

# بررسی درجه بدخیمی تومورهای پستان براساس نمونه‌های سیتولوژی بدست آمده از بیماران مبتلا به سرطان پستان در فاصله زمانی فروردین ماه ۱۳۸۳ تا پایان آذرماه ۱۳۸۴ در مجتمع آموزشی - درمانی حضرت رسول اکرم(ص) و بیمارستان میلاد

## چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان، شایع‌ترین تومور بدخیم و عامل مهم مرگ ناشی از سرطان در زنان است. عوامل متعددی در تعیین پیش‌آگهی و رفتار این تومور وجود دارند که براساس آنها، می‌توان روش درمانی مناسب را انتخاب نمود. از مهم‌ترین این عوامل، درجه‌بندی (Grading) سرطان پستان می‌باشد که به طور متداول روی نمونه‌های بافت‌شناسی (Histology) انجام می‌شود. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که نمونه سیتولوژی علاوه بر نقش مهم آن در افتراق ضایعات خوش‌خیم از بدخیم، می‌تواند اطلاعات اضافی راجع به درجه‌بندی تومور ارائه دهد که نتایج آن تا حد زیادی قابل مقایسه با نتایج بدست آمده از نمونه‌های بافت‌شناسی است. هدف کلی این مطالعه، تعیین ارزش درجه‌بندی بر روی نمونه‌های سیتولوژی بدست آمده از بیماران مبتلا به سرطان پستان است.

روش بررسی: در مطالعه حاضر، ۷۳ مورد از نمونه‌های بیوپسی باز از ضایعات پستان که در فاصله زمانی فروردین ماه ۱۳۸۳ تا پایان آذرماه ۱۳۸۴ به صورت تازه (fresh) برای برش انجمادی به بخش آسیب‌شناسی بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص) و میلاد فرستاده می‌شدند، انتخاب شدند. از آنها به روش Touch-imprint یا Scraping، لام تهیه شد و به دو روش پاپانیکولاو و Rapid H&E (Rapid Haematoxylin and eosin) رنگ شدند، سپس براساس ۶ پارامتر پلئومورفیسم، سایز هسته، سایز هسته برهنه، حاشیه هسته، هستک و میتوز (معیارهای Khan)، درجه‌بندی سیتولوژیک انجام شد و این نتایج با نتایج درجه‌بندی هیستولوژیک مقایسه شدند.

یافته‌ها: از ۷۳ مورد بررسی شده، ۶۷ مورد کارسینوم داکتال Nos، یک مورد کارسینوم لوبولار، ۲ مورد کارسینوم پاپیلری، یک مورد کارسینوم توبولار، یک مورد کارسینوم کریبریفرم و یک مورد کارسینوم مدولری بودند. ارتباط خوبی بین نتایج درجه‌بندی سیتولوژیک و هیستولوژیک وجود داشت و ۷۶/۷٪ از آنها درست درجه‌بندی شدند. درجه ارتباط (Concordance rate) در مطالعه حاضر برای تومورهای درجه ۱، ۲ و ۳، به ترتیب ۶۹/۲٪، ۸۵/۷٪ و ۶۱/۱٪ بود. از بین پارامترهای ارزیابی شده، تنها ۵ پارامتر (پلئومورفیسم، سایز هسته، سایز هسته برهنه، حاشیه هسته و شمارش میتوز) با درجه‌بندی هیستولوژیک ارتباط معنی‌دار داشتند و هستک، Cell-dispersion، cellularity و میزان تمایز توبولی، ارتباطی را نشان ندادند. اگر چه از تکروز برای درجه‌بندی استفاده نشد، ولی ارتباط معنی‌داری را نشان داد. بین درجه‌بندی سیتولوژیک و درگیری غده لنفاوی ارتباط معنی‌داری یافت نشد.

نتیجه‌گیری: در سالهای اخیر، پیشرفت‌های زیادی در زمینه سیتوپاتولوژی کارسینوم پستان بخصوص در انجام درجه‌بندی سیتولوژیک صورت گرفته است. این اطلاعات باید در انتخاب طرح درمانی قبل از عمل جراحی در نظر گرفته شوند تا از انجام درمان کورکورانه (Blind) پیشگیری شود. البته انجام مطالعات بیش‌تری همراه با پیگیری (follow-up) برای ارزیابی این شاخص‌های سیتولوژیک در درجه‌بندی کارسینوم‌های پستان روی نمونه‌های سیتولوژی الزامی است.

کلیدواژه‌ها: ۱- کارسینوم پستان ۲- درجه‌بندی سیتولوژیک ۳- درجه‌بندی هیستولوژیک

تاریخ دریافت: ۸۵/۲/۲۶، تاریخ پذیرش: ۸۵/۴/۲۴

I) استادیار و متخصص پاتولوژی، بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)، خیابان ستارخان، خیابان نیایش، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

II) دستیار پاتولوژی، بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)، خیابان ستارخان، خیابان نیایش، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران (\*مؤلف مسؤول).

## مقدمه

سرطان پستان، شایع‌ترین تومور بدخیم و عامل مهم مرگ ناشی از سرطان در زنان است. سالانه حدود یک میلیون زن در دنیا به این بیماری مبتلا می‌شوند.<sup>(۱)</sup> حدوداً از هر زنی که به سن ۹۰ سالگی می‌رسد، یک نفر به سرطان پستان مبتلا می‌شود.<sup>(۲)</sup>

با وجود تمام تلاش‌های درمانی و تشخیصی جدید، مرگ و میر ناشی از سرطان پستان از سال ۱۹۳۰ تا اوایل ۱۹۹۰ تغییر کمی کرده است. البته در برخی مناطق دنیا، مرگ و میر ناشی از سرطان پستان شروع به کاهش کرده است که علت آن، تشخیص زودرس و بهبود روش‌های درمان است.<sup>(۱)</sup> روش‌های تشخیصی متعددی برای سرطان پستان وجود دارد که اغلب مرحله به مرحله انجام شده و مکمل هم می‌باشند.

