بررسی ارزشAgNOR در تعیین درجه‌بندی لنفوم غیرهوچکینی سر و گردن

دکتر اسمعیل یزدی*- دکتر نسیم تقوی**- دکتر محمد اسلامی***

*جراح دهان و فک و صورت و استاد گروه آموزشی آسیب‌شناسی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

**استادیار گروه آموزشی آسیب‌شناسی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی قزوین

***دانشیار گروه آموزشی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

Title: The assessment of Ag NOR in grading of head and neck non- Hodgkin's Lymphoma

Authors: Yazdi E. *, Taghavi N. **, Eslami M. *

Address: *Professor, Dept of Pathology, School of Dental Medicine, Tehran University of Medical Sciences

** Assistant professor, Dept of Pathology, School of Dental Medicine, Ghazvin University of Medical Sciences

***Associate Professor, Dept of Pathology, School of Dental Medicine, Tehran University of Medical Sciences

Abstract: Nucleolar organizer regions (NORs) are loops of rDNA, which in human, occur on the short arms of five acrocentric chromosomes, namely, 13, 14, 15, 21 and 22. NORs are usually demonstrated by binding lf their associated proteins (NORAPs0 to silver (Ag^+) ions. The reaction is called AgNORs. It has been determined that, the number and the size of NORs is related to the proliferative activity and grade of malignancy. This has led to the application of AgNOR method to a wide range of diagnostic problem cases, including breast, salivary glands and lung malignant neoplasms.

The purpose of this study was to determine the value of AgNOR method in assessment of the grade of malignancy in non- Hodgkin's lymphoma of head & neck, which often is difficult and essentially important in relation to the prognosis and treatment.

41 cases of paraffin embedded specimens of NHL, which were classified by working formulation system, were selected and then AgNORs method was applied on them.

AgNORs were enumerated for all 41 cases of NHL (Standard Crocker).

The mean AgNORs in 11 cases of low grade 15 cases of intermediate grade and 15 cases of high grade NHL was 1.66 (SEM= 0.098), 2.25 (SEM= 0.084) and 5.19 (SEM= 0.11), respectively.

In analysis of variance and multiple comparisons, a significant difference was found between the three groups of NHL ($P<0.0001$).

It is concluded that the AgNORs, as a reliable method, could be used in differentiation of low, intermediate and high grade NHL in head and neck area.

Key words: NOR- AgNOR- non-Hodgkin Lymphoma- Grading malignant lymphoma

Journal of Dentistry. Tehran University of Medical Sciences, Vol.12, No.1, 1999

چکیده

Nucleolar Organizer Regions (NORs) حلقه‌هایی از rDNA هستند که در انسان بر روی بازوی کوتاه پنج کروموزم آکروسانتریک ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۱ و ۲۲ قرار دارند. در این ساختمانها پروتئینهایی وجود دارند که به علت تمایل اتصال به ین نقره و ایجاد واکنش می‌توان نواحی وجود آنها را رؤیت کرد؛ این واکنش AgNOR نامیده می‌شود. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی روش AgNOR در جهت تعیین درجه بدخیمی‌لنفوم غیر هوچکینی(Non-Hodgkin Lymphoma) سر و گردن انجام یافته است. بررسی بر روی ۴۱ بیمار مبتلا به NHL سر و گردن که برشهای هیستولوژیک آنها براساس سیستم Formulation Working درجه‌بندی شدند، انجام گردید و از بلوکهای پارافینه آنها جهت رنگ‌آمیزی نیترات نقره استفاده شد. نتایج حاصل پس از رنگ‌آمیزی براساس روش استاندارد Crocker نمایانگر میانگین NORs در ۳ گروه Low grade -Intermediate grade - و High grade به شرح زیر بود:

◄ در گروه Low grade (۱۱ نمونه): ۱/۶۶ (۹۸٪ Standard Error Mean = ۱/۶۶؛ Mean)

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2024-11-24]

◄ در گروه Intermediate grade (۱۵ نمونه): ۲/۵۲ (SEM =٪۸٤ ؛ Mean =۲/۵۲)

◄ در گروه High grade (۱۵ نمونه): ۵/۱۹ (SEM ٪۱۱ ؛ Mean =۵/۱۹)

با تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده می‌توان ادعا نمود که روش فوق می‌تواند در جهت افتراق ۳ گروه NHL،پروگنوز و طرح درمان آنها کاربرد کلینیکی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: لنفوم غیر هوچکینی- درجه‌بندی لنفوم‌های بدخیم

مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران دوره ۱۲ شماره اول سال ۱۳۷۸

مقدمه

NORs حلقه‌هایی از rDNA هستند که در هستک سلولها قرار دارند و نقش مهمی‌را در سنتز rDNA، ریبوزوم و پروتئین ژنها ایفا می‌کنند. این نواحی بر روی کروموزم‌های آکروسانتریک ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۱ و ۲۲ قرار دارند و حاوی پروتئین‌هایی هستند که با تمایل به اتصال با ین نقره و ایجاد زمینه یا واکنش برای این اتصال می‌توان نواحی فوق را رؤیت کرد که واکنش فوق AgNOR نامیده می‌شود(۱). این روش در چند دهه گذشته توسط سیتوژنتیست‌ها جهت تجزیه و تحلیل انواع اختلالات کروموزومی‌به کار رفته است و در سالهای اخیر برای افتراق نئوپلاسم‌های خوش‌خیم و تعیین درجه بدخیمی‌تومورها مورد استفاده قرار گرفته است(۱).

هدف از این مطالعه بررسی ارزش روش فوق در تعیین درجه بدخیمی(Grading) لنفوم غیرهوچکین (NHL) در سر و گردن می‌باشد.

مواد و روشها

در انجام این بررسی از پرونده‌های بایگانی بخش آسیب‌شناسی مؤسسه سرطان بیمارستان امام خمینی«ره» وابسته به دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران از سال ۱۳۷۱ تا ۱۳۷۵ استفاده شده است و ۴۶۰ مورد NHL که در بین آنها ۷۴ مورد مربوط به ناحیه سر و گردن بودند، مشاهده و انتخاب گردیدند؛ سپس توسط دو نفر متخصص آسیب‌شناسی اسلایدهای مقاطع میکروسکوپی آنها براساس سیستمWorking Formulation ، درجه‌بندی شدند؛ بر این اساس ۱۱ مورد در گروه Low grade ، ۱۵ مورد در گروه Intermediate و ۱۵ مورد در گروه High grade قرار گرفتند.

این بررسی در مجموع بر روی ۴۱ مورد (شامل تمامی۱۱ نمونه Low grade ، ۱۵ نمونه High grade و ۱۵ مورد Intermediate grade از ۴۸ مورد انتخاب شده، انجام پذیرفت (جدول شماره۱)؛ در ضمن جهت کنترل ۵ نمونه بافت لوزه نیز انتخاب گردید؛ سپس با استفاده از بلوک‌های پارافینه و تهیه مقاطع خام جدید رنگ‌آمیزی نیترات نقره روی ۴۱ مورد انتخاب‌شده ، انجام پذیرفت؛ بدین طریق که ابتدا برشهایی به ضخامت ۳ میکرون از هر نمونه تهیه و به مدت ۳ الی ۵ دقیقه در حرارت ۲۰ درجه قرار داده شد؛ سپس برای پارافین‌زدایی، برشها را به مدت ۵ دقیقه در گزیلل و بعد از آن به مدت ۵ دقیقه بترتیب در ظرفهای الکل، اسید الکل و الکل مطلق قرار دادیم؛ پس از آن رنگ‌آمیزی با محلول کلوئیدال نقره در تاریکی به مدت ۴۰ دقیقه انجام گرفت. در مرحله آخر جهت ثبات رنگ برشها، اسلایدهای تهیه‌شده در مجاورت با محلول تیو سولفات سدیم قرار گرفتند(۲)؛ پس از تهیه اسلایدهای میکروسکوپی به روش فوق نواحی AgNOR توسط دو نفر متخصص آسیب‌شناسی جداگانه و براساس روش استاندارد Crocker شمارش شدند و متوسط آنها به عنوان نتیجه انتخاب گردید(۳).

