

بررسی آنژیوژنز در نئوپلاسم‌های بدخیم تیروئید با استفاده از روش ایمونوھیستوشیمی

دکتر سید محمد توانگر، دکتر سعید رضا حجتی، دکتر باقر لاریجانی

چکیده

مقدمه: بدخیمی‌های تیروئید از جمله بدخیمی‌های شایع غدد درون‌ریز می‌باشد که نقش آنژیوژنز در آنها به خوبی مشخص نشده است و تحقیق بیشتر در این زمینه ضروری است. آنژیوژنز از عوامل لازم در رشد، بقا و گسترش بسیاری از سرطان‌هاست. هدف این مطالعه بررسی وجود یا عدم وجود آنژیوژنز در تومورهای بدخیم تیروئید و ارتباط آن با یافته‌های بالینی و میکروسکوپی است. مواد و روش‌ها: در یک مطالعه توصیفی، دویست و پنج نمونه از ضایعات بدخیم تیروئید مورد بررسی قرار گرفت و با روش ایمونوھیستوشیمی بر روی بلورهای پارافینی آنها رنگ‌آمیزی برای فاکتور هشت (F VIII) با استفاده از روش آویدین - بیوتین پراکسیداز انجام شد. تعداد عروق کوچک در هر مورد در سه نقطه که دارای عروق بیشتری بود شمارش شد و میانگین تعداد عروق در این نقاط تراکم عروق کوچک را برای هر مورد، مشخص می‌نمود. یافته‌ها: میانگین عروق کوچک در کارسینوم پاپیلری 11.6 ± 9.0 ، در کارسینوم مدولاری 7.5 ± 4.0 ، در کارسینوم فولیکولر 16.0 ± 5.0 و در کارسینوم آناپلاستیک 8.9 ± 4.0 بود که نشان‌دهنده این است که از نظر تعداد عروق کوچک در بین گروه‌های فوق ارتباط آماری معنی داری وجود ندارد ($P = 0.263$). نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که میزان آنژیوژنز در بین تومورهای بدخیم تیروئید که مورد بررسی قرار گرفته تفاوت چندانی ندارد و همچنین ارتباط آماری معنی داری بین آنژیوژنز و یافته‌های میکروسکوپی (تهاجم کپسولی و تهاجم عروقی و درگیری غدد لنفاوی) وجود ندارد. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که برخلاف بسیاری از سرطان‌های شایع، نقش آنژیوژنز در سرطان‌های تیروئید چندان مهم نیست و برای اثبات یا رد این موضوع نیاز به مطالعه بیشتری است.

واژگان کلیدی: آنژیوژنز، تیروئید، تومورهای بدخیم، ایمونوھیستوشیمی

دریافت مقاله: ۸۳/۱۱/۲۶ - دریافت اصلاحیه: ۸۴/۵/۵ - پذیرش مقاله: ۸۴/۵/۸

پستان،^۱ پروستات، ریه و سرطان‌های سر و گردن^۲ به عنوان فاکتور مؤثر در پیش آگهی مطرح شده است و گاه در جهت کنترل سرطان از داروهای ضدآنژیوژنز استفاده می‌شود. مطالعات محدود انجام شده در زمینه نقش آنژیوژنز^۳ در سرطان‌های تیروئید که از جمله سرطان‌های شایع غدد

مقدمه

آنژیوژنز نقش کلیدی در رشد و گسترش و عود بسیاری از تومورهای توپر - و برخی انواع سرطان‌های خون دارد، همچنین در تعدادی از سرطان‌ها از جمله سرطان پوست،

تجمعی از آنها با یا بدون لومن به عنوان یک رگ کوچکⁱⁱ محسوبه شد. لازم به ذکر است تنها رگهای کوچک موجود در تومور (و نه رگهای موجود در بافت طبیعی مجاور تومور) شمارش شدند.

در این بررسی، تعداد کل نمونه‌ها ۲۰۵ بلوک پارافینی شامل ۱۲۹ مورد کارسینوم پاپیلری (۸٪)، ۳۲ مورد کارسینوم مدولاری (۶٪) ۲۴ مورد کارسینوم فولیکولر (۱۵٪) و ۱۰ مورد کارسینوم آنالپلاستیک (۴٪) بود. تمامی موارد مجدداً بازبینی شدند و در صورت لزوم به جهت اطمینان در تشخیص با روش‌های دیگر از جمله ایمونوهیستوتولوژی (مثلًا در موارد کارسینوم مدولاری) مورد تأیید قرار گرفتند.

