

ارتباط بین واکنش‌های استرومال لنفوسیتی و درگیری گره‌های لنفاوی آگزایلا در کارسینوم‌های داکتال مهاجم درجه‌ی یک پستان

دکتر نوشین افشار مقدم*، دکترمژگان مختاری*، دکتر محمد بابایی**

نویسنده‌ی مسئول: اصفهان، بیمارستان الزهرا (س)، بخش پاتولوژی afsharmoghadam@med.mui.ac.ir

دریافت: 84/8/28 پذیرش: 84/10/20

چکیده

زمینه و هدف: سرطان پستان شایع‌ترین نوع سرطان در زنان می‌باشد. مهم‌ترین عامل مؤثر در پیش آگهی این سرطان رفتاری گره‌های لنفاوی می‌باشد. از آنجا که ارتباط بین ارتشاح لنفوسیتی و پیش آگهی سرطان پستان مورد اختلاف نظر است، این مطالعه با هدف تعیین ارتباط بین واکنش لنفوسیتی استرومال و رفتاری گره‌های لنفاوی در کارسینوم داکتال مهاجم درجه‌ی یک پستان در سال 1383 در اصفهان انجام گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه‌ی مقطعی، 182 بافت سرطان پستان فیکس شده در فرمالین و قالب گیری شده در پارافین ارزیابی شدند. نمونه‌ها بر مبنای تعداد گره‌های لنفاوی گرفتار و سن، طبقه‌بندی و سپس ارتباط بین این عوامل و ارتشاح لنفوسیتی استرومال ارزیابی شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های آماری تی، آنالیز واریانس یک طرفه و کای دو استفاده شد.

یافته‌ها: بین واکنش استرومال لنفوسیتی و رفتاری گره‌های لنفاوی ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده شد ($P=0/001$). بین وضعیت یائسگی و ارتشاح لنفوسیتی استرومال ارتباط معنی‌داری وجود نداشت ($P=0/09$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های پژوهش حاکی از آن است که در تومورهایی که ارتشاح استرومال لنفوسیتی شدید دارند، احتمال رفتاری گره‌های لنفاوی زیاد می‌باشد. انجام مطالعات بیشتر پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: واکنش استرومال لنفوسیتی، کارسینوم داکتال پستان، درجه‌ی یک، گره لنفاوی آگزایلا.

مقدمه

کارسینوم پستان شایع‌ترین نوع سرطان و دومین علت مرگ ناشی از سرطان در خانم‌های بالغ می‌باشد (۱، ۲). این سرطان 19 درصد مرگ‌های ناشی از سرطان را در زنان به خود اختصاص می‌دهد. در طی 50 سال گذشته میزان بروز سرطان پستان به طور قابل توجهی افزایش یافته است (2) و در حال حاضر بروز

سالانه‌ی این سرطان بیشتر از 1/000/000 مورد در سال در جهان برآورد می‌شود (3). در ایران آمار دقیقی از مرگ و میر و میزان بروز این بیماری در کل جامعه در دست نمی‌باشد. با این حال بر اساس مطالعات ثبت شده در موسسه سرطان بیمارستان امام خمینی تهران، میزان بروز خام سرطان پستان در ایران در حدود 22/5 در صد هزار نفر جمعیت می‌باشد. بر اساس آخرین مطالعه‌ی

* متخصص پاتولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

** پزشک عمومی

انجام شده در همین مرکز، در سال 1377 تعداد 7436 مورد جدید سرطان پستان در کشور بروز نمود که حدود 13 درصد کل سرطان‌های هر دو جنس بوده است (4). علیرغم میزان رو به افزایش سرطان پستان، میزان کلی مرگ و میر ناشی از آن ثابت مانده است. این کاهش نسبی در میزان مرگ و میر، بیانگر پیشرفت در تشخیص و درمان زودرس بیماری می‌باشد (2).

