

افتراق هیستوپاتولوژیک اسکواموس سل کارسینوما دهانی با تمایز بالا و وروکوز کارسینوما از طریق رنگ آمیزی اختصاصی غشای پایه

دکتر مهدی عاشوری^{†*} - دکتر آسیه سلیمیان^{**} - دکتر نوشین جلایر نادری^{*}

* استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شاهد

** دندانپزشک

Title: Histopathological differentiation between well differentiated oral squamous cell carcinoma and oral verrucous carcinoma with special staining of basement membrane

Authors: Ashoori M. Assistant Professor*, Salimian A. Dentist, Jalayer Naderi N. Assistant Professor*

Address: *Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Shahed University

Background and Aim: Microscopic differentiation between well differentiated squamous cell carcinoma and verrucous carcinoma is very difficult. As these lesions have different clinical course and treatment a reliable method to help distinguish between them is necessary. The basement membrane in oral verrucous carcinoma is generally intact whereas in oral squamous cell carcinoma is mostly discontinuous. This structure can be studied by different methods. The aim of this study was to differentiate these lesions with special staining of basement membrane.

Materials and Methods: In this tests evaluation study, a total of 26 cases consisting of 15 oral squamous cell carcinomas and 11 oral verrucous carcinomas were retrieved from Cancer Institute of Imam Khomeini hospital archive of pathology and their paraffin blocks were cut and stained with Periodic Acid Schiff method. Slides were studied with light microscope to evaluate the continuity of basement membrane. Sensitivity and specificity of this method were calculated.

Results: The sensitivity of this method for differentiating oral squamous cell carcinoma from oral verrucous carcinoma was 100% whereas the specificity was 90.9%. Positive predictive value was 93.75% and negative predictive value 100%.

Conclusion: Based on the results of this study, the sensitivity of this test for diagnosis of oral squamous cell carcinoma was high (100%). Further studies are needed to evaluate the use this method for distinguishing oral verrucous carcinoma from oral squamous cell carcinoma.

Key Words: Oral squamous cell carcinoma; Oral verrucous carcinoma; Basement membrane; Periodic acid schiff technique; Histopathologic differentiation

چکیده

زمینه و هدف: افتراق هیستوپاتولوژیک بین اسکواموس سل کارسینوما دهانی با تمایز بالا و وروکوز کارسینوما دهانی بسیار مشکل است. این دو ضایعه نیازمند درمانهای متفاوتی می باشند، بنابراین باید در جستجوی راهی بود که بتوان آنها را به صورت مطمئن از هم جدا ساخت. در ضایعه اول در بیشتر موارد غشای پایه اپی تلیالی منقطع است، در حالی که در ضایعه دوم، این غشا معمولاً دست نخورده و

† مؤلف مسؤول: نشانی: تهران - خیابان وصال شیرازی - خیابان ایالتی - دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شاهد - گروه آموزشی آسیب شناسی دهان و فک و صورت
تلفن: ۸۸۹۵۹۲۱۰ نشانی الکترونیک: m_ashoori85@yahoo.com

یکپارچه می‌باشد، بنابراین باید بتوان با بررسی این موضوع بین این دو ضایعه تفاوت قایل شد. مطالعه حاضر با هدف مقایسه رنگ‌پذیری غشای پایه در این دو ضایعه جهت افتراق هیستوپاتولوژیک انجام شد.

روش بررسی: مطالعه حاضر به روش بررسی تست‌های تشخیصی انجام شد. تعداد ۲۶ بلوک پارانینه شامل ۱۵ مورد اسکواموس سل کارسینومای دهانی با تمایز بالا و ۱۱ مورد وروکوز کارسینومای دهانی از بایگانی پاتولوژی انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی تهران استخراج گردید. مقاطع بافتی با روش Periodic Acid Schiff جهت بررسی امتداد غشای پایه رنگ‌آمیزی شد و به وسیله میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. با بررسی آماری، حساسیت و ویژگی این روش به دست آمد.

یافته‌ها: حساسیت این روش جهت تشخیص اسکواموس سل کارسینومای دهانی از وروکوز کارسینومای دهانی ۱۰۰٪ به دست آمد و ویژگی آن ۹۰/۹٪ بود. Positive predictive value این روش ۹۳/۷۵٪ محاسبه شد، در حالی که Negative predictive value آن ۱۰۰٪ تعیین گردید.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج مطالعه حاضر، حساسیت این روش جهت تشخیص اسکواموس سل کارسینومای دهانی از وروکوز کارسینوما بسیار بالا بود، بنابراین استفاده از آن توصیه می‌شود.