یافته‌ها

۷۶٪ نمونه‌ها مربوط به زنان با متوسط سنی ۳۳ سال و ۲۴٪ مربوط به مردان با متوسط سنی ۳۷ سال بود. بین گروه‌های سنی مختلف و میزان آنژیوژن ارتباط معنی‌داری وجود نداشت. همچنین بین زنان و مردان از نظر میانگین عروق کوچک تفاوت محسوسی وجود نداشت. از نظر تراکم عروق کوچکⁱⁱⁱ (MVD) در بین چهار گروه^{iv} بدخیمی مطالعه شده رابطه معنی‌داری از نظر آماری وجود ندارد ۱۳٪ از ضایعات دارای تهاجم عروقی، ۱۷٪ از ضایعات دارای تهاجم کپسولی و ۱۷٪ از ضایعات دارای درگیری غدد لنفاوی بودند. ارتباط آماری بین درجه آنژیوژن^v و تهاجم عروقی، تهاجم کپسولی و درگیری غدد لنفاوی در بدخیمی‌های بررسی شده تیروئید در این مطالعه وجود نداشت (جداول ۱ و ۲).

جدول ۱ - فراوانی تومورهای بدخیم تیروئید مورد مطالعه

درصد	تعداد	
۶۷/۸	۱۲۹	کارسینوم پاپیلری
۱۵/۶	۳۲	کارسینوم مدولاری
۱۱/۷	۲۴	کارسینوم فولیکولر
۴/۹	۱۰	کارسینوم آنالپلاستیک
۱۰۰٪	۲۰۵	جمع

ii- Microvessel

iii- Mirovessel density

iv- Between groups

v- Angiogenesis degree

درونریز است، در بعضی مواقع نتایج متناقضی به همراه داشته است و به نظر می‌رسد با تحقیقات بیشتر و در صورت وجود آنژیوژن در این ضایعات، در آینده بتوان با جلوگیری از آنژیوژن توسط فاکتورهای آنتی آنژیوژنیک^۶ گام مؤثری در جلوگیری از پیشرفت یا احتمالاً در درمان این تومورها برداشت.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی، داده‌ها با استفاده از بایگانی بخش پاتولوژی بیمارستان دکتر شریعتی تهران، از بیمارانی که به علت ابتلا به سرطان تیروئید در فاصله سال‌های ۱۳۷۲-۱۳۸۲ تیروئیدکتومی شده بودند، جمع‌آوری شد. بلوک‌های پارافینی در مورد چهار نوع از سرطان‌های تیروئید که بیشترین شیوع را دارند (کارسینوم پاپیلری، کارسینوم فولیکولار، کارسینوم مدولاری و کارسینوم آنالپلاستیک) از بایگانی استخراج شد. بلوک پارافینی مناسب برای رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوتولوژی (نمونه با حداقل نکروز و خونریزی و با فیکساسیون مناسب) انتخاب و با فاکتور VIII با استفاده از روش آویدین - بیوتین پراکسیداز رنگ‌آمیزی شد. در این روش از بلوک‌های پارافینی انتخاب شده ابتدا برش‌هایی با ضخامت چهار میکرومتر تهیه شد. این برش‌ها دپارافینه و آبدهی شدند و به مدت پانزده دقیقه در آب اکسیژنه سی درصد قرار گرفتند. سپس شستشو با محلول سیترات انجام شد و آنگاه به مدت ۴ دقیقه در مایکروفر با درجه حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در مرحله بعد آنتی‌بادی (DAKO Code No M616) ضد فاکتور هشت با رقت ۱:۲۵ اضافه و در حرات اتاق به مدت پانزده دقیقه انکوبه گردید. پس از آن برش‌ها به روش LSAB به مرحله کروموزن (DAB) رسیدند.

روش ارزیابی بدین صورت بود که ابتدا اسلاید انتخاب شده از نمونه مناسب با بزرگنمایی کم میکروسکوپ (Low power) مورد مطالعه قرار گرفت و در هر لام سه نقطه که دارای عروق بیشتری بود نقاط داغⁱ این اصطلاح در بررسی آنژیوژن، به نقاطی از لام اطلاق می‌گردد که در بررسی با بزرگنمایی کم میکروسکوپ دارای تعداد عروق خونی زیادی باشند). مشخص شده، سپس تعداد عروق کوچک در این نقاط در بزرگنمایی بالای میکروسکوپ شمارش شده، میانگین آنها محاسبه گردید. عدد به دست آمده بیانگر تعداد عروق کوچک در این مورد خاص بود. هر سلول اندوتیال تا

i- Hot spots

جدول ۲- میانگین تراکم عروق کوچک (mirovessel density) در تومورهای بدخیم تیروئید بررسی شده

