پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال ۱۰، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۸۴، صفحات ۴۱۱ تا ۴۱۷

تاریخ دریافت مقاله:۱۳۸۴/۱۰/۶
تاریخ پذیرش مقاله:۱۳۸۴/۱۲/۳

بررسی مارکرهای ویمنتین و آلفا اکتین عضله صاف به روش ایمونوهیستوشیمی در کارسینوم آدنویید سیستیک غدد بزاقی

دکتر سودابه سرگلزائی[1*]، دکتر کاوه علوی[2]، دکتر نرجس آبروتن[3]، دکتر فندان زارع[4]

چکیده

سابقه و هدف: *آدنویید سیستیک کارسینوم (ACC) تومور بدخیمی است که ممکن است در غدد بزاقی اصلی و فرعی ایجاد شود. این تومور ۱۰ تا ۱۵ درصد تومورهای سر و گردن را شامل می‌شود و در گروه سنی وسیعی از دهه اول تا نهم زندگی رخ می‌دهد.هدف از این بررسی تعیین خصوصیات ACC در رنگ‌آمیزی توسط مارکرهای آلفا اکتین عضله صاف (alph-SMA) و ویمنتین از نظر نسبت و نوع سلول‌های رنگ گرفته بوده است.*

مواد و روش‌ها: *۱۸ مورد آدنوییدسیستیک کارسینوم غدد بزاقی توسط مارکرهای ویمنتین و alph- SMA به روش ایمونوهیستوشیمی رنگ‌آمیزی شدند. همچنین ۱۸ مورد موکوسل غدد بزاقی این تومور به عنوان گروه شاهد رنگ‌آمیزی شد. غدد بزاقی داخل نمونه‌ها نیز به عنوان کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت.*

یافته‌ها: *در سلول‌های میواپی‌تلیال موکوسل رنگ‌پذیری با ویمنتین و alph-SMA به طور همزمان مثبت می‌شود، اگر چه شدت متفاوتی دارد. درACC رنگ‌آمیزی توسط ویمنتین در طرح توپر تنها در ۲ مورد از ۸ مورد مثبت بود. این فراوانی در طرح ترابکولار ٤ مورد از ۸ مورد، در غربالی ۹ مورد از ۱۱ مورد و در طرح لوله‌ای ۸ مورد از ۹ مورد بود. در رنگ‌آمیزی توسط alpha- SMA تمامی تومورهای توپر فاقد رنگ‌پذیری بودند و در بین تومورهای ترابکولار تنها ۱ مورد، در میان تومورهای غربالی ٤ مورد و در بین تومورهای لوله‌ای ۵ مورد رنگ‌آمیزی مثبتی داشتند.*

نتیجه‌گیری: *پیشنهاد می‌کنیم که رنگ‌آمیزی با alph-SMA در صورتی که در مقاطع آسیب‌شناسی ACC مطرح شده باشد انجام نشود و به رنگ‌آمیزی با ویمنتین اکتفا شود.*

واژگان کلیدی: ***کارسینوم آدنوییدسیستیک، رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی، ویمنتین و آلفا اکتین عضله صاف***

مقدمه

آدنویید سیستیک کارسینوم یکی از تومورهای بدخیم شایع غدد بزاقی است که ۲ تا ٤/٤ درصد کل تومورهای غدد بزاقی و ۲٤درصد تومورهای بدخیم غدد بزاقی را شامل می‌شود (۱). این تومور را اولین بار بیلروث در ۱۸۵۹ گزارش کرد و آن را به لحاظ دارا بودن خصوصیت میکروسکوپی متداول شبیه مقطع عرضی ساختارهای لوله‌ای سیلندروم نامید(٤-۲). ACC در گروه سنی وسیعی از دهه اول تا نهم زندگی پدید می‌آید اما حداکثر شیوع آن دردهۀ سنی چهارم تا هفتم است (۵). این تومور در طی رشد تمایل به تهاجم به دور عصب دارد. از این رو، درد یافته تقریباً شایعی محسوب می‌شود(۵).