کلیدواژه‌ها: اسکواموس سل کارسینومای دهانی؛ وروکوز کارسینومای دهانی؛ غشای پایه؛ Periodic Acid Schiff؛ افتراق هیستوپاتولوژیک

وصول: ۸۴/۰۹/۱۲ اصلاح نهایی: ۸۴/۰۲/۱۱ تأیید چاپ: ۸۵/۰۴/۱۳

مقدمه

بسیار مشکل می‌باشد. با وجود مطالعات فراوانی که در این زمینه صورت گرفته است، روش قطعی جهت تشخیص این ضایعات از یکدیگر هنوز معرفی نشده است (۷، ۶، ۸، ۹، ۱۰). با توجه به اهمیت موضوع، در این بررسی روش جدیدی براساس مطالعه میکروسکوپی غشای پایه اپی‌تلیالی در این ضایعات مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی

این مطالعه از نوع بررسی تستها بود و حجم نمونه آن ۲۶ عدد بلوک پارانینه شامل ۱۵ مورد OSCC با تمایز بالا و ۱۱ مورد OVC تعیین گردید. این نمونه‌ها در مدت سه سال (۷۹-۱۳۸۱) در بایگانی پاتولوژی انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی تهران ثبت شده بودند. پس از استخراج بلوکها، مقاطع ۵ μm از آنها تهیه گردید و به روش PAS (Periodic Acid Schiff) رنگ‌آمیزی شد، سپس توسط دو پاتولوژیست و با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. استفاده از دو پاتولوژیست جهت اجرای روش

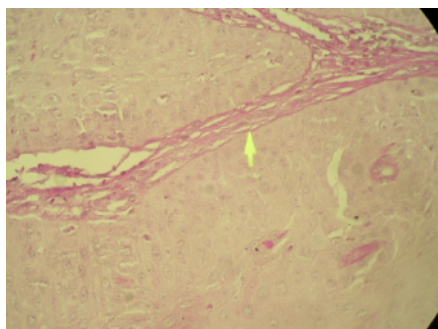
اسکواموس سل کارسینومای دهانی (OSCC*) شایعترین نئوپلاسم بدخیم حفره دهان است که ۹۰٪ سرطانهای دهان را شامل می‌شود (۱). میزان بقای کلی بیماران مبتلا به بدخیمی‌های دهانی ۵۰٪ است که این بدخیمی‌ها منجر به مرگ سالانه ۲٪ مردان و ۱٪ زنان می‌شود. معمولاً سرطانهای دهان به وسیله جراحی، رادیوتراپی یا ترکیبی از این دو روش درمان می‌شوند (۲، ۳، ۴). وروکوز کارسینومای دهانی (OVC†) ۵٪ سرطانهای دهان را شامل می‌شود که به عنوان نوع منحصر به فردی از OSCC با تمایز بالا محسوب می‌گردد. این تومور به صورت سطحی گسترش می‌یابد و متاستاز آن بسیار نادر است (۱، ۵). تومور مورد بررسی در بسیاری از موارد با جراحی محافظه کارانه درمان می‌شود و پیش‌آگهی آن خیلی بهتر از انواع معمول OSCC است (۱). افتراق میکروسکوپی میان OSCC با تمایز بالا و OVC

* Oral Squamous Cell Carcinoma

† Oral Verrucous Carcinoma

از ۱۱ مورد OVC موجود، یک مورد براساس این روش واجد غشای پایه گسسته و ۱۰ مورد بقیه دارای پیوستگی غشای پایه بودند و به عبارتی OSCC نبودند (شکل ۲). در نتیجه specificity این روش $\frac{90}{99} = 90.9\%$ محاسبه گردید.

$$\text{Specificity} = \frac{90}{99} = 90.9\%$$



شکل ۲- غشای پایه ممتد در اطراف جزایر وروکوکارسینوما (رنگ آمیزی PAS)

براین اساس و با توجه به تعداد نمونه، حدود اطمینان برای این ویژگی، $99.58\% - 82.24\% = 95\% \text{ CI}^{**}$ به دست آمد. نسبت ضایعاتی که OSCC بودند به ضایعاتی که غشای پایه گسسته داشتند به عنوان $\text{PPV}^{\dagger\dagger}$ شناخته شده، میزان آن $93.75\% \text{ CI}$ و در این مورد $94.13\% - 93.37\% = 95\% \text{ CI}$ محاسبه شد.