بعد از تشخیص بدخیمی، عوامل متعددی در تعیین پیش‌آگهی و رفتار تومور وجود دارند که براساس آنها می‌توان روش درمانی مناسب را انتخاب کرد. از مهم‌ترین این عوامل، درجه‌بندی (Grading) سرطان پستان می‌باشد که به طور متداول روی نمونه‌های بافت‌شناسی (Histology) انجام می‌شود. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که نمونه سیتولوژی علاوه بر نقش مهم آن در افتراق ضایعات خوش‌خیم از بدخیم، می‌تواند اطلاعات اضافی راجع به درجه‌بندی تومور ارائه دهد، که نتایج آن تا حد زیادی قابل مقایسه با نتایج بدست آمده از نمونه‌های بافت‌شناسی است.<sup>(۳، ۴)</sup>

توانایی پیش‌بینی درجه‌بندی (grade) تومور روی نمونه‌های سیتولوژی پستان، بخصوص در موارد انجام کموتراپی قبل از عمل (neoadjuvant) برای بیماران که خارج کردن تومور به طریقه جراحی (mastectomy) بهترین انتخاب نیست، بسیار کاربردی است. هرچه اطلاعات بدست آمده از نمونه‌های سیتولوژی کامل‌تر باشند، به جراح برای تصمیم‌گیری در مورد درمان و بهبود روند درمان بیمار کمک بیش‌تری می‌کنند.<sup>(۱)</sup> هدف کلی طرح، تعیین ارزش درجه‌بندی بر روی نمونه‌های

سیتولوژی بدست آمده از بیماران مبتلا به سرطان پستان است.

## روش بررسی

مطالعه به صورت مقطعی انجام گرفت، به این صورت که ابتدا از نمونه‌های بیوپسی باز از ضایعات پستان که به صورت تازه (fresh) برای انجام برش انجمادی به بخش آسیب‌شناسی فرستاده می‌شدند، به روش Touch Imprint یا Scraping، لام تهیه می‌شد. از هر نمونه، ۲ عدد لام تهیه شد که بعد از شماره‌گذاری و ثبوت (fixation) در اتانول، با دو روش پاپانیکولاو و H&E سریع (Rapid-Haematoxylin and eosin) رنگ‌آمیزی شدند.

لامها توسط پاتولوژیست بررسی شدند و لامهایی که تشخیص آنها بدخیمی بود، با معیارهایی که Khan مطرح کرده، درجه‌بندی شدند.<sup>(۵)</sup> بدین صورت که به ۶ پارامتر سایز هسته و سایز هسته برهنه (naked)، پلئومورفیسم، هستک، حاشیه هسته و میتوز، طبق معیارهای مطرح شده Khan در جدول شماره ۱، نمره (score) از ۱ تا ۳ داده شد.<sup>(۵)</sup> سپس این نمره‌ها با هم جمع شده و نمره‌های ۱۰-۶ به عنوان درجه ۱، ۱۴-۱۱ به عنوان درجه ۲ و ۱۸-۱۵ به عنوان درجه ۳ در نظر گرفته شدند.

برای میتوز در معیارهای Khan، تعریفی در نظر گرفته نشده بود ولی در مطالعه amoriquand، به شمارش میتوز ۳-۰ در اسلاید، نمره ۱، شمارش میتوز ۶-۳، نمره ۲ و به شمارش میتوز بیش از ۶، نمره ۳ تعلق گرفت که در مطالعه حاضر هم، از این روش برای شمارش میتوز استفاده شد.<sup>(۱)</sup>

از نمونه‌های بیوپسی باز بعد از ثبوت در فرمالین ۱۰٪ و مراحل آگیری، فرآوری بافت (Processing) و قالب‌گیری پارافینی، برشهایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه شد و با روش معمول رنگ‌آمیزی بافت (H&E)، رنگ شدند و بر روی آنها با سیستم Bloom-Richardson، درجه‌بندی (grading) انجام گرفت، سپس نتایج حاصل از درجه‌بندی سیتولوژی و هیستولوژی با هم مقایسه شدند.

جدول شماره ۱- شاخص‌های رایج شده توسط Khan برای

درجه‌بندی سیتولوژی نمونه‌های سرطان پستان<sup>(۵)</sup>

شاخص	نمره ۱	نمره ۲	نمره ۳
پلئومورفیسم	خفیف	متوسط	شدید
سایز هسته	> ۳ برابر RBC	۳-۵ برابر RBC	< ۵ برابر RBC
حاشیه هسته	منظم/صاف	نامنظم/چین‌خورده	نامنظم/اشیار عمقی/جوانه
هستک	ندارد	کوچک/واضح	بزرگ/متعدد
سایز هسته برهنه (Naked)	> ۳ برابر RBC	۳-۵ برابر RBC	< ۵ برابر RBC
میتوز	ندارد/خیلی کم	Frequent	فراوان

- کارسینوم مدولری: ۱ مورد

در درجه‌بندی هیستولوژیک، ۱۳ مورد (۱۷/۸٪) درجه ۱، ۴۲ مورد (۵۷/۵٪) درجه ۲ و ۱۸ مورد (۲۴/۷٪) درجه ۳ بودند. در درجه‌بندی سیتولوژیک، ۱۳ مورد (۱۷/۸٪) درجه ۱، ۴۶ مورد (۶۳٪) درجه ۲ و ۱۴ مورد (۱۹/۲٪) درجه ۳ بودند. جدول شماره ۲، ارتباط بین درجه‌بندی هیستولوژیک و سیتولوژیک را نشان می‌دهد که درجه ارتباط (Concordance-rate) در تومورهای درجه ۱، ۲ و ۳، به ترتیب ۶۹/۲٪، ۸۵/۷٪ و ۶۱/۱٪ بود.

