ارزیابی ارزش تشخیصی روش AgNOR در افتراق ضایعات خوش‌خیم از بدخیم در سیتولوژی ادرار

دکتر مژگان عسگری I
دکتر عباسعلی امیدی II
دکتر محمدهادی صادقیان III
*دکتر حمیدرضا هاشمیان IV

چکیده

این مطالعه مقطعی(cross sectional) به منظور بررسی ارزش تشخیصی روش AgNOR(Argyrophilic Nucleolar Organizer) در تمایز سلول‌های اوروتلیال غیرنئوپلاستیک از سلول‌های بدخیم در سیتولوژی ادرار به عنوان نشانه فعالیت تکثیری سلولی، انجام شد. در این مطالعه نقاط AgNOR که به روش نقره کلوییدی رنگ شده بود در سلول‌های اوروتلیال دفع شده در ادرار از نظر کمی ارزیابی شد. هفتاد و پنج بیمار شامل ٤٣ مورد از افراد فاقد بدخیمی اوروتلیال و ٣٢ مورد مبتلا به کارسینوم سلول ترانزیشنال(TCC) با درجات بدخیمی(G) متفاوت شامل ٦ مورد مبتلا به TCC با درجه بدخیمی I(G١)، ١٦ مورد با درجه بدخیمی II(G٢)، ٦ مورد با درجه بدخیمی III(G٣) و ٤ مورد با درجه بدخیمی IV(G٤) که تمام آن‌ها با روش استاندارد طلایی بیوپسی مثانه تأیید شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین شمارش نقاط AgNOR در هسته سلول‌های اوروتلیال در گروه‌های مختلف عبارت بود از: غیرنئوپلاستیک با میانگین ٣/١٩، TCC(G١) با میانگین ٣/٨٦، TCC(G٢) با میانگین ٤/٢٠ و TCC(G٣) با میانگین ٧/٤٤ و TCC(G٤) با میانگین ٨/٣٤. با توجه به نتایج به دست آمده میانگین شمارش نقاط AgNOR در هسته سلول‌های اوروتلیال افزایش مرحله به مرحله‌ای را از موارد غیرنئوپلاستیک تا TCC با درجات بدخیمی بالا نشان داد. مقایسه گروه‌ها با آزمون Oneway ANOVA و Post Hoc به روش Scheffe صورت گرفت که میانگین اختلاف‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود($P<0/0001$). بیش‌ترین اختلاف بین موارد فاقد بدخیمی با بیماران دارای TCC با درجه بدخیمی ٣ و ٤ و نیز بین موارد TCC با درجه بدخیمی I(G١) با G٣ و G٤ و بین TCC با درجه بدخیمی II(G٢) با این ٢ گروه مشاهده شد. از سوی دیگر کم‌ترین اختلاف بین موارد بدون نئوپلاسم و بیماران مبتلا به TCC با G١ و نیز بین بیماران مبتلا به TCC با درجه بدخیمی ٣ و ٤ وجود داشت. میانگین حداکثر تعداد نقاط AgNOR نیز نتایج مشابهی را در هر گروه نشان داد. هدف از این بررسی ارزیابی AgNOR به عنوان روشی با ویژگی زیاد و حساسیت کم‌تر، ارزان و ساده برای افتراق ضایعات خوش‌خیم از بدخیم در سیتولوژی ادرار بوده است.

کلیدواژه‌ها: ١ – سیتولوژی ادرار ٢ – کارسینوم سلول ترانزیشنال ٣ – AgNOR

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان نامه دکتر حمیدرضا هاشمیان جهت دریافت درجه دکترای تخصصی آسیب‌شناسی به راهنمایی دکتر مژگان عسگری و مشاوره دکتر عباسعلی امیدی و دکتر محمدهادی صادقیان.

I) استادیار آسیب‌شناسی، بیمارستان هاشمی‌نژاد، دانشده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران.
II) دانشیار آسیب‌شناسی، بیمارستان قائم(عج)، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی مشهد.
III) استادیار آسیب‌شناسی، بیمارستان قائم(عج)، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی مشهد.
IV) دستیار آسیب‌شناسی، بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)، خیابان ستارخان، نیایش، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران(*مولف مسئول)

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

مقدمه

سلول‌های اوروتلیال در تمام نمونه‌های ادراری دیده می‌شود. این سلول‌ها به راحتی از سطح تومورهای پوشش اوروتلیال کنده می‌شوند بنابراین سیتولوژی ادرار روشی اولیه و بسیار مهم برای تشخیص تومورهای ادراری می‌باشد که با سیستوسکوپی و بیوپسی تکمیل می‌شود.