یافته‌ها

در این بررسی ۴۱ بیمار مبتلا به NHL (شامل ۳۰ نفر مرد و ۱۱ نفر زن) با طیف سنی ۸-۷۲ سال مورد بررسی قرار گرفتند که از نظر محل ۲۲ مورد Nodal و ۱۹ مورد Extranodal بودند. انواع بافت‌شناختی و درجه‌بندی موارد مورد مطالعه در جدول شماره ۱ منعکس شده است و نتایج حاصل از شمارش NOR برای هر یک از انواع ضایعات اشاره شده در جدولهای ۲-۴ آمده است.

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2024-11-24]

فراوانی تومورهای Low grade ۱۱ مورد (۲۶٪)، متوسط NORs در هر سلول برابر ۱/۶۶ (۹۸٪ SEM ؛ Mean ۱/۶۶) با فاصله اطمینان ۱/۴۴ تا ۱/۸۸ و انحراف معیار ۳۲٪ به دست آمد(جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱- انواع بافت‌شناختی و درجه‌بندی ٤١ مورد از NHL سر و گردن

Z type	Grade			
	Low	Intermediate	High	Total
1-Follicular Small Cleaved	4			4
2-Follicular Mixed Small Cleaved and Large Cell	7			7
3-Follicular Large Cell		3		3
4-Diffuse Small Cleaved		1		1
5-Diffuse Mixed Small Cleaved and Large Cell		3		3
6-Diffuse Large Cell		8		8
7-Large Cell Immunoblastic			7	7
8-Small non Cleaved (Burkitt)			8	8
Total	11	15	15	41

جدول شماره ۲-متوسط تعداد AgNOR در Low grade non-Hodgkin's Lymphoma

Histologic type	NORs
1-Follicular Small Cleaved (N)[1]	1.83
2-Follicular Small Cleaved (N)	1.17
3-Follicular Small Cleaved (N)	1.42
4-Follicular Small Cleaved (N)	1.57
5-Follicular Mixed Small Cleaved and Large Cell (EN)[2]	1.95
6-Follicular Mixed Small Cleaved and Large Cell (EN)	2
7-Follicular Mixed Small Cleaved and Large Cell (EN)	1.36
8-Follicular Mixed Small Cleaved and Large Cell (EN)	1.98
9-Follicular Mixed Small Cleaved and Large Cell (EN)	1.97
10-Follicular Mixed Small Cleaved and Large Cell (N)	1.86
11-Follicular Mixed Small Cleaved and Large Cell (N)	1.21

1- N= Nodal 2-EN= Extranodal

فراوانی تومورهای Intermediate grade ۱۵ مورد (۳۷٪)، متوسط NORs در هر سلول برابر ۲/۵۲ (۸۴٪ SEM و Mean۲/۵۲) با فاصله اطمینان ۲/۳۴ تا ۲/۷ و انحراف معیار ۳۲٪ حاصل گردید (جدول شماره ۳).

فراوانی تومورهای High grade ۱۵ مورد (۳۷٪)، متوسط NORs ۵/۱۹ (۱۱٪ SEM ؛Mean۵/۱۹) با فاصله اطمینان ۴/۹۴ تا ۵/۴۳ و انحراف معیار ۴۵٪ نمایان شد.

جدول شماره ۳-متوسط تعداد AgNOR در Intermediate grade non-Hodgkin's Lymphoma

Histologic type	NORs
1-Follicular Large Cell (N)	2.47
2-Follicular Large Cell (N)	2.12
3-Follicular Large Cell (N)	2.02
4-Diffuse Small Cleaved (EN)	2.48
5-Diffuse Mixed Small Cleaved and Large Cell (N)	2.25
6-Diffuse Mixed Small Cleaved and Large Cell (N)	2.76
7-Diffuse Mixed Small Cleaved and Large Cell (EN)	2.87
8-Diffuse Large Cell (N)	2.04
9-Diffuse Large Cell (N)	2.58
10-Diffuse Large Cell (EN)	2.5
11-Diffuse Large Cell (N)	2.32
12-Diffuse Large Cell (EN)	2.71
13-Diffuse Large Cell (EN)	2.83
14-Diffuse Large Cell (EN)	3
15-Diffuse Large Cell (N)	2.94

