 44 patients. *Am J Surg Pathol* 1991; 15:514-28.
- 29- Dardick I, Birek G, Lingen MW, Rowe E. Differentiation and the cytomorphology of salivary gland tumors with specific reference to oncocytic metaplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 88:691-701.
- 30- Thompson LD, Weing BM, Ellis GL. Oncocytomas of the submandibular gland. A series of 22 cases and a review of the literature. *Cancer* 1996; 78:2281-87.
- 31- Shintaku M, Honda T. Identification of oncocytic lesions of salivary glands by anti-mitochondrial immunohistochemistry. *Histopathol* 1997; 31(5): 408-11.
- 32- Jahan Parwar B, Huberman RM, Donovan DJ, Schwartz MR, Ostrowski ML. Oncocytic mucoepidermoid carcinoma of the salivary gland. *Am J Surg Pathol* 1999; 23(5): 523-29.
- 33- Waldo SGS. Oncocytic change in mucoepidermoid carcinoma of parotid gland. *Arch Pathol* 1975; 99: 663-66.
- 34- Dardick I, Claude A, Parks WR, Hoppe D, Stinson J, Burns BF, Little J, Brown DL, Dairkee SH. Warthin's tumor: an ultrastructural and immunohistochemical study of basilar epithelium. *Ultrastruct Pathol* 1988;12(4):419-32. Review.