در تعیین پیش آگهی سرطان پستان عوامل متعددی نقش دارند که مهم ترین آن‌ها، تعداد گره‌های لنفاوی درگیر آگزایلا می‌باشد (5، 6)، به طوری که افزایش میزان درگیری گره‌های لنفاوی میزان بقا (Survival) بیماری را کاهش می‌دهد (1، 2). در مطالعات متعددی به ارتباط بین تعداد گره‌های لنفاوی گرفتار و ارتشاح سلول‌های لنفاوی در نسج تومور اشاره شده است. ارتشاح سلول‌های لنفاوی در اکثر تومورهای انسانی خصوصاً کارسینوم پستان وجود دارد و شدت ارتشاح، مطرح کننده‌ی یک واکنش متقابل بین میزان و سلول‌های تومورال می‌باشد (7، 8). از آنجا که نقش ارتشاح لنفوسیتی در تعیین پیش آگهی سرطان پستان مورد اختلاف نظر است (9)، این پژوهش به منظور تعیین رابطه‌ی بین واکنش استرومال لنفوسیتی و درگیری گره‌های لنفاوی آگزایلا در کارسینوم‌های داکتال درجه‌ی یک پستان طراحی و در سال 1383 در بیمارستان‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه‌ی مقطعی بر روی بیوپسی‌های اکسیژنال 182 خانم مبتلا به کارسینوم داکتال درجه‌ی یک پستان نوع غیر اختصاصی (Non Otherwise Specified [NOS]) صورت گرفت. ابتدا برش‌های 5 میکرونی از بلوک‌های پارافینی مورد نظر، تهیه و رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین

انجام شد. سپس درجه بندی (Grading) براساس سیستم بلوم و ریچاردسون (Bloom and Richardson) بر مبنای معیارهای تولید توبول، میتوز و آتپپی هسته‌ای تعیین گردید (10). در این پژوهش نمونه‌ها از نظر وضعیت واکنش استرومال لنفوسیتی به سه گروه بدون واکنش استرومال، با واکنش استرومال خفیف (کمتر از 30 لنفوسیت در هر بزرگ‌نمایی بزرگ میکروسکوپ نوری [High Power Field [HPF]) و با واکنش استرومال شدید (مساوی یا بیشتر از 30 لنفوسیت در هر HPF) طبقه بندی شدند (11). وضعیت رفتاری گره‌های لنفاوی آگزایلا با استناد به گزارشات پاتولوژی نمونه‌های ماستکتومی بیماران استخراج گردید. از لحاظ گروه سنی، بیماران به دو گروه قبل و بعد از منوپوز تقسیم شدند. به منظور به حداقل رساندن تداخل عوامل پروگنوستیک دیگر، وضعیت مارکرهای ایمونوهیستوکمیکال از قبیل گیرنده‌های هورمونی، کاتپسین D، P53 و c-erb-B2 از گزارشات ایمونوهیستوکمیکال بیماران استخراج شد و مواردی جهت مطالعه انتخاب شدند که از لحاظ گیرنده‌های استروژنی (ER) و پروژسترونی (PR) مثبت (12، 13) و از نظر مارکرهای کاتپسین (14)، P53 (15) و c-erb-B2 (16) منفی بودند. موارد دارای برش با کیفیت نامناسب، بلوک‌های پارافینی خشک شده، انجام ماستکتومی در مراکز غیرقابل دسترس به گزارش پاتولوژی و یا کانسره‌های داکتال اختصاصی مانند مدولری، موسینوس و لوبولر از مطالعه حذف و داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون‌های آماری تی، آنالیز واریانس یک طرفه و کای دو تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

مطالعه بر روی 182 نمونه‌ی کارسینوم داکتال مهاجم درجه‌ی یک پستان انجام شد. موارد فاقد و حاوی

جدول 1: مقایسه‌ی تعداد گره‌های لنفاوی درگیر به تفکیک وضعیت واکنش استرومال، اصفهان 1383

تعداد گره لنفاوی	صفر	1-3	بیشتر از 4	جمع
بدون واکنش	52 (59/8)*	35 (40/2)	0 (0)	87
واکنش خفیف	3 (7/3)	30 (73/2)	8 (19/5)	41
واکنش شدید	0 (0)	15 (27/8)	39 (72/2)	54
جمع	55 (30/2)	80 (44)	47 (25/8)	182

*P=0/001

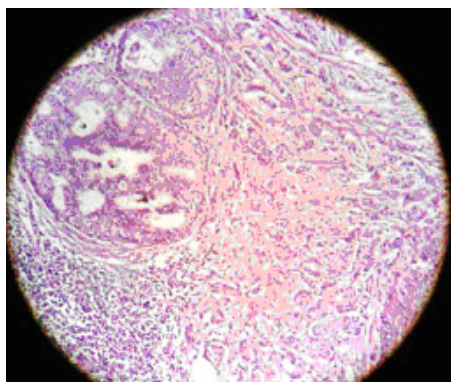
* اعداد داخل پرانتز بیان‌گر درصد می‌باشند.