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2024-11-24]

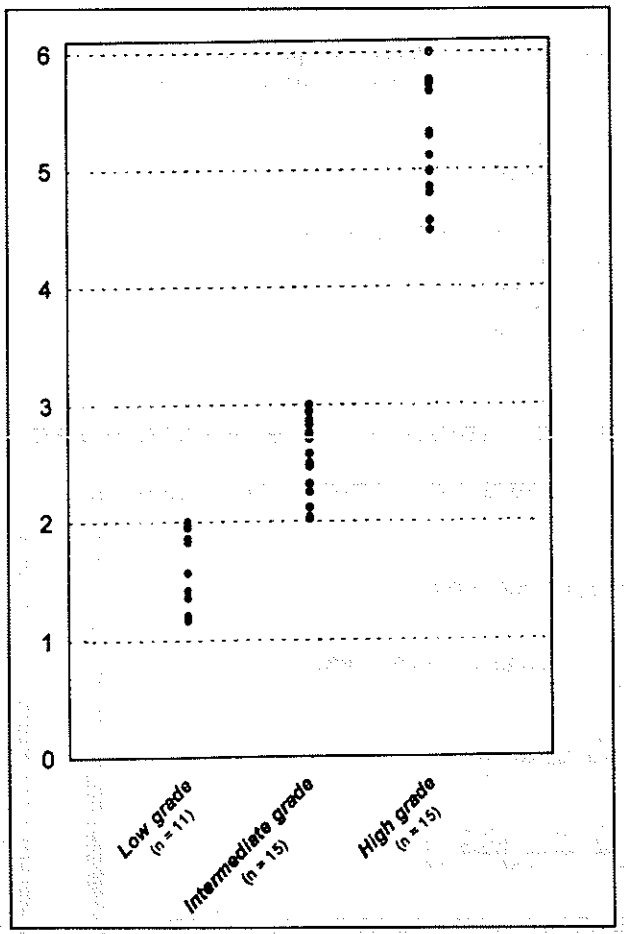
جدول شماره ٤-متوسط تعداد AgNOR در High grade non-Hodgkin's Lymphoma

Histologic type	NORs
1- Large Cell Immunoblastic (N)	4.8
2- Large Cell Immunoblastic (N)	4.56
3- Large Cell Immunoblastic (N)	4.85
4- Large Cell Immunoblastic (N)	4.48
5- Large Cell Immunoblastic (N)	4.99
6- Large Cell Immunoblastic (N)	5.29
7- Large Cell Immunoblastic (EN)	4.99
8- Small Nocncleved (EN)	5.67
9- Small Nocncleved (EN)	5.73
10- Small Nocncleved (EN)	5.77
11- Small Nocncleved (EN)	5.32
12- Small Nocncleved (EN)	5.12
13- Small Nocncleved (EN)	6
14-- Small Nocncleved (EN)	5.3
15- Small Nocncleved (EN)	4.98

نتایج در جدول شماره ۴ قابل مشاهده است.

در نمونه کنترل متوسط NORs در هر سلول در Mantle Zone برابر ۱/۰۹ (Mean ۱/۰۹ ؛SEM ٪۳) با فاصله اطمینان۰/۹۸تا ۱/۲ و درInterfollicular Zone در هر سلول برابر ۱/۱۴ (Mean ۱/۱۶ ؛ SEM٪۷) و فاصله اطمینان برابر ۰/۹۴ تا ۱/۳۸ حاصل گردید؛ پس از به دست آمدن نتایج حاصل از شمارش NORs آزمون آماری و آنالیز واریانس نشان داد که میانگین NORs در سه گروه NHL با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری دارند (P<0.0001).

برای تشخیص این که آیا میانگین NORs در هر یک از سه گروه NHL با یکدیگر اختلاف معنی دار آماری دارند یا خیر و جهت مقایسه این میانگین‌ها از روش Multiple Comparison استفاده گردید؛ این روش نشان داد که در سطح ٪۵= α میانگین NORs در سه گروه NHL با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری دارند و هیچ‌گونه تداخلی (Overlap) بین سه گروه مشاهده نمی‌شود (تصویر شماره۱).