از این روش به عنوان وسیله‌ای برای تشخیص، پی‌گیری و غربال‌گری در بیماران دارای علامت به خصوص خون شاشی، بیماران با سابقه تومورهای ادراری درمان شده و افراد در معرض پیدایش سرطان‌های ادراری به خصوص کارگران صنعتی استفاده می‌شود.

کارگران صنایع که در تماس با کادمیوم، رنگ‌های آنیلینی و غیره هستند، هم‌چنین معتادان به تریاک و مورفین و مبتلایان به شیستوزومیازیس بیش‌ترین سود را از این روش می‌برند(۱).

تشخیص سیتولوژیک ضایعات اوروتلیال نئوپلاستیک در حال حاضر مشکل است زیرا از یک سو سلول‌های اوروتلیال طبیعی تغییرات ریخت‌شناسی زیادی را از خود نشان می‌دهند و تمایل به تشکیل تجمعات سلولی دارند و به علت پولی‌پلوییدی و بزرگی هسته یا چندهسته‌ای بودن مشکل تشخیصی ایجاد می‌کنند و از سوی دیگر ضایعات نئوپلاستیک پاپیلاری با درجه بدخیمی پایین در سیتولوژی ادرار تغییرات بسیار اندکی نسبت به حالت طبیعی دارند، به همین دلیل تشخیص این گروه از ضایعات نئوپلاستیک اوروتلیال براساس سیتولوژی خیلی قابل اعتماد نیست(۲).

استفاده از روش‌های کمکی برای دست یافتن به این مقصود سال‌هاست که تحت بررسی بوده و هر روز روش‌های جدیدتری مطرح می‌شود.

بررسی محتوای DNA با روش فلوسیتومتری یا دانسیتومتری تصویری، ایمونوهیستوشیمی و بررسی شاخص‌های سرطانی، بررسی شاخص‌های تکثیری نظیر Ki۶۷، PCNA و در نهایت مورفومتری سلولی از جمله این روش‌ها هستند که ابداع و تنوع آن‌ها خود گویای عدم اعتماد به یک روش به تنهایی، جهت تشخیص سلول‌های بدخیم به خصوص اوروتلیال با درجه بدخیمی پایین می‌باشد(۶-۳).

یکی از روش‌های کمکی در تشخیص سلول‌های بدخیم، بررسی میزان تکثیر سلولی با استفاده از تکنیک AgNOR (Argyrophilic Nucleolar Organizer Region) است که به عنوان روشی آسان، در دست‌رس و ارزان در موارد مختلف بررسی‌های بافتی و سلولی مورد استفاده قرار گرفته است(۱۰-۷). با توجه به این مطلب در این مطالعه سعی شد تا از روش ذکر شده به عنوان روش کمکی برای سیتولوژی ادرار استفاده گردد.

NORs مناطقی از کروماتین هسته‌ای می باشد که هستک ناپدید شده در جریان میتوز سلولی، در انتهای مرحله تلوفاز در اطراف آن تشکیل می‌شود(۱۱و ۱۲). در انسان NORs روی بازوی کوتاه کروموزوم‌های اکروسانتریک یعنی کروموزوم‌های ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۱و ۲۲ قرار دارد(۱۳و ۱۴). با استفاده از روش هیبریداسیون درجا نشان داده شده که NORs حاوی ژن‌هایی است که RNA ریبوزومی را کد می‌کنند و از آن جا که مولکول‌های RNA محل اصلی ساخته شدن پروتئین می‌باشد، این تصور وجود دارد که تعداد و ویژگی‌های NORs ممکن است نشان دهنده فعالیت هسته‌ای و سلولی باشد(۱۱، ۱۳و ۱۴). NORs به طور واضح و سریع توسط رنگ‌آمیزی نیترات نقره با اسید فرمیک و آمونیاک رنگ می‌گیرد(۱۱و ۱۲).

رنگ‌پذیری NOR با نقره به دلیل وجود پروتئین‌های اسیدی نقره دوست به خصوص پروتئین اصلی NORs یعنی C۲۳ یا نوکلئولین و B۲۳ یا نماترین می‌باشد(۱۳).

اولین بار پلوتون و همکارانش روش AgNOR را برای بلوک‌های پارافینی با بافت ثابت شده در فرمالین ابداع کردند(۱۱و ۱۵) سپس کروکر کاربرد این روش را در تشخیص آسیب‌شناسی تومورها گزارش کرد(۹و ۱۰).