جدول شماره ۲- ارتباط بین درجه‌بندی هیستولوژیک با درجه‌بندی

سیتولوژیک

تعداد کل	درجه‌بندی سیتولوژیک			درجه‌بندی هیستولوژیک
	۳	۲	۱	
۱۳	۰	۴	۹	۱
۴۲	۳	۳۶	۳	۲
۱۸	۱۱	۶	۱	۳
۷۳	۱۴	۴۶	۱۳	تعداد کل

( $P < 0.005$ )

تومورهای درجه ۲ (شکل شماره ۱ و ۲) بیش‌ترین ارتباط را نشان دادند، بطوری که از ۴۲ مورد تومورهای درجه ۲ هیستولوژیک، ۳۶ مورد درست درجه‌بندی شدند، ۳ مورد در گروه درجه ۱ و ۳ مورد در گروه درجه ۳ قرار گرفتند. کمترین ارتباط مربوط به تومورهای درجه ۳ (شکل شماره ۳) بود، طوری که از ۱۸ مورد درجه ۳، ۱۱ مورد درجه‌بندی سیتولوژیک معادل داشتند، ۶ مورد، درجه ۲ و یک مورد، درجه ۱ سیتولوژیک گرفتند. از ۱۳ مورد تومورهای درجه ۱ (شکل شماره ۴) هم، ۹ مورد درجه‌بندی سیتولوژیک معادل داشتند و ۴ مورد باقیمانده، درجه ۲ سیتولوژیک گرفتند. موارد توبولار کارسینوما و لوبولار کارسینوما هم در سیتولوژی و هم در هیستولوژی، درجه ۱ گرفتند و کارسینوم کریبریفرم هم در سیتولوژی و هیستولوژی، درجه ۲ گرفت.

آنالیز اطلاعات به وسیله تست آماری Chi-square انجام

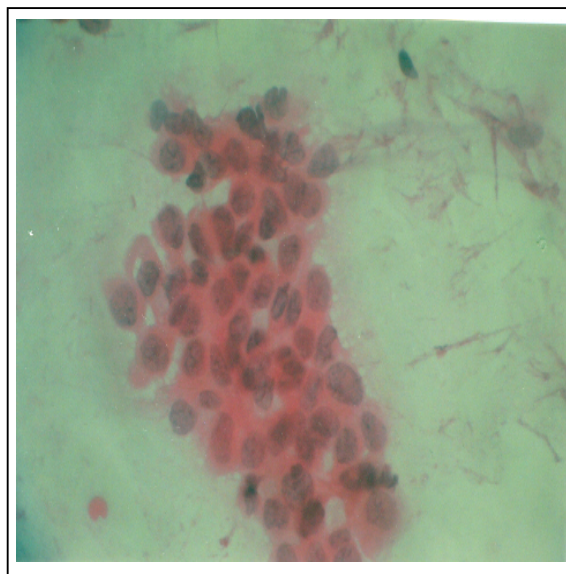
شد و درجه احتمال (P value) کمتر از ۰/۰۵، از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

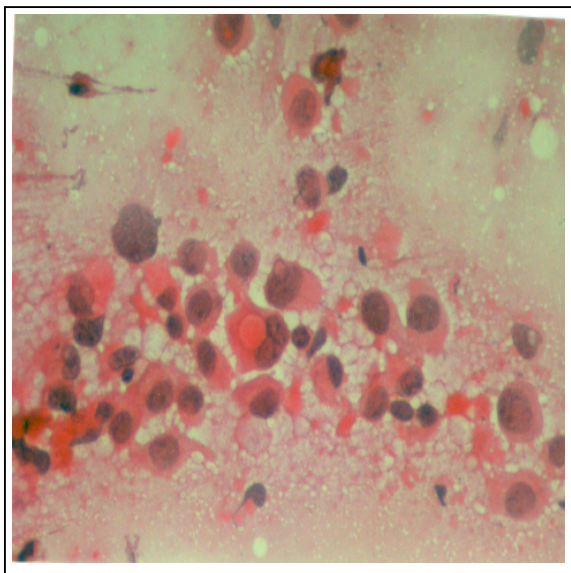
در مرحله اول، ۸۰ بیمار از افراد مراجعه کننده به بخش پاتولوژی بیمارستان حضرت رسول اکرم (ص) و میلاد که تحت بیوپسی از ضایعه پستان برای انجام برش انجمادی (frozen-section) قرار گرفته بودند و تشخیص نهایی آنها کارسینوم بود، در نظر گرفته شدند. ۷ نفر از این بیماران به دلایل زیر از مطالعه حذف شدند:

- ناکافی بودن نمونه سیتولوژی: ۲ مورد
- نامناسب بودن کیفیت اسلاید سیتولوژی مورد مطالعه: ۳ مورد
- تشخیص کارسینوم داکتال درجا (Intraductal carcinoma): ۲ مورد
- و در نهایت ۷۳ بیمار برای این مطالعه انتخاب شدند که براساس نوع (type) کارسینوم به شرح زیر بودند:
- کارسینوم داکتال Nos: ۶۷ مورد
- کارسینوم لوبولار مهاجم: ۱ مورد
- کارسینوم پاپیلری: ۲ مورد
- کارسینوم توبولار: ۱ مورد
- کارسینوم کریبریفرم: ۱ مورد