تصویر شماره ۱- Scattergram متوسط تعداد AgNors را در هر یک از موارد NHL نشان می‌دهد.

بحث

تشخیص هیستولوژیک دقیق لنفوم غیرهوچکین اغلب دشوار می‌باشد؛ در حالی که می‌تواند در ارتباط با پیش‌آگهی و درمان ضایعه و بیمار اهمیت فراوانی داشته باشد، بطوری که میزان بقای ۵ ساله بیمار مبتلا معمولا به درجه هیستولوژیک لنفوم ایجاد شده و مرحله بیماری بستگی دارد (۶،۵،۴). هر یک از طبقه‌بندیهای متفاوتی که تاکنون جهت درجه‌بندی NHL ارائه شده است، دارای نارساهایی است و به همین دلیل نمی‌توانند شاخص مناسبی برای ارزیابی و

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2024-11-24]

پیش‌بینی مشی بیولوژیک تومور و نحوه مطلوب درمان باشند(۷)؛ به همین جهت روشهای دیگری –که از اهمیت بیشتری نیز برخوردار هستند– در NHL مورد بررسی قرار گرفته‌اند که یکی از آنها روش AgNOR می‌باشد(۸) که در سالهای اخیر به عنوان روشی مناسب جهت تعیین میزان پرولیفراسیون سلولی و افتراق نئوپلاسم‌های خوش‌خیم از بدخیم مطرح و عرضه شده است(۹).

این بررسی به منظور ارزیابی کاربرد روش AgNOR در تفکیک درجه هیستولوژیک NHL سر و گردن انجام گردید و با وجودی که روش انجام آن متفاوت بوده و جهت درجه‌بندی از سیستم Working Formulation استفاده شده است ولی نتایج آن مشابه گزارش Crocker و همکاران وی در این زمینه می‌باشد.

همان‌طور که آزمونهای آماری نتایج حاصل از این بررسی و نمودار رسم شده نشان می‌دهند، اختلاف معنی‌دار آماری بین متوسط شمارش NORs در سه گروه NHL وجود دارد؛ بدین صورت‌که تعدادNORs در هر سلول در گروه Low grade ۱-۲، در گروه Intermediate grade ۲-۳ و در گروهHigh grade بالاتر از ۴ می‌باشد؛ لذا روش فوق می‌تواند به عنوان معیاری در جهت افتراق این سه گروه و در نهایت پیش‌آگهی ضایعات NHL سر و گردن کاربرد داشته باشد و بر این اساس تومور را درجه‌بندی و طرح درمان نمود، در ضمن این مطلب خود مؤید اعتبار سیستم Working Formulation در کاربرد کلینیکی آن می‌باشد.

این مقاله مربوط به طرح مصوب شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران می‌باشد و هزینه انجام آن توسط معاونت پژوهشی دانشگاه مذکور پرداخته شده است.

منابع:

1- Mc Gee J, Issaacson P. Oxford textbook of pathology. 1st ed. London: Oxford University press; 1992: 585-590.
2- Chiu R, Ploton S. Improved Silver technique for showing nucleolar organizing region in paraffin wax sections. J Clin Pathol 1989; 42: 992-4.
3- Crocker J. How should we count AgNORs. J Pathol 1989; 158:155-58.
4- Hagemeister F. Low grade lymphoma: new entities and treatment concepts. Med Oncol 1989; 12: 131-42.
5- Haskell W. Cancer treatment. 4th ed. Philadelphia:WB Saunders; 1996:951-1010.
6- Jaffe E. Surgical pathology of Lymphnodes and related organs.2nd ed. Philadelphia:WB Saunders; 1995: 193-202.
7- Rosai J. Ackerman's surgical pathology.8th ed. St Louis: Mosby; 1995: 1709-13.
8- Crocker J. Nucleolar organizing region in lymphoma. J Pathol 1987; 151: 111-118
9- Willey J. NORs as diagnostic discriminates for Malignancy .J Pathol 1988; 155: 95-6.

حضرت امام صادق (ع) فرموده‌اند:

مطالعه بسیار و پیگیر در مسائل علمی

باعث شکوفایی عقل

و تقویت نیروی فکر است.

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2024-11-24]