بر طبق طبقه‌بندی سازمان بهداشت جهانی، این تومور به ۳

۱*. نویسنده مسؤول: استادیار،گروه آسیب شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. آدرس برای مکاتبه: تهران، اوین، بلوار دانشجو، دانشکده دندانپزشکی شهید بهشتی، بخش پاتولوژی Email: ssargolzarie@sbmu.ac.ir
۲. پزشک،کارشناس مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۳. دندانپزشک
٤. استادیار، گروه آسیب‌شناسی بیمارستان طالقانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

الگوی میکروسکوپیک لوله‌ای (tubular)، غربالی (Cribriform) و توپر (Solid) تقسیم شده است (۵). براساس مطالعه سایفرت از نظر شیوع، ٤٥ درصد از نوع غربالی، ۳۵ درصد از نوع لوله‌ای و۲۰-۱۰ درصد موارد از نوع توپر است(٦). ممکن است هر سه الگو در یک بیمار دیده شود که در این صورت طبقه‌بندی براساس الگوی غالب انجام می‌شود. پیشنهاد شده است اگر تومور بیش از ۳۰ درصد الگوی توپر داشته باشد، جزء گروه توپر طبقه‌بندی شود (۵).

با توجه به نماهای متنوع سلول شناختی ACC احتمال اشتباه این تومور با برخی دیگر از بدخیمی‌های غدد بزاقی به خصوص آدنوکارسینوم چند شکلی با درجه پایین که دارای پیش آگهی متفاوتی است، وجود دارد. از طرف دیگر، از آنجا که ACC ۱۸ تا ۹٦ درصد به نواحی دوردست متاستاز می‌دهد و با میزان بالایی از مرگ و میر همراه است، شناسایی و تشخیص بموقع آن نقش بسزایی در درمان موفقیت آمیز دارد (۱). این تومور شامل دو نوع سلول است: سلول‌های داکتال و سلول‌های میواپی‌تلیال (غیر لومینال)(۵). هر دو نوع سلول داکتال و میواپی‌تلیال با مارکرهای ایمونوهیستوشیمی تشخیص داده می‌شوند (٤). آنتی‌ژن غشای اپی‌تلیال (EMA) و سیتوکراتین‌های با وزن مولکولی کم در سلول‌های لومینالی (داکتال) مثبت می‌شوند. ویمنتین، سیتوکراتین و اکتین ویژه عضله در سلول‌های میواپی‌تلیال در بخش‌های خارجی جزایر تومور در هر سه الگوی ریخت‌شناختی یافت شده‌اند (٤). هم‌چنین بسیاری از سلول‌ها با آنتی‌ژن کارسینوامبریونیک (CEA) مثبت می‌شوند (٤).

تاکاهاشی و همکاران در ۱۹۹۰ در ٥٤ مورد ACC غدد بزاقی مارکرهای ویمنتین، آلفا ـ ۱ اتولاز آنتی‌تریپسین ویژه نورونی (NSE) و آلفا ـ ۱ آنتی‌کیموتریپسین (alpha-1 ACT) را بررسی کردند (۷). نتایج تحقیق آنان نشان داد که دو گروه سلول‌های تومورال در ACC وجود دارند. سلول‌های مجاری لومینال که با alpha-1 ACT مثبت می‌شوند که نشانه ویژگی مجرایی‌شان است و سلول‌های زاویه‌دار کوچک که ویمنتین را بروز می‌دهند که مشخصه سلول‌های غیرلومینال (میواپی‌تلیال) است (۷).

در تحقیق دیگری مارکر ویمنتین را در ٢٤ تومور غدد بزاقی بررسی کردند (۸) که شامل ۷ مورد ACC بود (۲ مورد لوله‌ای، ٤ مورد غربالی و ۱ مورد توپر). ویمنتین در سلول‌های میواپی‌تلیال ACC مثبت بود و در الگوی توپر منفی بود (۸).

ایشیکاوا و همکاران نیز یک مورد ACC را در غدد بزاقی فرعی زبان گزارش کردند (۹). در رنگ‌آمیزی توسط آلفا اکتین عضله صاف بعضی از سلول‌های تومور و سلول‌های طبیعی میواپی‌تلیال مثبت بودند (۹).