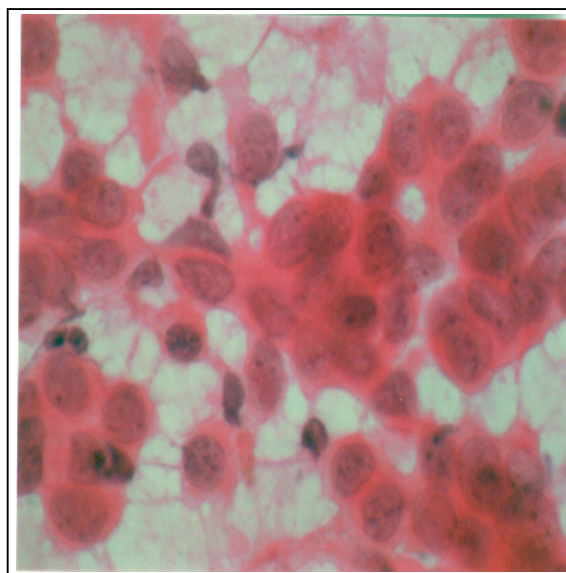
بودند از: پلئومورفیسیم، سایز هسته (Nuclear-size)، حاشیه هسته (Nuclear margin)، سایز هسته برهنه (Naked tumor) (nuclear size) و شمارش میتوز (Mitotic count) ولی وجود هستک در نمونه‌های سیتولوژی، ارتباط معنی‌داری با درجه‌بندی هیستولوژیک نداشت.



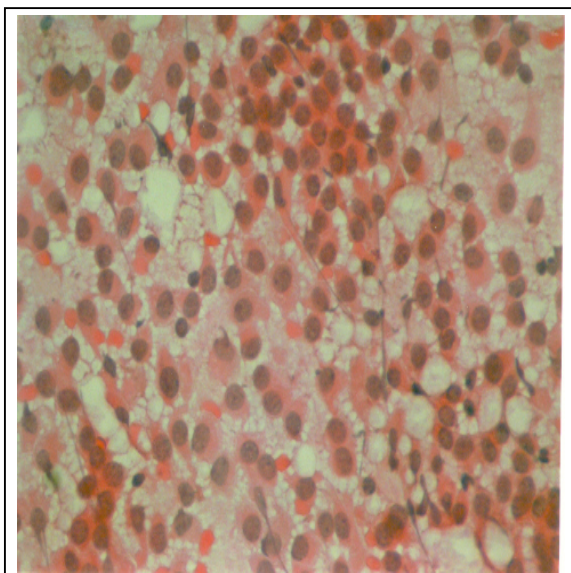
شکل شماره ۱- اسمیر سیتولوژی، کارسینوم داکتال NOS، درجه ۲ (رنگ‌آمیزی Rapid H&E)



شکل شماره ۳- اسمیر سیتولوژی، کارسینوم داکتال NOS، درجه ۳ (رنگ‌آمیزی Rapid H&E)



شکل شماره ۲- اسمیر سیتولوژی، کارسینوم داکتال NOS، درجه ۲ (رنگ‌آمیزی Rapid H&E)



شکل شماره ۴- اسمیر سیتولوژی، کارسینوم داکتال NOS، درجه ۱ (رنگ‌آمیزی Rapid H&E)

در کل، درجه‌بندی سیتولوژیک با درجه‌بندی هیستولوژیک انجام شده با استفاده از ۶ پارامتر ترکیبی، ارتباط معنی‌داری را با هم نشان دادند ( $P \text{ value} < 0.05$ ) اما از بین این پارامترها، فقط ۵ پارامتر سیتولوژیک از نظر آماری در پیش‌بینی درجه‌بندی هیستولوژیک به تنهایی معنی‌دار بودند که عبارت

نوع (type) هیستولوژیک تومور را مشخص کند؛ ولی علاوه بر تشخیص درست، یک درجه‌بندی سیتولوژیک درست هم بسیار مفید است و حتی شاید بتوان گفت که مهم‌ترین خدمتی است که یک سیتوپاتولوژیست می‌تواند به پزشک معالج ارائه دهد.<sup>(۵)</sup>

در مطالعه حاضر سعی بر این شد تا مشخص شود که آیا پارامترهای سیتولوژیک به تنهایی می‌توانند با قطعیت، درجه (grade) تومور را در کارسینوم‌های مهاجم پستان پیش‌بینی کنند؟ در این مطالعه، ۱۷/۸٪ کارسینوم‌ها، درجه I (Low-grade) و ۲۴/۷٪ درجه III (High-grade) بودند و بیش‌ترین تعداد مربوط به کارسینوم‌های درجه II (Intermediate grade) (۵۷/۵٪) بود که مطابق با مطالعات قبلی است.<sup>(۵، ۷ و ۸)</sup> ارتباط خوبی بین نتایج درجه‌بندی سیتولوژیک و هیستولوژیک وجود داشت و ۵۶ مورد از ۷۳ مورد، درست درجه‌بندی شده بودند (۷۶/۷٪)، که در مقایسه با مطالعات قبلی هم، نتایج تقریباً مشابه است.

در مطالعه Zoppi در سال ۱۹۹۷، با استفاده از معیارهای درجه‌بندی هسته‌ای Fisher که براساس پلئومورفیسم، سائز هسته و غشا هسته و هستک بود، میزان توافق، ۷۰/۳۷٪ بود و در مطالعه Dabbs-DJ با همین معیارهای درجه‌بندی هسته‌ای Fisher، توافق ۸۷٪ وجود داشت.<sup>(۹ و ۱۰)</sup> Moroz و همکاران در سال ۱۹۹۷، در مطالعه‌ای با استفاده از ۵ پارامتر (پلئومورفیسم، غشاء هسته، طرح کروماتین، هستک و میتوز) به درجه توافق ۸۲٪ رسیدند.<sup>(۷)</sup>

در مطالعه Khan، درجه ارتباط درجه‌بندی سیتولوژیک با هیستولوژیک در تومورهای درجه I (۱۰۰٪)، درجه II (۹۸٪) و درجه III (۹۳٪) ذکر شده است.<sup>(۵)</sup> در مطالعه حاضر درجه ارتباط برای تومورهای درجه I، ۲ و ۳، به ترتیب ۶۹/۲٪، ۸۵/۷٪ و ۶۱/۱٪ بود که نسبت به مطالعه Khan، این درصدها و ارتباط‌ها، پایین‌تر بود.