تعداد	میانگین (انحراف معیار)	خطای استاندارد	فاصله اطیبان ۹۵٪ برای میانگین	حد پائین	حد بالا
۱۳۹	۲۰/۹	۰/۹	(۱۱/۶)	۲۹/۰	۲۲/۹
۲۲	۲۵/۷	۳/۶	(۲۰/۴)	۲۸/۳	۴۲/۱
۲۴	۲۹/۵	۳/۲	(۱۶/۰)	۲۲/۷	۲۶/۳
۱۰	۳۴/۰	۲/۸	(۸/۹)	۲۷/۶	۴۰/۴
۲۰۵	۳۱/۶	۰/۹	(۱۲/۸)	۲۹/۷	۲۳/۵
جمع					

همکاران به روش ایمونوهیستوشیمی مشاهده شد که کارسینوم فولیکولر تیروئید با تهاجم کپسولی به تنها ی و بدون تهاجم به رگ یک بدخیمی تهدیدکننده نیست.^۸ در مطالعه‌ای که بر روی کارسینوم پاپیلر تیروئید انجام شد، نتیجه بدين صورت بود که آژیوژن به عنوان یک عامل تعیین کننده پیش‌آگهی محسوب نمی‌شود.^۹ در مطالعه درینگر و همکاران به روش ایمونوهیستوشیمی بر روی لنفوم غده تیروئید مشاهده شد که تهاجم عروقی در این بدخیمی، پیش‌آگهی را بدتر می‌کند.^{۱۰} در بررسی وونگ و همکاران رابطه‌ای بین واסקولاریتۀ تومور و پیش‌آگهی در کارسینوم فولیکولر و کارسینوم پاپیلر تیروئید یافت نشده است.^{۱۱} در مطالعه گلدنبرگ و همکاران ارتباط قابل توجهی بین افزایش تراکم عروق کوچک و هیستولوژی تومور دیده نشده است.^{۱۲} گرچه آژیوژن نقش بسیار مهمی در گسترش، عود و متاستاز بسیاری از سرطان‌ها دارد.

نتایج این مطالعه و تعدادی از تحقیقات دیگر^{۱۰-۱۲} بیانگر این نکته است که شیوع آژیوژن در بین تومورهای بدخیم تیروئید ارتباطی به نوع هیستولوژیک تومور ندارد و به نظر می‌رسد نمی‌توان از آن به عنوان یک عامل مهم در پیگیری بیماران استفاده نمود. مطالعات دیگر بیانگر این است که حتی با وجود نقاچی ژنتیک که رشد یک سلول منفرد را از تنظیم خارج می‌کند، تومورها نمی‌توانند بیش از یک تا دو میلی‌متر به رشد خود ادامه دهند مگر اینکه عروق خونی آنها کافی باشد.^{۷-۱۳} با توجه به نقش مهم آژیوژن در رشد، تکامل و گسترش سلول‌های توموری و اهمیت آن در بسیاری از سرطان‌های مهم بدن، مطالعه مذکور ارتباط معنی‌داری بین انواع متفاوت سرطان‌های تیروئید و همچنین نوع سرطان با یافته‌های بالینی و میکروسکوپی نشان نمی‌دهد و به نظر می‌رسد که در جهت اثبات یا رد نقش آژیوژن در این

بحث

هدف از انجام این مطالعه بررسی میزان آژیوژن در تومورهای بدخیم تیروئید و مقایسه آها با یکدیگر بود. همچنین بررسی ارتباط احتمالی آژیوژن در ضایعات بدخیم تیروئید با پارامترهای دیگر از جمله تهاجم به کپسول و عروق خونی و درگیری غدد لنفاوی و مقایسه شیوع آژیوژن در دو جنس مد نظر بود.