تعداد گره‌های لنفاوی درگیر در سه گروه فاقد واکنش، حاوی واکنش خفیف و شدید اختلاف معنی‌داری ($P=0/001$) داشتند. در جدول (1)، تعداد گره‌های لنفاوی درگیر به تفکیک وضعیت‌های مختلف واکنش‌های استرومال لنفوسیتی نشان داده شده است. در مقایسه‌ی تعداد گره‌های لنفاوی درگیر بین سه گروه، آزمون کای‌دو اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P=0/001$).

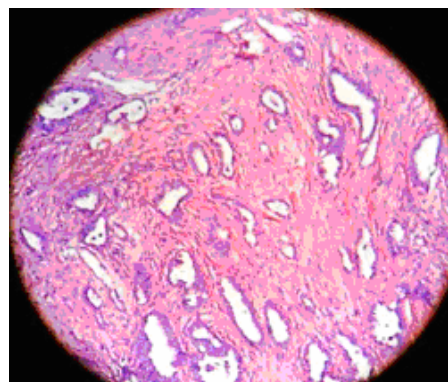
وضعیت واکنش‌های استرومال لنفوسیتی در دو گروه سنی قبل و بعد از منوپوز در جدول (2) نشان داده شده است. چنان‌چه مشاهده می‌شود بین وضعیت منوپوز و واکنش استرومال لنفوسیتی اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($P=0/09$).

واکنش استرومال لنفوسیتی به ترتیب 87 و 95 مورد بودند (تصاویر 1 و 2)، از 95 مورد حاوی واکنش استرومال لنفوسیتی، در 41 مورد واکنش خفیف و در 54 مورد واکنش شدید مشاهده گردید. میانگین تعداد گره‌های لنفاوی درگیر آگزایلا درگروه‌های فاقد واکنش استرومال لنفوسیتی به ترتیب $0/65 \pm 0/9$ و $3/1 \pm 4/4$ برآورد گردید. درموارد حاوی واکنش خفیف و شدید میانگین‌ها به ترتیب $1/3 \pm 2/4$ و $3/2 \pm 5/9$ بودند.

در مقایسه‌ی میانگین گره‌های لنفاوی درگیر در دو گروه حاوی وفاقد واکنش استرومال لنفوسیتی، آزمون تی اختلاف معنی‌داری ($P=0/001$) را نشان داد. هم‌چنین بر اساس آزمون آنالیز واریانس یک طرفه، میانگین



شکل 2: کارسینوم داکتال مهاجم درجه‌ی یک با ارتشاح شدید لنفوسیتی (بزرگ‌نمایی $\times 100$)



شکل 1: کارسینوم داکتال مهاجم درجه‌ی یک با تشکیلات واضح توبولی و فاقد ارتشاح لنفوسیتی (بزرگ‌نمایی $\times 100$)

جدول 2: ارتباط بین واکنش استرومال و وضعیت منوبوز بیماران،

اصفهان 1383

وضعیت واکنش استرومال	وضعیت منوبوز		جمع
	قبل	بعد	
بدون واکنش	43 (49/4)*	44 (50/6)	87 (100)
واکنش خفیف	15 (36/6)	26 (63/4)	41 (100)
واکنش شدید	32 (59/3)	22 (40/7)	54 (100)
جمع	90 (49/5)	92 (50/5)	182 (100)

* اعداد داخل پرانتز بیان‌گر درصد می‌باشند.