پاراساد و همکاران برای شناسایی اختلاف سلول‌های میواپی‌تلیال در طیف گسترده‌ای از تومورهای غدد بزاقی شامل ۱۳۵ مورد تومور غدد بزاقی، ۳ مورد از پروتئین ویژه عضلات صاف شامل alph-SMA، کالپونین و زنجیره سنگین میوزین عضله صاف (SMMH) را استفاده کردند (۱۰) که از این ۱۳۵ مورد ۱۳ مورد ACC بودند. از نتایج این تحقیق سلول‌های با تمایز میواپی‌تلیال و سلول‌های غیرمتمایز با این آنتی‌بادی‌ها مثبت می‌شوند، در حالی که سلول‌های با تمایز داکتال منفی می‌گردند (۱۰).

هدف از این مطالعه رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی توسط مارکرهای ویمنتین و alph-SMA و توصیف وضعیت واکنش و میزان رنگ‌آمیزی با این مارکرها در ACC غدد بزاقی در بیماران مراجعه کننده به بخش آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی و بخش آسیب‌شناسی بیمارستان طالقانی بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش توصیفی ـ مقطعی انجام گرفت و در آن ۱۸ نمونه آدنوییدسیستیک کارسینوم غدد بزاقی (شامل تمام موارد مراجعه کننده به بخش آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی شهید بهشتی و بیمارستان طالقانی طی سال‌های ۱۳٦۲ تا ۱۳۸۲) بررسی شدند.

پس از جمع‌آوری لام‌های تهیه شده از کلیه بیوپسی‌هایی که تشخیص فوق در مورد آن‌ها مطرح شده بود، مواردی که کیفیت مناسبی نداشت مجدداً رنگ‌آمیزی شد و تشخیص آدنوییدسیستیک کارسینوم مجدداً در مورد تمام آنها تأیید شد. تعداد ۳٦ طرح در ۱۸ لام تهیه شد. از نظر نمای سلول شناختی به ٤ دسته لوله‌ای (۹مورد)، غربالی(۱۱مورد) ، ترابکولار(۸ مورد) و توپر(۸ مورد) تقسیم شدند. با توجه به ملاحظات اخلاقی و محدودیتی که در بیوپسی از غدد بزاقی طبیعی وجود دارد ۱۸ مورد موکوسل غدد بزاقی نیز از آرشیو آزمایشگاه آسیب‌شناسی دانشکده دندانپزشکی استخراج و به عنوان شاهد بررسی شد. هم‌چنین از نواحی طبیعی داخل نمونه‌ها نیز به عنوان شاهد استفاده شد. یک مورد آدنوم پلئومورفیک به عنوان شاهد مثبت ویمنتین و alph- SMA،

یک مورد کارسینوم سلول سنگفرشی به عنوان شاهد منفی ویمنتین، یک مورد کارسینوم موکواپیدرموید به عنوان شاهد منفی alph-SMA، همچنین یک مورد کارسینوم چند شکلی با درجه پایین نیز بررسی شد.

رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی توسط مارکرهای ویمنتین (Dako, Ready- to- use, NI۵۲۱ ،۷۹) و آلفا اکتین عضله صاف (Dako, Ready- to- use, NI ۵۸٤ ،IA٤) با استفاده از روش آویدین ـ بیوتین انجام گرفت و دی‌آمینوبنزیدین (DAB) به عنوان کروموژن مورد استفاده قرار گرفت. از بلوک‌های پارافینی برش‌هایی به ضخامت پنج میلیمتر بر روی لام‌های خاص ایمونوهیستوشیمی با پوشش سیلیکونی تهیه شد. سپس لام‌ها بعد از یک شب قرار گرفتن در oven به شرح زیر بررسی شدند:

پس از پارافین‌گیری و آب گیری با الکل گرادیان نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در محلول هیدروژن پراکسیداز ۰/۳ درصد در متانول قرار گرفتند. این محلول جهت غیرفعال‌سازی پراکسیداز داخلی به کار می‌رود. سپس بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده از پروتئین غیر سرمی به مدت ۱۰ دقیقه جهت غیرفعال کردن واکنش با پروتئین‌های غیر اختصاصی استفاده شد. پس از آن آنتی‌بادی اولیه روی هر لام به میزان ۲۰ml (یک قطره) افزوده شد. نمونه ها پس از یک ساعت قرارگیری در دمای اتاق به مدت یک شب در اتاق سرد (٤°c-) باقی ماندند. روز بعد در مرحله دوم کار پس از شستشو با PBS از آنتی‌بادی ثانویه براساس کاتالوگ داکو انجام شد. بدین شکل که ابتدا از (Ko٦٧٣ DAKO,) ضد موش و ضد خرگوش و پس از ۱۰ دقیقه از HRP (DAKO, Ko٦٧٣) استرپتاویدین یک قطره برای هر نمونه استفاده شد. پس از ۱۰ دقیقه و شست و شو با PBS، محلول (Ko٦٧٣، HPR، LSAB۲، DAKO) DAB افزوده و زیر میکروسکوپ تا زمان مثبت شدن واکنش کنترل شد. سرانجام رنگ‌آمیزی به وسیله هماتوکسیلین و چسباندن با Cover glass انجام شد. روش‌حاضر بر طبق کاتالوگ داکو انجام شد، ولی با استفاده از این روش در مورد ویمنتین به نتایج قابل قبولی دست نیافتیم لذا مطابق روش معمول در سایر مقالات جهت بازیابی آنتی‌ژن، قبل از افزودن پروتئین غیر سرمی نمونه‌ها را در محلول بافر سیترات (pH=٦) قرار دادیم و در دستگاه میکروویو گذاشتیم (۳ بار، هر بار ۵ دقیقه). این عمل فقط در مورد ویمنتین انجام شد. در هر دو روش برای تعیین شدت رنگ‌پذیری از شمارش تعداد سلول‌های رنگ گرفته استفاده شد و رنگ‌پذیری کمتر از ۵ درصد به عنوان (-)، ۵ درصد تا ۳۰ درصد به عنوان (+)، ۳۰ درصد تا ۵۰ درصد به عنوان (++) و بیشتر از ۵۰ درصد به عنوان (+++) در نظر گرفته شد. تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش نهم و با استفاده از آزمون غیر پارامتری کروسکال، والیس و ضریب همبستگی کندال انجام شد.

یافته‌ها

در روش رنگ‌آمیزی بدون بازیابی آنتی‌ژن، تنها یک مورد مثبت مشاهده شد. این نمونه از نظر نمای میکروسکوپی دارای طرح لوله‌ای/ غربالی بود. پس از استفاده از مایکروویو تعداد ۱۲ مورد از ۱۸ مورد ACC با رنگ‌آمیزی ویمنتین مثبت شدند. به طور عمده در بخش‌های غربالی، پوشش کیست‌های کاذب و سلول‌های محیطی سیلندرها رنگ شده بودند. در نوع لوله‌ای سیتوپلاسم سلول‌های لوله‌ای خارجی و در نوع ترابکولار و توپر بعضی از سلول‌ها با ویمنتین رنگ شده بودند. در میان تومورهایی که طرح توپر داشتند تنها ۲ نمونه رنگ‌آمیزی مثبت داشتند (۲۵٪). این میزان در تومورهایی که طرح ترابکولار داشتند ٤ مورد (۵۰٪) در تومورهای غربالی ۹ مورد (۸۲٪) و در تومورهای لوله‌ای ۸ مورد (۸۹٪) بود. رنگ‌آمیزی (+++) در مورد هر ٤ طرح مشاهده شد (جدول ۱).

با بهتر شدن طرح بافت‌شناختی یا درجه‌بندی از توپر به لوله‌ای رنگ‌آمیزی ویمنتین به طور متوسطی بیشتر شد (ضریب همبستگی کندال tau- b=۰/۳۲۳ و P =۰/۰۲۳). تفاوت معنی‌داری از نظر شدت رنگ‌آمیزی ویمنتین بین طرح‌های مختلف دیده نشد (P=۰/۰۸۸) (جدول ۲).

تمام نمونه‌های توپر، فاقد رنگ‌پذیری با alph-SMA بودند در بین تومورهای ترابکولار نیز تنها ۱ مورد (۱۳٪) رنگ‌آمیزی (+++) دیده شد و باقی موارد فاقد رنگ‌پذیری بودند. در میان تومورهای غربالی ۳ مورد (۳٦٪) و در بین تومورهای لوله‌ای ۵ مورد (۵٦٪) رنگ‌آمیزی مثبتی داشتند (++ یا +++) (جدول ۱).