روش بررسی

در این مطالعه مقطعی(cross sectional) برای تعیین ارزش تشخیصی AgNOR در سیتولوژی ادرار

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

۷۵ نمونه ادرار از نمونه‌های ارسالی به بخش‌های آسیب‌شناسی بیمارستان‌های هاشمی نژاد تهران، قائم(عج) مشهد و نمازی شیراز مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار بدین ترتیب بود که در ابتدا گستره تهیه شده به روش معمولی یا روش پاپانیکولائو و AgNOR رنگ‌آمیزی می‌شد سپس نمونه‌های سیتولوژی رنگ شده با پاپانیکولائو توسط آسیب‌شناس هر مرکز مشاهده و گزارش می‌گردید.

گسترده‌های رنگ شده با AgNOR توسط مؤلف و آسیب‌شناس همکار به صورت دوسویه‌کور (double blind) مورد ارزیابی قرار می گرفت. نمونه‌های بیوپسی بیماران نیز در هر مرکز توسط آسیب‌شناس آن مرکز بررسی می‌شد.

در نهایت نتایج سیتولوژی و بررسی بافت‌ها و گسترده‌های AgNOR با یکدیگر مقایسه شد و گزارش‌های سیتولوژی به ۳ فرم مثبت، منفی و مشکوک(جهت بدخیمی) و گزارش‌های آسیب‌شناسی براساس سیستم درجه‌بندی ٤ مرحله‌ای اعلام گردید.

ـ روش رنگ‌آمیزی AgNOR: ۱- گستره‌ها پس از تهیه و خشک شدن توسط اتانول °۹٦، به طور مجدد ثابت می‌شدند ۲- محلول رنگ‌آمیزی AgNOR تازه تهیه شده، روی لام‌ها ریخته می‌شد ۳- لام‌ها به مدت ٤۰ دقیقه در انکوباتور با دمای °۳۷ در تاریکی نگه‌داری می‌گردید ٤- تمام لام‌ها با آب مقطر ۳ بار تقطیر شده، شستشو داده می‌شدند(بین ۳ تا ٥ بار و هر بار حداقل ٥ دقیقه) ٥- هر یک از لام‌ها به مدت ۲ دقیقه در الکل °۷۰ و °۹٦ و مطلق فرو برده می‌شد ٦- لام‌ها پس از خشک شدن در هوا مونته شده و برچسب‌گذاری می‌شدند.

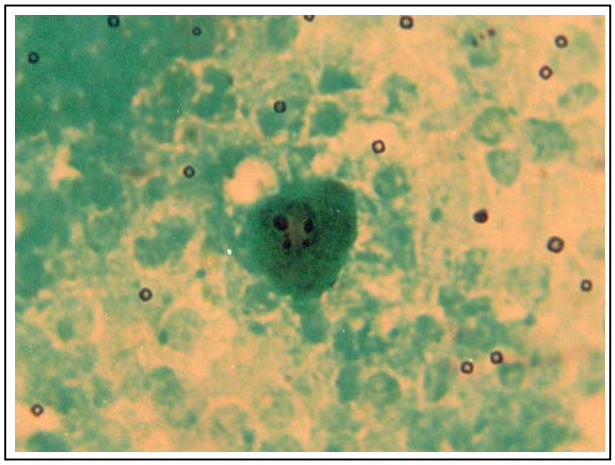
توجه: تمام ظرف‌های به کار برده شده کاملاً تمیز بوده و پس از شستشو با اسید، با آب مقطر ۳ بار تقطیر شده آبکشی می‌گردیدند.

ـ طرز تهیه محلول رنگ‌آمیزی AgNOR: ۱- ٥۰ گرم نیترات نقره در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل می‌شد ۲- دو گرم پودر ژلاتین در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با حرارت ملایم حل شده سپس ۱ میلی‌لیتر اسید فرمیک غلیظ به آن اضافه می‌گردید ۳- ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول مرحله(۱) با ٥۰ میلی‌لیتر از محلول مرحله(۲) مخلوط شده و روی اسلایدها ریخته می‌شد.

در این مطالعه ۱۰۰ سلول اوروتلیال در هر گستره و در صورت کم‌تر بودن از این تعداد در هر گستره، حداکثر سلول‌های قابل بررسی با درشت‌نمایی ۱۰۰۰× با روغن ایمرسیون مورد ارزیابی قرار گرفت و تعداد نقاط AgNOR در هسته سلول‌های اوروتلیال(نقاط تیره رنگ درون هسته به رنگ قهوه‌ای پر رنگ که به طور مشخص و جداگانه از یکدیگر دیده می‌شوند) شمرده شدند(تصویرهای شماره ۱و ۲).