بحث

نتایج حاصل از بررسی ارتباط وضعیت واکنش استرومال نفوسیتی در سرطان پستان و درگیری گره‌های لنفاوی، نشان داد که میانگین گرفتاری گره‌های لنفاوی در گروه بدون واکنش استرومال نفوسیتی $(0/65 \pm 0/9)$ با گروه دارای واکنش استرومال نفوسیتی اختلاف معنی‌داری دارد. همچنین ارتباط معنی‌داری بین تعداد گره‌های لنفاوی درگیر و شدت واکنش استرومال نفوسیتی وجود داشت. بسیاری از تومورها که به طور خود به خودی و یا توسط عوامل کارسینوژن ایجاد شده‌اند، آنتی ژن‌های تومورال را بروز می‌دهند، این امر منجر به بروز واکنش‌های ایمنی از قبیل حمله‌ی سلول‌های نفوسیتی و واکنش‌های آنتی بادی می‌شود. احتمالاً واکنش‌های ایمنی به عنوان یک واکنش دفاعی میزبان جهت حذف آنتی ژن‌های تومورال می‌باشند (17).

مطالعه‌ای که در زمینه‌ی تومورهای پیوندی بین موش‌های ایزوژنیک انجام شد، نشان داد که رد تومورهای پیوند شده فقط در موش‌هایی دیده می‌شود که سلول‌های نفوسیتی فعالی دارند. به نظر می‌رسد که هم جمعیت نفوسیتی T و هم سلول‌های کشنده بالفطره (Natural Killer Cells) و ماکروفاژها، در انهدام سلول‌های تومورال دخالت داشته باشند؛ و اخیراً از القای سیستم ایمنی علیه تومور در اهداف درمانی استفاده می‌شود (18). ارتشاح

سلول‌های لنفاوی در اکثر تومورهای انسانی خصوصاً کارسینوم پستان وجود دارد و شدت ارتشاح، مطرح کننده‌ی یک واکنش متقابل بین میزبان و سلول‌های تومورال می‌باشد (8، 7). اهمیت ارتشاح این سلول‌ها دقیقاً مشخص نشده است. در بین کانسره‌های پستان فقط در کارسینوم مدولاری پستان ارزش پروگنوستیک مطلوب ارتشاح نفوسیتی اثبات شده است، ولی در مورد سایر انواع کانسره‌های پستان ارزش پروگنوستیک واکنش استرومال نفوسیتی هنوز مورد اختلاف نظر می‌باشد (9).

تحقیقات متعددی از جمله در ایتالیا (8، 7)، انگلیس (9) و ژاپن (۱۹، ۲۰) ارتباط مثبتی بین میزان بقاء و واکنش استرومال نفوسیتی گزارش کرده‌اند؛ ولی نتایج سایر تحقیقات در آمریکا (21) و ایتالیا (22) نتایج متناقضی را نشان داده‌اند. این تضاد می‌تواند ناشی از دخالت عوامل پروگنوستیک دیگر از قبیل درجه‌ی تومور، بروز اونکوژن‌های تومورال و گیرنده‌های هورمونی باشد که در بسیاری از این مطالعات این موارد در نظر گرفته نشده‌اند. در حالی که در پژوهش حاضر به منظور به حداقل رساندن عوامل مخدوش کننده‌ی مذکور، مطالعه صرفاً در کارسینوم‌های داکتال درجه‌ی یک با وضعیت مطلوب از لحاظ اونکوژن‌های تومورال و گیرنده‌های هورمونی انجام شد.

پدیده‌ی متاستاز یک پدیده‌ی چند مرحله‌ای است و سلول‌های تومورال چندین مرحله را طی می‌کنند که این مراحل عبارتند از: پیدایش سلول‌های تومورال با خصلت مهاجم، تهاجم به غشای پایه، عبور از بافت همبندی خارج سلولی، ایجاد واکنش متقابل با سلول‌های لنفاوی میزبان، چسبیدن به غشای پایه‌ی عروق خونی و ایجاد تجمع متاستاتیک در داخل رگ (23). بدون وجود عروق خونی سلول‌های تومورال بیش از یک تا دو میلی متر نمی‌توانند گسترش یابند (24، 25). بنابراین وجود عروق خونی و حمایت استرومال جهت گسترش سلول‌های تومورال ضروری

فعالیت سیستم ایمنی تا حدودی کاهش می‌یابد؛ ولی به نظر می‌رسد که در بیولوژی تومورها عوامل ژنتیکی دیگری دخالت داشته باشند (19).