همانند رنگ پذیری با ویمنتین با بهبود طرح بافت شناسی تومور میزان رنگ پذیری با alph-SMA به طور متوسط بیشتر شد (ضریب همبستگی کندال tau-b=۰/۳٦۷ ، p=۰/۰۱٤). به طور عمده، الگوی رنگ آمیزی با alph-SMA در نوع لوله‌ای و غربالی مشابه رنگ آمیزی

با ویمنتین بود و در نوع توپر هیچ رنگ آمیزی مشاهده نشد. پس از مقایسه نتایج حاصل از رنگ آمیزی باویمنتین و alph-SMA مشاهده شد که به جز یک مورد هر گاه تومور از نظر رنگ آمیزی با ویمنتین، منفی تلقی می‌شده است فاقد رنگ پذیری با alph-SMA هم بوده است، ولی از مجموع ۲٦ مورد طرحهای مختلف تومور فاقد رنگ پذیری با alph-SMA حدود نیمی از آنها (مجموعاً ۱۳ طرح) با ویمنتین رنگ پذیری داشتند. تنها در ۵ طرح تومورال شدت رنگ‌پذیری با alph-SMA بیش از ویمنتین بود. دو مورد از این ۵ مورد طرح لوله‌ای و ۳ مورد دیگر طرح غربالی داشتند. به جز مواردی که فاقد رنگ‌پذیری با هر دو مارکر بودند تنها در دو مورد شدت رنگ‌پذیری با هر دو مارکر یکسان بود (+++). یکی از این تومورها طرح غربالی و دیگری طرح ترابکولار داشتند. در ١٤ مورد باقیمانده شدت رنگ‌آمیزی با ویمنتین بیش از alph-SMA بود (جدول ۳). سلول‌های جزایر کارسینوم سلول سنگفرشی در رنگ‌آمیزی با alph-SMA فاقد رنگ‌پذیری بودند و سلول‌های میواپی‌تلیال اطراف آسینی‌های غدد بزاقی و عروق موجود در تومور به طور ضعیفی رنگ شده بودند. لام بررسی شده در رنگ‌آمیزی با ویمنتین، بدون استفاده از مایکروویو منفی بود و با استفاده از مایکروویو تعداد بسیار اندکی از سلول‌های بافت همبندی رنگ شده بودند. در این نمونه رنگ‌آمیزی با alph-SMA منفی بود ولی در رنگ‌آمیزی با ویمنتین رنگ‌آمیزی (+++) در طرح لوله‌ای دیده شد. سلول‌های رنگ گرفته در حاشیه ساختمان‌های لوله‌ای قرار داشتند.

جدول ۳- مقایسه بین شدت رنگ‌پذیری با ویمنتین و alph-SMA در مجموع طرح‌های مختلف بافت‌شناسی

ویمنتین / alph-SMA	+++	++	+	-	جمع
-	۵	۴	۵	۱۲	۲۶
+			۱		۱
++	۲		۲	۱	۵
+++	۲	۷	۱		۴
جمع	۹	۵	۹	۱۳	۳۶

کارسینوم موکواپیدرموید (MEC) در رنگ‌آمیزی با هر دو مارکر فاقد واکنش بود. در مورد آدنوکارسینوم چند شکلی با درجه‌بندی پایین (PLGA)در رنگ‌آمیزی با alph-SMA رنگ‌آمیزی در اطراف عروق دیده شد و در رنگ‌آمیزی با ویمنتین نیز حتی بدون استفاده از مایکروویو (+++) بود. حدود یک سوم سلول‌ها در طرح لوله‌ای

دارای رنگ‌پذیری بودند. از ۱۸ نمونه بررسی شده از نظر موکوسل، شدت رنگ‌پذیری ۱۷ مورد در رنگ‌آمیزی با alph-SMA به صورت (++) و تنها در یک مورد به شکل (+) بود. سلول‌های رنگ شده شامل سلول‌های میواپی‌تلیال اطراف آسینی موکوس و سروز هم‌چنین مجاری intercalated بود. شدت رنگ‌پذیری در رنگ‌آمیزی ویمنتین در ۱۷ مورد (+) و تنها در یک مورد (++) بود. رنگ‌آمیزی مثبت در باند نازکی از سیتوپلاسم سلول‌های میواپی‌تلیال دیده شد.