در بررسی مجدد لامها، علت کمتر تخمین‌زدن درجه‌بندی در مورد تومورهای درجه ۲ و ۳ شاید به این صورت قابل توجیه باشد که برخی از تومورها، قسمت‌های مختلف با درجه بالا (High-grade) و درجه پایین (Low-grade) دارند، در

از بین بقیه پارامترهای سیتومورفولوژیک (cytomorphologic) که ارزیابی شدند ولی در score نهایی سیتولوژی دخیل نشدند، تنها وجود نکروز در نمونه‌های سیتولوژی، ارتباط معنی‌داری را با درجه‌بندی هیستولوژیک نشان داد و cell-dispersion، cellularity و درجه تشکیل توپول از نظر آماری، ارتباط معنی‌داری نشان ندادند.

در بررسی‌های انجام شده از نظر درگیری غده لنفاوی و ارتباط آن با درجه‌بندی سیتولوژیک، ارتباط معنی‌دار آماری یافت نشد. از ۳۳ موردی که متاستاز غده لنفاوی داشتند، ۲۲ مورد آن مربوط به درجه ۲ سیتولوژیک، ۷ مورد مربوط به درجه ۳ و ۴ مورد مربوط به درجه ۱ بودند.

## بحث

درمان کارسینوم پستان وابسته به تعدادی از پارامترها است که از مهم‌ترین آنها، فاکتورهای تعیین پیش‌آگهی و رفتار تومور از نظر پاتولوژی و بیولوژی است. این فاکتورها فقط زمانی مشخص می‌شوند که تومور از بدن بیمار خارج شود، اما در بسیاری موارد، بیمار قبل از عمل جراحی و فقط با استناد به جواب FNA (Fine needle aspiration)، شیمی‌درمانی می‌شود که درصد بالایی از این تومورها به شیمی‌درمانی پاسخ داده و انجام درجه‌بندی (grading) هیستولوژیک بعد از درمان را غیر ممکن می‌سازند که این بخصوص در مورد تومورهای با درجه بالا (High-grade) صادق است، از طرفی اگر قبل از عمل جراحی، درجه (grade) تومور مشخص شود، ارزیابی پاسخ به درمان و همچنین انتخاب روش درمانی مناسب، آسان‌تر می‌شود.

با وجود تمام تلاشهایی که تاکنون صورت گرفته، هنوز یک سیستم مرجع و واحد برای درجه‌بندی سیتولوژیک نمونه‌های کارسینوم پستان که مورد قبول همگان باشد، ابداع نشده است و در حال حاضر انجام درجه‌بندی (grading) روی نمونه‌های سیتولوژی معمول نیست و نمونه‌های سیتولوژی فقط به صورت منفی، مثبت یا مشکوک گزارش می‌شوند و حداکثر اینکه سیتوپاتولوژیست سعی می‌کند

ولی بیان کرد که بررسی تمایز توبولی و شمارش میتوز در نمونه‌های سیتولوژی مشکل است که این دقیقاً معادل نظر Masood در مطالعه انجام شده در این زمینه است.<sup>(۴ و ۱۱)</sup>

Khan و همکاران نشان دادند که ارتباط آماری معنی‌داری بین درجه هیستولوژیک تومور با درجه سیتولوژیک براساس پلئومورفیسم، سایز هسته، حاشیه هسته، هستک، سایز هسته برهنه (naked) و شمارش میتوزی وجود دارد. نکروز و تهاجم استروما هم، ارتباط آماری معنی‌داری با درجه تومور داشتند ولی سلولاریته اسمیر، cell-dispersion و درجه تمایز توبولی، ارتباط معنی‌داری را با درجه تومور نشان ندادند.<sup>(۶)</sup> نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین درجه تومور برای پلئومورفیسم، سایز هسته، حاشیه هسته، سایز هسته برهنه (naked) و شمارش میتوزی وجود دارد. اگر چه از نکروز برای درجه‌بندی استفاده نشد، ولی ارتباط معنی‌داری را نشان داد. ارتباط آماری معنی‌داری برای هستک، cell-dispersion، سلولاریته و درجه تمایز توبولی وجود نداشت.

پلئومورفیسم سلولی، پارامتری است که در مطالعه حاضر دارای اهمیت است. این فاکتور در اصل همان تغییر مورفولوژیک سایز و شکل هسته‌ها است که وابسته به قضاوت پاتولوژیست است (Subjective) و با مقایسه سایز و شکل سلولهای مجاور با سیتوپلاسم دست‌نخورده (Intact) بدست می‌آید. در مطالعات قبلی انجام شده توسط New- Dabbs, Masood, Moroz, Zoppi, Khan, Robinson و NE Mouriouand هم، پلئومورفیسم یک پارامتر مفید بود.<sup>(۶-۹ و ۱۲-۱۳)</sup> در این مطالعه هم پلئومورفیسم به تنهایی ارتباط معنی‌دار مهمی با درجه سیتولوژیک تومور داشت. Pienta و Cofey نشان دادند که پلئومورفیسم سلولی که به طریقه مورفومتری اندازه‌گیری می‌شود، با افزایش درجه تهاجم تومور و متاستاز و در نتیجه پیش‌آگهی کارسینوم پستان ارتباط دارد.<sup>(۱۴)</sup> سایز هسته (Nuclear size) در این مطالعه به تنهایی

نتیجه اختلاف‌های مشاهده شده، به علت نمونه‌برداری (Sampling) از یک قسمت محدود تومور است که در نتیجه اسلاید سیتولوژی بدست آمده، گویای کل نمای تومور نبوده و این اشکال می‌تواند با نمونه‌برداری‌های متعدد و کامل از قسمت‌های مختلف تومور، برطرف شود.