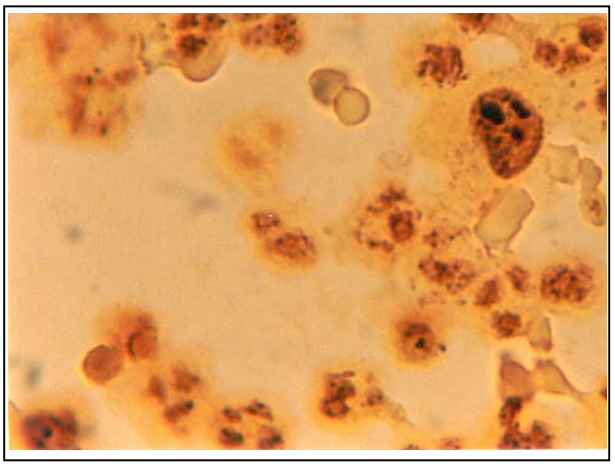
در تحلیل نتایج از شاخص‌های مرکزی میانگین و انحراف معیار و جهت مقایسه آن‌ها بین گروه‌ها از t studen's test و آزمون ANOVA یک طرفه استفاده شد.

ذکر این نکته لازم است که در طول تحقیق پای‌بندی به اصول اخلاقی اعلامیه هلسینکی از سوی محققان رعایت شد.



تصویر شماره ۱- نقاط AgNOR در هسته سلول اوروتلیال بدخیم با درجه بدخیمی پایین

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]



تصویر شماره ۲- نقاط AgNOR در هسته سلول اوروتلیال بدخیم، درجه بدخیمی بالا

نتایج

از ۷۵ بیمار مورد بررسی ۴۳ نفر فاقد ضایعه نئوپلاستیک در مثانه و ۳۲ مورد مبتلا به کارسینوم سلول ترانزیشنال براساس نتایج حاصل از بررسی آسیب‌شناسی بیوپسی مثانه بودند. از این تعداد ۶ مورد TCC(کارسینوم سلول ترانزیشنال) با درجه بدخیمی I(G۱)، ۱۶ مورد با درجه بدخیمی II(G۲)، ۶ مورد با درجه بدخیمی III(G۳) و ۴ مورد با درجه بدخیمی IV(G٤) داشتند. نتایج حاصل از شمارش نقاط AgNOR در ۲ گروه مبتلا به بدخیمی و فاقد ضایعه نئوپلاستیک(جدول شماره ۱) عبارت بود از:

میانگین شمارش AgNOR: ۲/۰۲±۵/۲۶ و ۱/۶۹±۳/۱۹(P=۰/۰۸۵). میانگین حداکثر نقاط AgNOR: ۷/۱۹±۱۳/۹٤ و ۳/۱±۷/۰۵ (P<۰/۰۰۰۱).

جدول شماره ۱- مقایسه ۲ گروه مبتلا به TCC در بیوپسی مثانه و فاقد بدخیمی براساس شاخص‌های حاصل از شمارش AgNOR

	گروه	تعداد	میانگین	انحراف معیار(SD)
شمارش AgNOR	دارای بدخیمی	۳۲	۵/۲۶	۲/۰۲
	فاقد بدخیمی	٤۳	۳/۱۹	۱/۶۹
حداکثر AgNOR	دارای بدخیمی	۳۲	۱۳/۹٤	۷/۱۹
	فاقد بدخیمی	٤۳	۷/۰۵	۳/۱۰

نتایج حاصل از همین بررسی در گروه مبتلا به بدخیمی در بین درجات مختلف بدخیمی نیز(جدول شماره ۲) عبارت بود از: میانگین تعداد نقاط AgNOR در درجات بدخیمی ۱ تا ٤(G۱ تا G٤) به ترتیب ۰/۳۱±۳/۸۵، ۰/۷۸±٤/۲، ۱/۷±۷/٤ و ۱/٤۲±۸/۳٤ و میانگین حداکثر نقاط AgNOR در درجات بدخیمی ۱ تا ٤(G۱ تا G٤) به ترتیب ۱/۷±۱۰/۳۳، ۵/۰۱±۱۰/۵۶، ۵/۶۷±۱۹/۸۳ و ۷/۶۶±۲٤ بود.