بحث

این تومور شامل دو نوع سلول است: سلول‌های داکتال و سلول‌های میواپی‌تلیال غیرلومینال (۵). هر دو سلول داکتال و میواپی‌تلیال با مارکرهای ایمونوهیستوشیمی تشخیص داده می‌شوند (٤).

به علت تغییر ساختار سلول‌های تومورال، سلول‌های غیرمتمایز و سلول‌های منشأ گرفته از آن شامل سلول‌های داکتال و میواپی‌تلیال توسط میکروسکوپ نوری تشخیص داده نمی‌شوند و با میکروسکوپ الکترونی نیز میوفیلامان‌ها، وزیکول‌های میکروپینوسیتیک، همی‌دسموزوم‌ها و غشای پایه سلول‌های میواپی‌تلیال به شرط بالغ بودن سلول مشاهده می‌شوند. از آنجا که اغلب سلول‌های بدخیم فاقد اجزای تمایز یافته فوق هستند حتی توسط میکروسکوپ الکترونی نیز نمی‌توان اجزای میواپی تلیال را در بسیاری از تومورهای غدد بزاقی مشاهده کرد. به این ترتیب برای تشخیص اجزای ملکولی سلول‌های تومورال در بدخیمی‌ها و نیز تومورهای خوش‌خیم غدد بزاقی مارکرهای متعددی همچون پروتئین S-۱۰۰، میوزین، دسمین، ویمنتین، کراتین و GFAP استفاده شده است.

ویمنتین پروتئین فیلامانی حد واسط است که در سیتوپلاسم سلول‌های مزانشیمی حضور دارد. انواع مختلفی از سلول‌ها ویمنتین را بروز می‌دهند که شامل سلول‌های اندوتلیال، فیبروبلاست‌ها، سلول‌های عضله صاف و سلول‌های لنفوید هستند. در غده بزاقی لنفوسیت‌ها، سلول‌های فیبروبلاست، بافت همبندی استروما و سلول‌های میواپی‌تلیال با ویمنتین مثبت می‌شوند (۱۱).

آلفا اکتین عضله صاف مارکر سلول‌های مزانشیمی است و با سلول‌های عضله صاف، سلول‌های میواپی‌تلیال اطراف آسینی و مجاری غدد پستان، سلول‌های میواپی تلیال غدد بزاقی، گروه کوچکی از سلول‌های استروما، عروق خونی واکنش می‌دهد. همچنین در سلول‌های استرومال تومورهای غدد بزاقی هم مثبت می‌شود (۱۲).

اولین بار پروتئین‌های فیلامانی حد واسط (دسمین، ویمنتین و کراتین) را کاسلتیز و همکاران در ۱۹۸۱ به روش ایمونوهیستوشیمیایی در غدد پاروتید و تومورهای مربوط به آن بررسی کردند (۱۳).

موریناگا و همکاران در ۱۹۸۷ نشان دادند که ویمنتین در سلول‌های میواپی‌تلیال طبیعی غدد بزاقی اصلی و فرعی دیده نمی‌شود (١٤). در حالی که مطالعه ما نشان داد که این یافته عمومیت ندارد و سلول‌های میواپی‌تلیال غیر تومورال نیز ممکن است با ویمنتین رنگ بگیرند اگرچه این رنگ‌پذیری در اغلب موارد بسیار خفیف است.

مشخص شده است که ویمنتین اغلب در آدنوم پلئومورفیک، میواپی‌تلیوم، PLGA و آدنوم مونومورفیک مثبت است، اما در موارد کارسینوم اپی‌تلیال ـ میواپی‌تلیال تنها نوار باریکی از سیتوپلاسم سلول‌های غیر لومینال مثبت می‌شود (۱۵). در موارد ACC نیز رنگ‌آمیزی با ویمنتین مثبت بود. البته روش رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی آنها پراکسیداز ـ آنتی‌پراکسیداز (PAP) بود ولی ما از روش آویدین ـ بیوتین استفاده کردیم. همچنین برخلاف آنها که ویمنتین را یکی از شاخص‌های زود هنگام تمایز نئوپلاستیک سلول‌های میواپی‌تلیال فرض کرده بودند، مطالعه حاضر نشان داد که ارتباط واضحی بین طرح تومور و حتی خوش‌خیم و بدخیم بودن نمونه برداشته شده با شدت رنگ‌آمیزی با ویمنتین وجود ندارد و نمی‌توان به صرف رنگ‌آمیزی با این مارکر اظهارنظر کرد.