$$\text{PPV} = \frac{15}{16} = 93.75\%$$

برای تعیین این که میان ضایعاتی که غشای پایه پیوسته و ممتد داشتند، چند درصد SCC نبودند، $\text{NPV}^{\ddagger\ddagger} 100\%$ به دست آمد.

$$\text{PPV} = \frac{1}{1} = 100\%$$

بحث و نتیجه گیری

افتراق میان ضایعات OSCC و OVC تا حدود زیادی مشکل می باشد و تنها با تکیه بر نمای هیستوپاتولوژیک آنها

** Confidence interval
 †† Possitive predictive value
 †† Negative predictive value

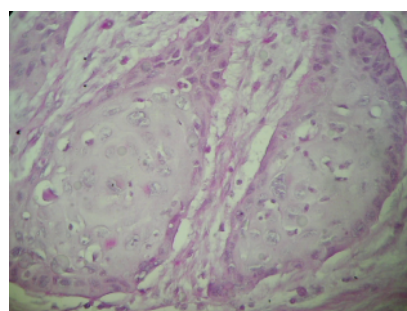
blinding به این دلیل صورت گرفت که ذهن پاتولوژیست اول با مشاهده کلیت لام، جهت یابی خاصی پیدا کرد و تنها یک جزیره سلولی اپی تلیالی را در بافت همبند یافت و آن را به رویت پاتولوژیست دوم رساند، سپس فرد دوم با درشتنمایی بالا، کم و کیف غشای پایه اپی تلیالی را بررسی کرد. نکته مورد توجه در این مشاهدات بررسی میزان پیوستگی غشای پایه در اطراف توده های اپی تلیالی موجود در بافت همبند، اعم از مقاطع رت پگ ها در OVC و نیز توده های اپی تلیالی مهاجم در OSCC بود. موارد گسستگی غشای پایه (به عنوان تست تشخیصی OSCC) در لامهای با تشخیص اولیه OSCC، OVC بررسی گردید.

در پایان با استفاده از نتایج حاصله و با در نظر گرفتن تشخیص اولیه (به عنوان gold standard) میزان حساسیت[‡] و ویژگی[§] روش مذکور به همراه حدود اطمینان 95% آن محاسبه شد.

یافته ها

در مطالعات میکروسکوپی صورت گرفته، تمامی ضایعاتی که OSCC با تمایز بالا تشخیص داده شده بودند، غشای پایه گسسته داشتند (شکل ۱)، بنابراین sensitivity این روش در تشخیص OSCC از OVC، 100% بود.

$$\text{Sensitivity} = \frac{15}{15} = 100\%$$



شکل ۱- دو توده اسکواموس سل کارسینوما با غشای پایه منقطع (رنگ آمیزی PAS)

‡ Sensitivity
 § Specificity

در مطالعه مشابه صورت گرفته، ۱۳ مورد از ۱۶ مورد OVC دارای غشای پایه سالم و ۹ مورد از ۱۰ مورد OSCC، غشای پایه گسسته داشتند. در این بررسی غشای پایه در OVC، ضخیمتر از غشای پایه در OSCC گزارش شد (۱۰).

براساس روش پیشنهادی ما، اگر برای توموری تشخیص SCC داده شود، امکان صحت آن ۹۳/۷٪ می‌باشد و البته با احتمال ۶/۳٪ ممکن است اشتباهاً، OVC باشد؛ بنابراین از این روش می‌توان در تشخیص ضایعات مشکوک به SCC در مقابل OVC استفاده نمود. یادآوری این نکته نیز ضروری است که در موارد نادری، تهاجم به بافت‌های مجاور در وروکوز کارسینوما دیده شده است که این امر می‌تواند باعث تخریب غشای پایه شود (۱۱). البته همین امر می‌تواند توجیه مناسبی برای یک مورد از OVC‌های ما که غشای پایه منقطع داشت، باشد.

در این مطالعه، به دلیل کم بودن تعداد نمونه‌های OVC، حساسیت ایده‌آلی در تشخیص OVC از OSCC به دست نیامد، بنابراین انجام بررسی‌های کاملتر با تعداد نمونه‌های بیشتر در این زمینه توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مدیریت محترم بخش پاتولوژی انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی، جناب آقای دکتر فرخ تیرگری در زمینه تأمین نمونه‌های مطالعه و نیز از جناب آقای دکتر محمد جواد خرازی فرد در خصوص بررسی‌های آماری این مطالعه تشکر و قدردانی می‌گردد.