با آزمون Oneway ANOVA در مورد هر دو شاخص اختلاف معنی‌داری در حد کم‌تر از ۰/۰۰۰۱ در بین گروه‌ها مشاهده شد. آزمون Post Hoc به روش Scheffe روی اطلاعات حاصل از شمارش AgNOR در مورد گروه فاقد بدخیمی و افراد مبتلا به TCC با درجات مختلف بدخیمی انجام شد که نتایج به دست آمده عبارت بود از: ۱- زمانی که میانگین تعداد نقاط AgNOR در هسته به عنوان متغیر در نظر گرفته شد اختلاف معنی‌داری در حد کم‌تر از ۰/۰۰۰۱ بین گروه فاقد بدخیمی(G۰) و گروه مبتلا به TCC با G۳ و G٤ و نیز بین گروه مبتلا به TCC با درجه G۱ و

جدول شماره ۲- مقایسه گروه‌های فاقد نئوپلاسم و مبتلا به TCC با درجات بدخیمی متفاوت(G۱ تا G۲)

	متوسط تعداد سلول مورد شمارش AgNOR میانگین ± انحراف معیار	متوسط حداکثر تعداد AgNOR میانگین ± انحراف معیار
افراد طبیعی	۳۸/۷٤ ± ۲٤/۹۱	۷/۰٤ ± ۳/۱
کارسینوم با درجه بدخیمی ۱	۵۵/۸۳ ± ۲۲/۹۳	۱۰/۳۳ ± ۱/۷
کارسینوم با درجه بدخیمی ۲	۵۲/۵۰ ± ۳٤/٤۸	۱۰/۵۶ ± ۵/۰۱
کارسینوم با درجه بدخیمی ۳	۶۵/۵۰ ± ۳۷/۵۸	۱۹/۸۳ ± ۵/۶۷
کارسینوم با درجه بدخیمی ٤	۷۱/۷۵ ± ۳٤/۱۸	۲٤ ± ۷/۶۶
کل	٤۶/۹۵ ± ۲۹/۶۱	۹/۹۹ ± ۶/۲٤

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

G۳ و G٤ و بین گروه مبتلا به TCC با درجه G۲ با گروه G۳ و G٤ دیده شد(جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳- آزمون Post Hoc(Scheffe) جهت مقایسه گروه‌های فاقد بدخیمی(G۰) و مبتلا به TCC با درجات مختلف بدخیمی(G۱ تا G٤) براساس میانگین حداکثر تعداد نقاط AgNOR در هسته

تشخیص آسیب‌شناسی براساس بیوپسی مثانه	گروه‌بندی براساس‌تشخیص	Pvalue
گروه G۰= افراد فاقد بدخیمی	G۱	۰/٤٥۱
	G۲	۰/۰۰٦
	G۳	۰/۰۰۰
	G٤	۰/۰۰۰
گروه G۱= افراد دارای کارسینوم با درجه بدخیمی ۱	G۰	۰/٤٥
	G۲	۰/۹۷۹
	G۳	۰/۰۰۳
	G٤	۰/۰۰۰
گروه G۲= افراد دارای کارسینوم با درجه بدخیمی ۲	G۰	۰/۰۰٦
	G۱	۰/۹۷۹
	G۳	۰/۰۰۲
	G٤	۰/۰۰۰
گروه G۳= افراد دارای کارسینوم با درجه بدخیمی ۳	G۰	۰/۰۰۰
	G۱	۰/۰۰۳
	G۲	۰/۰۰۲
	G٤	۰/٦۰٦
گروه G٤= افراد دارای کارسینوم با درجه بدخیمی ٤	G۰	۰/۰۰۰
	G۱	۰/۰۰۰
	G۲	۰/۰۰۰
	G۳	۰/٦۰٦

۲- زمانی که میانگین حداکثر نقاط AgNOR در هسته به عنوان متغیر در نظر گرفته شد اختلاف معنی‌داری در حد کم‌تر از ۰/۰۰۳ به طور مشابه در بین گروه‌های فوق مشاهده گردید. علاوه بر آن اختلاف معنی‌داری در حد ۰/۰۰٦ بین گروه G۰ با گروه مبتلا به TCC با درجه G۲ و نیز بین گروه مبتلا به TCC با درجه G۱ و G۳(P=۰/۰۰۲) مشاهده شد(جدول شماره ٤) ۳- مقادیر P اختلاف معنی‌داری را براساس هر دو متغیر میانگین تعداد نقاط و میانگین حداکثر نقاط AgNOR در آزمون Post HOC بین گروه G۰ با G۱ و G۱ با G۲ و G۳ با G٤ نشان نداد و تنها این اختلاف هدایت‌گر بود.