Masood در یک بررسی در سال ۱۹۹۵ به این نتیجه رسید که چون تومورهای درجه ۱ و ۲ پیش‌آگهی تقریباً یکسانی دارند، بهتر است که این دو درجه را با هم ادغام کرده و تحت عنوان کلی Low-grade (درجه پایین) در نظر گرفته و تومورهای درجه ۳ را به عنوان High-grade (درجه بالا) مطرح کرد. بر طبق این درجه‌بندی دوتایی در مطالعه حاضر، درجه ارتباط درجه‌بندی سیتولوژیک با هیستولوژیک به ترتیب ۹۴/۵٪ و ۶۱/۱٪ برای تومورهای Low-grade و High-grade بود، بیش‌ترین خطا مربوط به گروه High-grade بود (۳۸/۸٪) که به اشتباه در گروه Low-grade قرار گرفته بود. این مسأله با همان تئوری نمونه‌برداری ناکامل قابل توجیه است. بنابراین اگر نمونه برداری صحیح باشد، با این روش درجه‌بندی دوتایی، درصد بالایی از تومورها، درجه‌بندی سیتولوژیک مشابهی با هیستولوژی دارند و نسبت به سیستم درجه‌بندی سه تایی خطاها کمتر می‌شود، چون دیگر خطاهای مربوط به تومورهای درجه ۱ در اینجا قابل اغماض هستند. درجه‌بندی سیتولوژیک کارسینوم‌های پستان از گذشته تا حال، موضوع بحث بسیاری را بخود اختصاص داده است.<sup>(۴ و ۹)</sup>

در حال حاضر آنچه مهم است این است که کدام یک از پارامترهای مورفولوژی سلولی برای درجه‌بندی کارسینوم‌های پستان در سیتولوژی بکار گرفته شوند. Robinson و همکاران نشان دادند که درجه‌بندی سیتولوژیک براساس سایز هستک، میزان یکنواخت بودن شکل سلولها (uniformity)، حاشیه هسته، طرح کروماتین، هستک و cell dissociation، ارتباط معنی‌داری با درجه‌بندی هیستولوژیک داشتند. از طرفی Robinson، حاشیه هسته و cell uniformity را به عنوان دو پارامتر مهم برای ارزشیابی میزان پلئومورفیسم در سیتولوژی متذکر شد

است. در برخی مطالعات قبلی از جمله مطالعه Moroz و Mouriquand، به اهمیت میتوز برای درجه‌بندی سیتولوژیک اشاره شده است<sup>(۱۲ و ۱۱)</sup> ولی نتایج متناقض در برخی مطالعات دیگر به چشم می‌خورد، بطوری که Masood و Robinson در دو مطالعه جداگانه به این نتیجه رسیدند که شمارش میتوز در نمونه‌های سیتولوژی مشکل است که علت آن را شکنده بودن سلولها و احتمال بقای کمتر سلولها در نمونه‌های اسمیر و بررسی تعداد کمتر سلولها در نمونه‌های سیتولوژی نسبت به هیستولوژی بیان کردند.<sup>(۱۱ و ۱۲)</sup> برای شمارش میتوز در سیتولوژی باید نمونه‌برداری کامل از تمام قسمتهای تومور انجام شود. از طرفی تعداد میتوز در Score های مختلف ۱، ۲ و ۳ در نمونه‌های سیتولوژی، در مطالعات معدودی ذکر شده است.<sup>(۱۲ و ۱۱)</sup> وجود هستک (nucleoli) به تنهایی در مطالعه حاضر، ارتباط معنی‌داری را با درجه‌بندی تومور نشان نداد. اما در برخی مطالعات قبلی توسط Khan، Zoppi، Dabbs، Moriquand و Masood، به عنوان شاخص معنی‌داری ذکر شده است.<sup>(۱۱ و ۹-۱۱)</sup> و حتی Moroz در مطالعه‌ای نشان داد که هستک و پلئومورفیسم، مهم‌ترین فاکتورهای افتراق دهنده تومورهای Low-grade از High-grade هستند. عدم ارتباط منطقی در مطالعه حاضر شاید به دلیل تأخیر در زمان انجام رنگ‌آمیزی باشد، چون اسلایدهایی که بلافاصله بعد از تهیه و فیکساسیون، رنگ‌آمیزی شدند، هستک‌ها را واضح‌تر نشان می‌دادند.

وجود نکروز برای انجام درجه‌بندی مناسب نیست ولی می‌تواند اطلاعات مهمی راجع به دیگر پارامترهای کارسینوم ارایه دهد. علت نامناسب بودن آن برای درجه‌بندی، خطای نمونه‌برداری است که ممکن است تمام قسمتهای تومور را شامل نشود. در این مطالعه وجود نکروز ارتباط مهم آماری با درجه‌بندی تومور نشان داد، بطوری که نکروز در تومورهای با درجه بالا، بیشتر وجود داشت.