نمی‌توان به این هدف دست یافت، بنابراین جهت افتراق این دو، نیازمند روش‌های جدیدی هستیم. مطالعه‌ای براساس الگوی انتشار و میزان کراتین موجود در این دو ضایعه صورت گرفت که مشخص نمود میزان رنگ‌پذیری پروتئین کراتین، بستگی به درجه تمایز تومور دارد. از طرفی الگوی انتشار کراتین در SCC و VC نامنظم بوده است (۶).

در مطالعه‌ای دیگر، ثابت شد که تظاهرات پروتئین‌های مرتبط با سیکل سلولی در این دو ضایعه تفاوت زیادی با هم دارند. این امر می‌تواند ناشی از اختلاف فعالیت پرولیفراتیو سلولی آنها باشد (۷). در رابطه با تظاهر ایزوآنزیم glutathione S-transferase نیز ۷۷٪ موارد از OVC‌ها و ۸۱٪ از موارد SCC با تمایز بالا، هم رنگ‌آمیزی هسته‌ای و هم سیتوپلاسمیک داشتند (۸).

در تحقیقی دیگر، براساس میزان خشونت سطحی این دوتومور، سطح ضایعات OVC نسبت به SCC مهاجم، خشنتر و سطح کارسینومای تازه ایجاد شده نسبت به SCC مهاجم، یک دست‌تر بود (۹). مطالعه حاضر بر مبنای نحوه رنگ‌پذیری غشای پایه اپی‌تلیالی (پیوستگی یا عدم پیوستگی آن) در این دو ضایعه صورت گرفت که از کل ۲۶ نمونه مورد مطالعه، ۱۰ مورد به دلیل این که غشای پایه در آنها ممتد و پیوسته بود، OVC تشخیص داده شدند، ولی ۱۶ مورد دیگر با غشای پایه منقطع یا غیرممتد SCC شناخته شدند که براساس تشخیص اولیه، یکی از این موارد OVC بود. به عبارت دیگر از ۱۵ مورد SCC، هر ۱۵ مورد واجد غشای پایه گسسته و از ۱۱ مورد OVC موجود، ۱۰ مورد دارای غشای پایه ممتد بودند.

منابع:

- 1- Shafer GS, Hine MK, Levy BM, Tomich CE. A Textbook of Oral Pathology, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1983. p. 106-8.
- 2- Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral & Maxillofacial Pathology, 2nd ed. Philadelphia; WB Saunders. 2002. p. 295-6.
- 3- Regezi JA, sciubbaJJ. Oral Pathology. 3rd ed. Philadelphia: WB.Saunders. 1999. p. 69.

۴- اسلامی محمد، بقایی فرشته، گرجی علیرضا. پاتولوژی نوین دهان، فک و صورت. جی فیلیپ ساپ، لیواین آر. اورسول، جورج پی ویسوک. انتشارات مرو. مشهد. ایران. چاپ اول ۱۳۷۹. ص ۱۵۳.

5- Takagi M, Ishikawa G. Benign papillary squamous tumors of the mouth. *Bull Tokyo Med Dent Uni* 1982; 29(4): 77-91.

6- Narayana N, Gadewar D. Immunodetection of keratin proteins in oral epithelial neoplasms. *Indian J Dent Res* 1992; 3(3): 68-75.

7- Satio T, Nakajima T, Mogi K. Immunohistochemical analysis of cell cycle associated proteins p16, pRb, p53 p27 and ki-67 in oral cancer and precancer with especial reference to verrucous carcinomas *J Oral Pathol Med* 1999; 20(5): 220-32.

8- Chen YK, Lin LM. Immunohistochemical demonstration of epithelial glutathione s-transferase isoenzymes in normal, benign, premalignant and malignant human oral mucosa. *J Oral Pathol Med* 1995; 24(7): 316-21.

9- Amagasa T, Sato K, Yocoo E, Iwaki EY, Shiodo S: Surface roughness of squamous cell carcinoma of the oral mucosa. *Bull Tokyo Med Dent Uni* 1985; 32(1): 1-7.

10- Jiang L, Wang S, Chen X. Immunohistochemical and ultrastructural study of basement membrane in oral verrucous carcinoma. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2001; 36(4): 308-10.

11- Rosai J. Ackerman' *Surgical Pathology*. 8th ed. St. Louis: Mosby, 1996. p. 286.