جدول شماره ۴- آزمون Post HOC(Scheffe) جهت مقایسه گروه‌های فاقد بدخیمی(G۰) و مبتلا به TCC با درجات بدخیمی متفاوت (G۱ تا G٤) براساس میانگین تعداد نقاط AgNOR

بررسی آسیب‌شناسی روی بیوپسی مثانه	گروه‌بندی براساس‌تشخیص	Pvalue
گروه G۰= افراد فاقد بدخیمی	G۱	۰/۸۹۸
	G۲	۰/۲۵۰
	G۳	<۰/۰۰۰۱
	G٤	<۰/۰۰۰۱
گروه G۱= افراد دارای کارسینوم با درجه بدخیمی ۱	G۰	۰/۸۹۸
	G۲	۰/۹۹۳
	G۳	۰/۰۰۳
	G٤	۰/۰۰۱
گروه G۲= افراد دارای کارسینوم با درجه بدخیمی ۲	G۰	۰/۲۵۰
	G۱	۰/۹۹۳
	G۳	۰/۰۰۱
	G٤	<۰/۰۰۰۱
گروه G۳= افراد دارای کارسینوم با درجه بدخیمی ۳	G۰	<۰/۰۰۰۱
	G۱	۰/۰۰۳
	G۲	<۰/۰۰۱
	G٤	۰/۹۲٤
گروه G٤= افراد دارای کارسینوم با درجه بدخیمی ٤	G۰	<۰/۰۰۰۱
	G۱	<۰/۰۰۱
	G۲	<۰/۰۰۰۱
	G۳	۰/۹۲٤

بحث

مقایسه نتایج حاصل از این بررسی با تنها بررسی مشابه که توسط محققان ژاپنی با سیستم پردازش تصویری(CAS) انجام شده بود، نتایج مشابهی را نشان داد. این گروه از محققان ارتباط آماری قابل توجهی را بین شمارش AgNOR سلول‌های اوروتلیال با ضایعات خوش‌خیم و سلول‌های بدخیم در کارسینوم سلول ترازیشنال با درجات مختلف بدخیمی(P<۰/۰۱) و یک افزایش مرحله به مرحله را در میانگین تعداد نقاط AgNOR در موارد اورولوژیک غیرعفونی خوش‌خیم (۰/٦±۳/۳۳=انحراف معیار ± میانگین) با بیماری‌های اورولوژیک عفونی(۰/۵۸±۳/۸۸)، TCC با G۱(۱/۳۹±۵/۲۳)، TCCبا G۲(۰/۸٦±٦/۳٤) و در نهایت TCC با G۳(۱/۱۹±۸/۰۹) نشان داد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

تغییرات مشابهی نیز بین میزان شمارش حداکثر نقاط AgNOR در موارد فوق دیده شد(۱۶).

هدف اصلی این تحقیق پاسخ‌گویی به این سؤال بود که آیا تکنیک AgNOR در بررسی سیتولوژی ادرار جهت افتراق ضایعات خوش‌خیم از بدخیم با ارزش است یا خیر؟ و نیز سؤالات اختصاصی‌تر که کدام یک از شاخص‌های حاصل از شمارش AgNOR در هسته سلول‌های اوروتلیال جهت این افتراق با ارزش می‌باشد. به طور کلی مقایسه ۲ گروه بدون بدخیمی مثانه و مبتلا به کارسینوم سلول ترانزیشنال توسط هر یک از شاخص‌های AgNOR یعنی میانگین تعداد نقاط AgNOR، میانگین حداکثر نقاط AgNOR و تعداد سلول‌های قابل شمارش اوروتلیال اختلاف معنی‌داری را نشان داد که بیان کننده ارزش هر یک از شاخص‌های AgNOR در افتراق موارد خوش‌خیم از بدخیم در مثانه می‌باشد. مقایسه بین گروه‌های مختلف یعنی افراد فاقد بدخیمی مثانه و مبتلا به کارسینوم سلول ترانزیشنال با درجات مختلف بدخیمی از درجه بدخیمی ۱ تا ٤، نشان‌دهنده افزایش مرحله به مرحله در شاخص‌های AgNOR یعنی میانگین تعداد نقاط AgNOR، میانگین حداکثر نقاط AgNOR و تعداد سلول‌های قابل شمارش اوروتلیال در افراد فاقد نئوپلاسم و افراد مبتلا به کارسینوم سلول ترانزیشنال با درجه بدخیمی ٤ بود که این اطلاعات هم‌پوشانی زیادی را بین گروه‌ها نشان می‌دهد.