در مطالعه‌ای مارکرهای اکتین و ویمنتین را در ۱۱٤ تومور غدد بزاقی که شامل ۷ مورد این تومور بود، به کار بردند (۸). در این مطالعه تنها تومور توپر با ویمنتین و اکتین رنگ نگرفت. در طرح لوله‌ای و غربالی رنگ‌آمیزی مثبتی با هر دو مارکر دیده شد. بررسی حاضر نشان داد که در موارد لوله‌ای و غربالی ممکن است هم رنگ‌پذیری با alph-SMA و هم با ویمنتین مثبت شود. موارد ترابکولار خصوصیات بینابینی را نشان می‌دهد، به نحوی که رنگ‌پذیری با alph-SMA ندرتاً مثبت است و از این جهت مانند تومورهای بالغ‌تر تظاهر می‌یابند. مجموع این نتایج نشان می‌دهد که هر چه به سمت تومور بالغ‌تر پیش می‌رویم هر دو رنگ‌آمیزی شدت بیشتری پیدا می‌کنند ولی این همبستگی چندان قدرتمند نیست. هم‌چنین مشخص شد در ۷۲ درصد مقاطع تومورال سلول‌ها فاقد رنگ‌پذیری با alph-SMA و در ۳٦ درصد فاقد

رنگ‌پذیری با ویمنتین هستند. بنابراین، فقدان رنگ‌پذیری با این مارکر به مفهوم رد وجود اجزای میواپی‌تلیال نیست. از طرف دیگر، از آنجا که تمامی موارد موکوسل که به عنوان شاهد بررسی شده بودند دارای رنگ‌پذیری با این دو مارکر بودند، رنگ‌آمیزی مثبت آنها به مفهوم وجود بدخیمی نخواهد بود. آنچه مشاهده شده است نشان می‌دهد که تومورهای توپر با alph-SMA رنگ نمی‌شوند و موارد اندکی از آنها با ویمنتین رنگ می‌گیرند. در مطالعه حاضر بدون استفاده از مایکروویو تنها دو طرح از ۳۶ طرح (۱ مورد طرح لوله‌ای و ۱ مورد طرح غربالی) که هر دو متعلق به یک بیمار بودند، رنگ‌آمیزی ویمنتین مثبت داشتند، در حالی که با استفاده از مایکروویو این میزان به ۲۳ طرح افزایش یافت. بر خلاف آنچه کارخانه سازنده پیشنهاد کرده بود، به نظر می‌رسد استفاده از مایکروویو با ظهور مجدد آنتی‌ژن‌های ویمنتین که طی مراحل قبلی فیکساسیون و تهیه لام کاهش یافته بودند باعث افزایش میزان رنگ‌پذیری با ویمنتین می‌شوند.

همان‌طور که قبلاً اشاره شد یافته‌های بالینی و آسیب‌شناختی PLGA و ACC همپوشانی قابل توجهی با یکدیگر دارند، در حالی که پیش‌آگهی ACC ناگوارتر از PLGA است و هر یک درمان مقتضی خود را دارند و یافتن شواهدی جهت افتراق این دو مورد از یکدیگر به شدت مورد نیاز است. مطالعه حاضر صرفاً می‌تواند پیشنهاد کند که رنگ‌آمیزی ویمنتین برای این موضوع کفایت نمی‌کند. این یافته برخلاف آن چیزی است که دارلینگ و همکاران اشاره کرده بودند (۱۶). در مقاله مروری آنها مطرح شده بود که رنگ‌آمیزی با ویمنتین در PLGA مثبت و در ACC منفی است و با مقایسه ۱۱ مارکر که شامل alph-SMA نیز می‌شد به این نتیجه رسیده بودند که تنها ویمنتین قادر به افتراق این دو تومور است. در حالی که در مطالعه حاضر چنین نتایجی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری

اگر رنگ‌آمیزی alph-SMA مثبت باشد به احتمال ۹۰ درصد تومورفرم بالغ (لوله‌ای یا غربالی) دارد. این میزان در مورد ویمنتین تنها ۷۰ درصد است، از سوی دیگر، هرگاه رنگ‌آمیزی با ویمنتین منفی باشد رنگ‌آمیزی با alph-SMA به احتمال ۹۵ درصد منفی است ولی برعکس آن صادق نیست. به این ترتیب، پیشنهاد می‌کنیم که رنگ‌آمیزی با alph-SMA در صورتی که در مقاطع آسیب‌شناسی بررسی شده ACC مطرح شده باشد انجام نشود و به رنگ‌آمیزی ویمنتین اکتفا شود. یا در صورتی که رنگ‌آمیزی با ویمنتین منفی بود از رنگ‌آمیزی با alph-SMA پرهیز شود اما در صورتی که هر دو رنگ‌آمیزی انجام شود رنگ‌آمیزی مثبت در هر دو مورد به نفع طرح‌های بالغ‌تر تومور است.

REFERENCES

1. Kissane JM: Andersons pathology. 9th ed. Mosby Co. vol 2. 1990; pp: 1138-9.
2. Lucas RB. Pathology of tumors of the oral tissue. 3rd ed, Saunders Co.1976; pp: 329-35.
3. Eversole LR, Wysocki GP, Sapp JP. Contemporary Oral and Maxillofacial Pathology. Salivary gland disease. Mosby Co 1997; 303-4.
4. Fu YS. Head & Neck Pathology with Clinical Correlations. Churchill Livingston Co. 2001; pp: 263-7.
5. Gnepp DR. Diagnostic Surgical Pathology of the Head and Neck. Saunders Co. 2000; pp: 349-52, 379-84.
6. Seifert G. Histopathology of malignant salivary gland tumors. Oral Oncol Eur J Cancer. 1992; 28: 49-56.
7. Takahashi H, Tsudu N, Fujita S, Tezuka F, Okabe H. Immunohistochemical investigation of vimentin, neuron- specific enolase, alpha-1 antichymotrypsin and alpha-1 antitrypsin in adenoid cystic carcinoma of salivary gland. Acta Pathol Jpn. 1990; 40: 655-64.
8. De Araujo VC, Carvalho YR , de Araujo NS. Actin versus Vimentin in myoepithelial cells of salivary gland tumors. A Camparative study .Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1994; 77: 387-91.
9. Ishikawa Y, Ishii T, Asuwa N, Ogawa T. Adenoid cystic carcinoma originated from anterior lingual minor salivary gland: Immunohistochemical and ultractrural studies and review of the literature. J Oral Maxillofac Surg 1997; 55: 1460-9.

10. Prasad AR, Sevara AT, Gown RM, Zarbo RJ. The myoepithelial immunophenotype in 125 benign and malignant salivary gland tumors other than pleomorphic adenoma. Arch Pathol Lab Med. 1999; 123: 801- 6

11. Van Muijen GNP, Ruither DJ, Warnaar SO. Co- expression of intermediate filament polypeptides in human fetal and adult tissues. Lab Invest. 1987; 57: 359.

12. Skalli O, Ropraz P, Trzeciak A, Benzonana G, Gillessen D, Gobbian G .A monoclonal antibody against α-SMA muscle actin: A new probe for Smooth muscle differentiation. J cell Biol. 1986; 103. 2787

13. Caselitz J, Schultz I, Seifert G. Adenoid cystic carcinoma of the Salivary glands: an Immunohistochemical Study. J Oral Pathol. 1989; 97: 308- 18.

14. Morinago S, Nakajima T, Osato YS. Normal and neoplasic myoepithelid cells in salivary glands: An Immunohistochemical Study. Hum Pathol. 1987 ; 18: 1218- 28.

15. de Araujo VC, de Araujo NS. Vimentin as a marker of myoepithelial cells in salivery gland tumor. Eur Arch Oto Rhinolaryngol. 1990; 247: 252-5.

16. Darling MR, Schneider JW, Phillips VM. Polymorphous low- grade adenocarcinoma and adenoid cystic carcinoma: a review and Comparison of Immunohistochemical Markers. Oral Oncol 2002; 38: 641-5.