میزان سلولاریته اسمیر، ارتباط معنی‌دار آماری با درجه‌بندی تومور نشان نداد که مطابق مطالعه Khan است.<sup>(۱۰)</sup> البته با توجه به اینکه برخی از لامها در مطالعه حاضر به طریقه Scraping تهیه شده‌اند، بنابراین سلولاریته، زیاد قابل

ارتباط آماری معنی‌داری با درجه‌بندی کارسینوم پستان داشت که مطابق با مطالعات قبلی توسط Khan، Robinson، Zoppi، Masood و Dabbs است.<sup>(۱۱ و ۹-۱۱)</sup> برای این منظور با توجه به اینکه سائز هسته در سیتولوژی، تحت تأثیر عواملی مثل نحوه تهیه اسمیر، فیکساسیون، خشک شدن در مجاورت هوا و تکنیک‌های رنگ‌آمیزی تغییر می‌کند، لذا جهت حذف این خطاها، سائز هسته با گویچه‌های قرمز یا هسته لنفوسیت‌های کناری که آنها هم در هنگام تهیه اسمیر در شرایط مشابهی بوده‌اند، مقایسه گردید.

سلولهای طبیعی، هسته‌های گرد و با کناره‌های منظم و صاف (Smooth) دارند، در حالی که سلولهای بدخیم، نامنظمی غشاء را نشان می‌دهند که درجه این نامنظمی بسته به نوع (type) و مرحله تمایز تومور، متفاوت است. وضعیت غشاء هسته (Nuclear margin) در مطالعه حاضر ارتباط مهمی با درجه‌بندی تومور نشان داد. هسته‌هایی که ارزیابی شدند در اصل هسته‌های سلولهای با سیتوپلاسم سالم (Intact) بودند و هسته‌های برهنه (naked)، به علت وجود نامنظمی کاذب ناشی از آرتیفکت (Artifact)، حذف شدند. در مطالعات Khan، Robinson، Moroz، Zoppi، Dabbs و Masood، این معیار ارزیابی شد و ارتباط معنی‌داری را با درجه‌بندی نشان داد.<sup>(۱۲ و ۹-۱۲)</sup>

سائز هسته‌های توموری برهنه (Naked tumor nuclei)، یک تظاهر سیتوپاتولوژیک مهم برای انجام درجه‌بندی کارسینوم‌های پستان است که قبلاً در مطالعه Khan و همکاران بررسی شده است. علت بوجود آمدن این هسته‌های توموری برهنه (naked)، وجود نسبت بالای هسته به سیتوپلاسم  $\left(\frac{N}{C} \text{ ratio}\right)$  است. با افزایش حجم هسته، کاهش در حجم سیتوپلاسم وجود دارد که در نهایت هسته بعد از ترومای مختصر مثلاً در هنگام انجام مراحل گسترش، به علت شکنده بودن سیتوپلاسم، خارج می‌شود.

فعالیت میتوزی (Mitotic-count)، یک شاخص مهم در درجه‌بندی هیستولوژیک است. اگر چه در مطالعه حاضر از نظر آماری، میتوز ارتباط معنی‌داری را با درجه تومور نشان داد ولی ارزیابی آن در لامهای سیتولوژی، بسیار مشکل

کارسینوم‌های پستان روی نمونه‌های سیتولوژی الزامی است.

#### تقدیر و تشکر

بدین وسیله از سرکار خانم دکتر سعادت مولانایی، متخصص پاتولوژی بیمارستان میلاد که نیمی از نمونه‌های لازم برای انجام این طرح را در اختیار قرار دادند، قدردانی و تشکر می‌شود.

#### فهرست منابع

1- Juan Rosai. Ackerman's surgical pathology. 9th ed. Philadelphia: Mosby; 2004. p. 1763-839.

2- Cotran, Kumar, Collins. Robbins pathologic basis of disease. 7th ed. Philadelphia: W.B Saunders; 2005. p. 1105.

3- Winifred Gray, Grace Mckee. Diagnostic cytopathology. 2nd ed. Oxford: churchill Livingstone; 2003. p. 237-55.

4- Antonio Robles-Frias, Diego marti nez-parra, Teresa Vazques-cerezuela, Ricardo Gonzalez-Campora, Maria Jose Robles-frias, Concepcion otal-salaverri, et al. Robinson cytologic grading of invasive ductal breast carcinoma. Acta cytol 2005; 49: 149-53.

5- M Z Khan, A Haleem, H Al Hassani, H Kfoury. Cytopathological grading as a predictor of histopathological grade in ductal carcinoma(Nos) of Breast on Air dried Diff-Quick Smears. Diagn cytopath 2003; 29: 185-93.

6- Moriquand J, Pasquier D. Fine needle aspiration of breast carcinoma: A preliminary cytoprognostic study. Actacytol 1980; 24(2): 153-9.

7- Dabbs DJ. Role of nuclear grading of Breast carcinoma in fine needle aspiration specimens. Acta cytol 1993; 37, 361-6.

8- Sneige N. Nuclear grading in fine needle aspirates of the breasts. Cytopathol Annu 1992; 2: 161-71.

9- Dabbs DJ, Silver man JF. Prognostic factor from the FNA: Breast carcinoma nuclear grade. Diagn cytopath 1994; 10: 203-8.

10- Zoppi JA, Pellicer EM, Sundblad AS. Cytologic correlation of nuclear grade in breast carcinoma. Actacytol 1997; 41: 701-4.

11- Shahla Massod. Prognostic factors in breast cancer. Diagn cytopath 1995; 13: 388-95.