نتایج آزمون‌های آماری دقیق‌تر اختلاف آماری مشخصی را در تمام شاخص‌های AgNOR در گروه‌ها نشان داد که با ارزیابی درون گروهی، اختلاف معنی‌دار آماری در بین افراد فاقد بدخیمی با افراد مبتلا به کارسینوم سلول ترانزیشنال با درجه بدخیمی بالا (درجه ۳ و ٤) و بین افراد مبتلا به کارسینوم سلول ترانزیشنال با درجه بدخیمی پایین با افراد مبتلا به کارسینوم با درجه بدخیمی بالا مشاهده شد. شاخص‌های AgNOR نیز مانند سیتولوژی به تنهایی جهت افتراق کارسینوم سلول ترانزیشنال با درجه بدخیمی ۱ از موارد فاقد بدخیمی و نیز جهت افتراق کارسینوم سلول ترانزیشنال با درجه بدخیمی ۳ و ٤ توانایی زیادی ندارد و اختلاف بین این گروه‌ها تنها کمک کننده بوده و فاقد ارزش آماری است. در نهایت باید گفت که بهتر است کارسینوم سلول ترانزیشنال را به ۲ گروه بزرگ با درجه بدخیمی پایین و درجه بدخیمی بالا تقسیم کرد، همان‌طور که در مورد سیتولوژی نیز این گونه عمل می‌شود و عده زیادی از صاحب‌نظران از این روش برای درجه‌بندی بدخیمی کارسینوم سلول ترانزیشنال استفاده می‌کنند.

روش AgNOR روشی اختصاصی در تعیین بدخیمی است یعنی در صورت بالا بودن میانگین شمارش نقاط یا حداکثر تعداد نقاط در یک گستره می‌توان با احتمال بسیار بالایی از مثبت بودن در رابطه با بدخیمی در آن گستره اطمینان داشت اما روش حساسی نیست زیرا توانایی افتراق موارد فاقد بدخیمی را از موارد بدخیمی با درجه بدخیمی پایین ندارد. به عبارت دیگر با میانگین پایین شمارش نقاط AgNOR یا پایین بودن حداکثر تعداد نقاط در یک گستره نمی‌توان بدخیمی را رد یا ثابت کرد.

در نهایت می‌توان گفت که AgNOR روشی ساده، ارزان و در دسترس است که در هر آزمایشگاهی قابل انجام بوده و نیاز به مهارت خاصی ندارد و می‌تواند روشی کمکی برای تشخیص موارد خوش‌خیم از ضایعات بدخیم در سیتولوژی ادرار و کمکی برای درجه‌بندی موارد بدخیم در سیتولوژی باشد و نسبت به روش‌هایی مانند ایمونوهیستوشیمی برای شاخص‌های سرطانی، بررسی فلوسیتومتری و تجزیه DNA و غیره بسیار ساده‌تر و ارزان‌تر می‌باشد. از سوی دیگر این روش در همراهی با سیستم پردازش تصویر هوشمند و تجهیزات مکانیکی خوانش گستره‌های ادراری و حتی تهیه خودکار گستره ادراری و رنگ‌آمیزی خودکار می‌تواند به عنوان روشی خودکار برای تفسیر سیتولوژی ادرار جهت تعیین خوش‌خیمی و درجه‌بندی بدخیمی استفاده گردد.

این مسئله باید مورد بررسی قرار گیرد که آیا AgNOR می‌تواند به عنوان یک فاکتور پیش‌آگهی دهنده مستقل در تومورهای مثانه عمل کند یا خیر؟ و این که آیا تعیین Cut of Point با روش‌های آماری برای تعیین مرز

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

خوش‌خیمی از بدخیمی و منطقه خاکستری یا gray zone مناسب بوده و به این روش جنبه عملی‌تری می‌دهد؟

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از زحمات استاد گرامی آقای دکتر کومار جهت ارسال نمونه‌های سیتولوژی ادرار از شیراز، سرکار خانم شبرنگ، سرکار خانم گلدار و سرکار خانم رضائیان به علت مساعدت در تهیه اسمیرها، رنگ‌آمیزی AgNOR و پاپانیکولائو و تهیه لام‌های بیوپسی تشکر و قدردانی می‌گردد. هم‌چنین از سرکار خانم دکتر نجومی نیز به خاطر راهنمایی‌های ارزنده‌شان در مباحث آماری بی‌نهایت سپاس‌گزاریم.

منابع

1- Bibbo M. Comprehensive. 2 nd ed., Philadelphia, WB Saunders, 1997, PP: 445-475.

2- Koss LG. Diagenostic cytology and its Histopathologic Basis. Vol 2, 5 th ed, Philadelphia, JB Lippincott, 1996, PP: 934-1018.

3- Pich A., Chuisa L., Comino A., Navone R. Cell proliferation indices, morphometry and DNA flow cytometry provide objective criteria for disitiguishing low and high grade bladder carcinomas, Virchows Arch,1994,42(2):143-148.

4- Shimazui T., Uchiyama Y., Uchida K., Hattori K., Takahashi A., Akaza H., et al. Evaluation of NOR in human to bladder cancers by light-and electron-microsceptic morphometry. Eur Vrol. 2000 Jan, 37(1): 118-9.

5- Kausch I., Bohle A. Molecular a spects of bladder cancer. III. Prognostic markers of bladder cancer,European Urology,2002,41:15-24.