در این مطالعه رابطه آماری معنی‌داری از نظر شیوع آژیوژن بین تومورهای بدخیم تیروئید وجود نداشت که بیانگر عدم نقش آژیوژن به عنوان یک عامل تعیین کننده پیش‌آگهی بود

مطالعات محدودی در زمین، نقش تراکم عروق کوچک در کارسینوم تیروئید انجام شده که نتایج یکسانی نیز نداشته است. از جمله بررسی داهر و همکاران که نشان می‌دهد با وجود ارتباط تراکم عروق و پیش‌آگهی در تومورهای پستان، معده و کولون، نقش MVD در کارسینوم تیروئید با نتایج نامشابه همراه بوده است.^۱ در تعدادی از بررسی‌ها بر نقش احتمالی MVD به عنوان عامل پروگنوستیک در کارسینوم تمایز یافته تیروئید تأکید شده است.^{۱۴}

نتیجه مطالعه فوتنانینی و همکاران بیانگر این موضوع است که MVD نشان‌دهنده پیش‌آگهی بد در کارسینوم مدولاری تیروئید و نه در انواع دیگر کارسینوم تیروئید است.^۳ در دو مطالعه دیگر که اولی به روش ایمونوهیستوشیمی بر روی ۱۵ نمونه تیروئید از کارسینوم فولیکولر و دومی نیز با همین روش بر روی ۳۴ نمونه کارسینوم فولیکولر انجام شد، مشاهده شد که کارسینوم فولیکولر تیروئید که فقط تهاجم کپسولی داشته باشد (بدون تهاجم عروقی)، متاستاز نمی‌دهد.^{۴-۷} در بررسی فان‌هیردن و

بخش پاتولوژی بیمارستان دکتر شریعتی تهران - بخش ایمونوهیستوشیمی خانم عظیمی و خانم امیرانی که در انجام این تحقیق ما را یاری رساندند، قدردانی می‌گردند.

تومورها و استفاده احتمالی درمانی از آن، مطالعات تكمیلی لازم است.

سپاسگزاری

از همکاری جناب آقای دکتر حشمت در زمینه آنالیز آماری طرح و نیز از همکاری ارزنده و صمیمانه پرسنل

References

1. Dhar DK, Kubota H, Kotoh T, Tabara H, Watanabe R, Tachibana M, et all. Tumor vascularity predicts recurrence in differentiated thyroid carcinoma. Am J Surg. 1998;176(5):442-7.
2. Ishiwata T, Iino Y, Takei H, Oyama T, Morishita Y. Tumor angiogenesis as an independent prognostic indicator in human papillary thyroid carcinoma. Oncol Rep. 1998;5(6):1343-8.
3. Fontanini G, Vignati S, Pacini F, Pollina L, Basolo F. Microvessel count: an indicator of poor outcome in medullary thyroid carcinoma but not in other types of thyroid carcinoma. Mod Pathol. 1996;9(6):636-41.
4. Goldstein NS, Czako P, Neill JS. Metastatic minimally invasive (encapsulated) follicular and Hurthle cell thyroid carcinoma: a study of 34 patients. Mod Pathol. 2000;13(2):123-30.
5. Segal K, Shpitzer T, Feinmesser M, Stern Y, Feinmesser R. Angiogenesis in follicular tumors of the thyroid. J Surg Oncol. 1996;63(2):95-8.
6. Segal K, Arad A, Lubin E, Shpitzer T, Hadar T, Feinmesser R. Follicular carcinoma of the thyroid. Head Neck. 1994;16(6):533-8.
7. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. Semin Oncol. 2002;29(6 Suppl 16):15-8.

8. van Heerden JA, Hay ID, Goellner JR, Salomao D, Ebersold JR, Bergstrahl EJ, et all. Follicular thyroid carcinoma with capsular invasion alone: a nonthreatening malignancy. Surgery. 1992;112(6):1130-6.
9. Akslen LA, Livolsi VA. Increased angiogenesis in papillary thyroid carcinoma but lack of prognostic importance. Hum Pathol. 2000;31(4):439-42.
10. Derringer GA, Thompson LD, Frommelt RA, Bijwaard KE, Heffess CS, Abbondanzo SL. Malignant lymphoma of the thyroid gland: a clinicopathologic study of 108 cases. Am J Surg Pathol. 2000;24(5):623-39.
11. Wong NA, Willott J, Kendall MJ, Sheffield EA. Measurement of vascularity as a diagnostic and prognostic tool for well differentiated thyroid tumours: comparison of different methods of assessing vascularity. J Clin Pathol. 1999 Aug;52(8):593-7.
12. Wong N, Willott J, Kendall M, et al. Measurement of vascularity as a diagnostic and prognostic tool for well differentiated thyroid tumors: J Clin Pathol 1999;52:593-597
13. Goldenberg JD, Portugal LG, Wenig BL, Ferrer K, Wu JC, Sabnani J. Well-differentiated thyroid carcinomas: p53 mutation status and microvessel density. Head Neck. 1998;20(2):152-8.
14. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. Nat Med. 2003;9(6):653-60.