ارزیابی و قضاوت نبود. Cell-dispersion در این مطالعه، ارتباط مهمی با درجه‌بندی نشان نداد که مطابق با مطالعه Khan است.<sup>(۵)</sup> میزان تمایز توبولی و درجه‌بندی تومور، ارتباط آماری مهمی را نشان ندادند. شاید علل آن مشکل بودن ارزیابی در نمونه‌های سیتولوژی و از طرفی نمونه‌برداری ناکامل باشد، چون یک تومور در قسمت‌های مختلف ممکن است درجه تمایز توبولی متفاوتی را نشان دهد، البته این نتیجه مطابق با مطالعات انجام شده توسط Masood و Robinson است.<sup>(۵ و ۱۱)</sup>

درجه سیتولوژیک تومور با متاستاز غده لنفاوی ارتباطی نشان نداد ( $Pvalue > 0.05$ ). از بین معیارهای ارزیابی شده در مطالعه حاضر، فقط سایز هسته و سایز هسته برهنه (naked) به تنهایی ارتباط آماری معنی‌داری را با متاستاز غده لنفاوی نشان دادند و بقیه معیارها از جمله پلئومورفیسم، حاشیه هسته، هستک، میتوز و cell-dispersion هیچ کدام ارتباطی را با متاستاز غده لنفاوی نشان ندادند. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۴، Robinson ارتباط بسیار خوبی را بین درجه‌بندی سیتولوژیک و متاستاز غده لنفاوی بیان کرد و از بین معیارهای بررسی شده، cell-dispersion، حاشیه هسته و cell-uniformity را به عنوان فاکتورهای مهمی ذکر کرد که هر کدام به تنهایی ارتباط مستقیم با متاستاز غده لنفاوی داشتند.<sup>(۴)</sup> Layfield در مطالعه‌ای نشان داد که طرح اسمیر (Smear-pattern) که به صورت عمدتاً سلولهای منفرد (Individual) باشد، ارتباط مستقیمی با افزایش متاستاز به غده لنفاوی دارد.<sup>(۱۵)</sup>

#### نتیجه‌گیری

به طور خلاصه در سالهای اخیر پیشرفت‌های زیادی در زمینه سیتوپاتولوژی کارسینوم پستان بخصوص در انجام درجه‌بندی سیتولوژیک صورت گرفته است. این اطلاعات باید در انتخاب طرح درمانی قبل از عمل جراحی در نظر گرفته شوند، تا از انجام درمان کورکورانه (Blind) پیشگیری شود. البته مطالعات بیشتری همراه با پی‌گیری (follow-up) برای ارزیابی این شاخص‌های سیتولوژیک در درجه‌بندی

12- Moroz K, Lips comb J. Cytologic nuclear grade of malignant breast aspirates as a predictor of histologic grade. *Actacytol* 1997; 41: 1107-11.

13- New NE, Howat AJ. Grading of breast carcinoma on FNA specimens(letter). *Acta Cytol* 1994; 38: 969-70.

14- Pienta KJ, Coffey DS. Correlation of nuclear morphometry with progressin of breast cancer. *Cancer* 1991; 68: 2012-16.

15- Lay field LJ, Robert ME, Cramer H, Guiuliano A. Aspiration biopsy smear pattern as a predictor of biologic behavior in Adeno carcinoma of the breast. *Acta Cytol* 1992; 36: 208-14.

## *Study of Cytologic Grading of Samples Obtained from Breast Carcinoma Cases Referred to Milad and Rasoul-e-Akram Hospitals between 2004 and 2005*

*M. Kadivar, MD* <sup>I</sup>      *\*N. Bozorgmehr, MD* <sup>II</sup>

### *Abstract*

**Background & Aim:** Breast carcinoma is the most common malignant tumor and the leading cause of death from carcinoma in women. Tumor grading is important as a prognostic factor in the treatment of patients and is routinely done on histologic specimens. Although breast cytology is a proven diagnostic technique in clinical practice, its use is frequently limited to establishing the benign or malignant character of a given lesion. However, a number of authors have shown that this method can provide additional information about tumor grading and its prognosis. The main objective of this study is to evaluate the importance of cytologic grading of breast carcinoma and its association with histologic grading.

**Material & Method:** In the present study, 73 samples of open biopsy for frozen section examination which were sent to the pathology department of Rasoul-e-Akram and Milad hospitals between 2004 and 2005 were selected. Touch-imprint or scraping was used to prepare smears which were then stained by pap and rapid H&E methods. The smears were evaluated based on the grading system described by Khan et al which takes 6 parameters into account: pleomorphism, nuclear size, nuclear margin, naked nuclear size, nucleoli and mitotic counts. Histologic samples were evaluated based on the Nottingham modification of the Bloom-Richardson system.

**Results:** The 73 cases included 67 ductal carcinoma NOS (Non-Otherwise Specified), 2 papillary, 1 tubular, 1 lobular, 1 medullary, and 1 cribriform. The concordance rate between cytologic and histologic grading was 76.7%, which is nearly identical to the past study results. The concordance rate for grade-I tumors was 69.2%, grade-II 85.7% and grade-III 61.1%. 5 out of 6 parameters including pleomorphism, nuclear size, naked nuclear size, nuclear margin, and mitotic counts were statistically significant ( $P$ -value < 0.05). Necrosis had a significant relation with histologic grading but was not used for scoring. Nucleoli, cell dispersion, cellularity, and tubule formation were not statistically significant. Also, there was no statistically significant correlation between cytologic grading and lymph node metastasis.

**Conclusion:** In summary, expertise and sophistication in breast cancer cytopathology and cytologic grading have developed significantly in recent years. This information should be assimilated into the pre-operative plan so that the biologic behavior of the tumor can be determined in order to avoid a blind therapeutic approach. Prospective follow-up studies are needed to evaluate these cytodagnostic criteria for cytologic grading of breast carcinoma.

**Key Words:** 1) Breast Carcinoma 2) Cytological Grading 3) Histological Grading

*I) Assistant Professor of Pathology, Rasoul-e-Akram Hospital, Niayesh St., Sattarkhan Ave., Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.*

*II) Resident of Pathology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran. (\*Corresponding Author)*