6- Koenig F., Klaus J., Schnor D., Loening S. Urinary markers of malignancy, clinica chimica Acta, 2000, 297: 191-205.

7- Derenzini M., Fararegoli F., Trere D. Relatioship between interphase AgNOR distribution and nucleolar size in cancer cell, Histo chem J., 1992, 24: 951-956.

8- Korneyev IA., Mamar NN., Kozolov VV., Rybakova MG., Al Shukri SH. Interphase argyrophilic nucleolar organizer regions and nucleolar counts in Transitional Cell Bladder Tumors, Mol Pathol, 2000 Jun, 53(3): 129-32.

9- Crocker J., Nair P. Nucleolar organizer regions in melanotic lesions of the skin. A quantitation study, J Clin Path, 1987,40:885-889.

10- Crocker J., Skillbeck N. Nucleolar organizer regions in Lymphomas, J Path, 1987, 51: 111-8.

11- Ploton D., Thiry M. Behavior of nucleolus during mitosis, a comparative ultrastructural study of various cancerous cell lines using AgNOR staining procedures, Chromasoma, 1987, 95(2): 95-107.

12- Cricker J., Boldy DA. How should we count AgNORs? Proposal for standardized approach, J Pathology, 1989, 158(3): 185-8.

13- Valder B., Henning D. Specific aspartic acid-rich sequences are reponsible for silver staining of nucleolar proleins, Biochem Biophys Res Commun, 1995, 207(2): 485-91.

14- Derenzini M., Trere D. Silver stained N. nucleolar organizer regions(AgNOR). Pathologica, 2001 Apr, 93(2): 99-105.

15- Ploton D., Manager M., Jeannesson P., Fararegoli F., Thiry M. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer at the optical level. Histochem J, 1986, 18: 5-14.

16- Takeuchi T., Nagatani Y., Tada K., Sugiyama S., Koidc T., Sakai S., et al. Application of the NOR to urinary cytology and its, computer-assisted image analysis, Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi 1991, sep, 82(9): 1494-503(Pub Med-indesed for MEDLIN).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]

Evaluation of Diagnostic Value of AgNOR Technique in Differentation Between Non-Neoplastic(Benign) and Malignant Lesions in Urine Cytology

M. Asgari, MD [I] ***A.A. Omidi, MD*** [II] ***M.H. Sadeghian, MD*** [III]

****H.R. Hashemian, MD*** [IV]

Abstract

This cross-sectional study was carried out to evaluate the usefulness of AgNOR technique in differentiation between benign and malignant cells in urine cytology and to determine the expression of Argyrophilic Nucleolar Organizer Region(AgNOR) proteins as a marker of proliferative activity in benign and malignant urothelial cells. Quantification of AgNORs which was stained by the silver colloid method in urothelial cells was carried out on voided urine from 75 cases composed of 43 Non-Urothelial Neoplastic(NUN) cases and 32 Transitional Cell Carcinoma(TCC) with varied degree of tumoral grade (grade I: 6 cases, Grade II: 16 cases, Grade III: 6 cases, Grade IV: 4 cases) which had been proved by gold standard method of bladder biopsy. The Mean AgNOR Count(MAC) showed stepwise increase in NUN cases(mean=3.19) through Grade I of TCC(mean=3.86), Grade II of TCC(mean=4.20), Grade III of TCC(mean=7.44) and Grade IV of TCC(mean=8.34). Oneway ANOVA Test and Post Hoc(Scheffe method) were used to compare the results between the groups. The mean differences were significant between low grade TCC(Grade I, II) and high grade TCC(Grade III, IV), and also between NUN group and high grade TCC(Grade III, IV). On the other hand, there were no significant statistical differences between the NUN group and Grade I TCC and also between Grade III and Grade IV. The mean maximum number of AgNOR in each group showed the same results.

Key Words: 1) Urine cytology 2) Transitional Cell Carcinoma(TCC)

3) AgNOR

This article is a summary of the thesis by H.R. Hashemian, MD for the degree of Specialty in Pathology under supervision of M. Asgari, MD and consultation with A.A. Omidi, MD and M.H. Sadeghian, MD.

I) *Assistant Professor of Pathology. Shahid Hashemi Nejad Hospital, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*

II) *Associate Professor of Pathology. Ghaem Hospital, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences and Health Services. Mashhad, Iran.*

III) *Assistant Professor of Pathology. Ghaem Hospital, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences and Health Services. Mashhad, Iran.*

IV) *Resident of Pathology. Hazrat Rasoul-e-Akram Hospital, Sattarkhan St., Niayesh Ave., Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran(*Corresponding Author).*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-28]