نتیجه گیری

اگرچه بین واکنش استرومال لنفوسیتی و رفتاری گره‌های لنفاوی زیر بغلی در کارسینوم‌های داکتال پستان ارتباط وجود دارد ولی ارتباط این یافته با رفتارهای تهاجمی طویل‌المدت و میزان بقای بیماران نامشخص می‌باشد و هنوز نمی‌تواند جایگزین عوامل پروگنوستیک معمول شود، از این رو انجام مطالعات بیشتر توصیه می‌گردد. ارزش پیش‌آگهی واکنش‌های استرومال لنفوسیتی نیاز به بررسی‌های بیشتری از قبیل تعیین ایمونوفنوتیپی جمعیت لنفوسیتی به تفکیک انواع T، B و سلول‌های کشنده‌ی بالفطره، طرح ارتشاح سلول‌های لنفاوی (علاوه بر تعیین تعداد) و ارتباط آن با میزان بقای طولانی مدت دارد.

می‌باشد. برای تولید عروق خونی سلول‌های تومورال یک سری از عوامل رشد از قبیل عامل رشد مشتق از پلاکت (Platelet Derived Growth Factor)، اینترلوکین و عامل محرکه‌ی کلنی گرانولوسیت و مونوسیت (Granulocyte & Monocyte Colony Stimulating Factor) را تولید می‌کنند (26). این عوامل رشد علاوه بر ایجاد آنژیوژنز می‌توانند در ایجاد واکنش‌هایی از قبیل تکثیر سلول‌های لنفوسیتی و رشد فیبروبلاست‌های استرومال دخالت داشته باشند. بنابراین به نظر می‌رسد در تومورهای که عوامل رشد بالایی تولید می‌کنند، احتمال ایجاد آنژیوژنز، واکنش استرومال و در نتیجه احتمال متاستاز بالاتر خواهد بود (27). در این مطالعه، از نظر سنی افراد در دو گروه قبل و بعد از منوپوز بررسی شدند. وضعیت واکنش استرومال لنفوسیتی ($P=0/09$) در دو گروه قبل و بعد از منوپوز و همچنین وضعیت رفتاری گره‌های لنفاوی آگزیزا ($P=0/08$) در این دو گروه اختلاف معنی‌داری نداشتند. اگرچه سیستم ایمنی در افراد جوان حداکثر عملکرد را دارد و با افزایش سن،

منابع

- 1-Bland KI, Beenken SW, Copeland EM. *The Breast*. In: Andersen DK, Billiar TR, Dunn D, Munter JG, Pollock RE(editors). *Schwartz Principles of Surgery*. New York : McGraw- Hill Co; 2005, 453-96.
- 2- Nora TD, Giuliano AE. *Breast Cancer*. in: Berek JS (editor). *Novak's Gynaecology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Co; 2002, 1375-93.
- 3- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer. *Int J Cancer*. 2001; 94: 153-56.
- 4- گیتی معصومه، رحیمیان الهام، خردمند علی. *اصول تشخیص و درمان بیماری‌های پستان*. تهران: انتشارات رضوان پرتو، 1381، صفحات 17 تا 31.
- 5-Susan C. *The Breast*. In: Kumar V, Abbas AK, Fauto N(editors). *Pathologic Basis of Disease*. Philadelphia: WB Saunders Co; 2005, 1119-51.
- 6- Kim KJ, Huh SJ, Yang JH, et al. Treatment results and prognostic factors of early breast cancer treated with a breast conserving operation and radiotherapy. *Jpn J Clin Oncol*. 2005; 35 (3): 126-33.
- 7- Bianco V, De Benedetto A, Simeoni F, et al. Prognostic factors in operated breast carcinoma. *Minerva Med*. 1995; 86 (1-2): 17-20.

- 8-Menard S, Tomasic G, Casalini P, et al. Lymphoid infiltration as a prognostic variable for early-onset breast carcinomas. *Clin Cancer Res*. 1997; 3 (5): 817-9.
- 9-Nzula S, Going JJ, Stott DI. Antigen-driven clonal proliferation, somatic hypermutation, and selection of B lymphocytes infiltrating human ductal breast carcinomas. *J Cancer Res*. 2003; 63 (12): 3275-80.
- 10- Meyer JS, Alvarez C, Milikowski C, et al. Breast carcinoma malignancy grading by Bloom-Richardson system vs proliferation index: reproducibility of grade and advantages of proliferation index. *Mod Pathol*. 2005; 18 (8): 1067-78.
- 11-Griffith CD, Ellis IO, Bell J, Burns K, Blamey RW. Density of lymphocytic infiltration of primary breast cancer does not affect short-term disease-free interval or survival. *J R Coll Surg Edinb*. 1990; 35 (5): 289-92.
- 12- Lin YC, Chen SC, Chang HK, et al. Identifying good prognosis group of breast cancer patients with 1-3 positive axillary nodes for adjuvant cyclophosphamide, methotrexate and 5-fluorouracil (CMF) chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol*. 2005; 35 (9): 514-9.
- 13- Arpino G, Weiss HL, Clark GM, Hilsenbeck SG, Osborne CK. Hormone receptor status of a contralateral breast cancer is independent of the receptor status of the first primary in patients not receiving adjuvant tamoxifen. *J Clin Oncol*. 2005; 23 (21): 4585-7.
- 14- Nikolic-Vukosavljevic D, Markicevic M, Grujic-Adanja G, Petrovic A, Kanjer K, Neskovic-Konstantinovic Z. Cathepsin D-related disease-free interval in pT1 primary breast carcinomas: A pilot study. *Clin Exp Metastasis*. 2005; 22 (4): 363-8.
- 15- Miller LD, Smeds J, George J, et al. An expression signature for p53 status in human breast cancer predicts mutation status, transcriptional effects, and patient survival. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102 (49): 17882.
- 16- Bianco AR. Targeting c- erb B2 and other receptors of the c - erb B2 family rationale and clinical applications. *J Chemother*. 2004; 16 (4): 52-4.
- 17- Herberman RB. Tumor immunology. *JAMA*. 1992; 268 (20): 2935-9.
- 18- Leiberman MW, Lebovits RM. *Neoplasia*. In: Damjanov I, Linder J(editors). *Anderson's Pathology* . St Louis: Mosby Co;1996,539-40.
- 19- Usui T, Shimokawara I, Hirata K, et al. Relationship between T cell infiltration in breast cancer tissues and prognosis. *Gan No Rinsho*. 1983; 29 (14): 1634-7.
- 20- Miwa H. Identification and prognostic implication of lymphocyte infiltration in tumor tissue of cancer patients. *Gan No Rinsho*. 1984; 30 (7): 753-6.
- 21- Fisher ER, Kotwal N, Hermann C, Fisher B. Types of tumor lymphoid response and sinus histiocytosis. Relationship to five-year, disease-free survival in patients with breast cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 1983; 107 (5): 222-7.
- 22-Cardone A, Tolino A, Zarcone R, Borruto Caracciolo G, Tartaglia E. Prognostic value of desmoplastic reaction and lymphocytic infiltration in the management of breast cancer. *Panminerva Med*. 1997; 39(3): 174-7.
- 23-Kumar V, Abbas AK, Fauto N. *Neoplasia*. In: Kumar V, Abbas AH, Faut. N(editors). *Pathologic Basis of Disease*. Philadelphia: Saunders Co; 2005, 279-88.

- 24-Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med.* 1991; 324 (1): 1-8.
- 25-Pluda JM. Tumor-associated angiogenesis: mechanisms, clinical implications and therapeutic strategies. *Semin Oncol.* 1997; 24 (2): 203-18.
- 26- Rak J, Filmus J, Kerbel RS. Reciprocal paracrine interactions between tumour cells and endothelial cells: the 'angiogenesis progression' hypothesis. *Eur J Cancer.* 1996; 32A (14): 2438-50.
- 27- Kumar Y, Abbas AK, Fauto N. *Acute and Chronic Inflammation.* In: Kumar V, Abbas AK, Faut N(editors). *Pathologic Basis of Disease.* Philadelphia: Saunders Co; 2005: 49-63.