

# تغییرات غشای پایه و انتشار رشته‌های رتیکولار در هیپرپلازی خوش خیم و کارسینومای پروستات

دکتر طیبه کرمانی<sup>۱</sup> - دکتر محمود زردست<sup>۲</sup> - احمد رضا سبزاری<sup>۳</sup> - دکتر عبدالرضا وارسته<sup>۴</sup>

## چکیده

**زمینه و هدف:** سرطان پروستات دومین سرطان شایع در جنس مذکر است که سلامت فرد و زندگی اجتماعی-اقتصادی وی را تحت تاثیر قرار می دهد. پس از برداشتن پروستات و تعیین میزان بدخیمی بیماری می توان پیش‌آگهی آن را بطور دقیق تعیین نمود. از آنجاییکه وجود یا عدم وجود غشاء پایه و رشته های رتیکولار نیز همانند رده سلولی در تشخیص خوش خیمی و بدخیمی سرطان ها اهمیت دارد، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تغییرات غشای پایه غدد در موارد خوش خیم و بدخیم، با استفاده از رنگ‌آمیزی اختصاصی انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، بلوک‌های پارافینی پروستات خوش خیم و بدخیم از بخش آسیب‌شناسی بیمارستان امام رضا (ع) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، تهیه شد. در مجموع از ۸ مورد با هیپرپلازی خوش خیم پروستات و ۶ مورد با آدنوکارسینوما استفاده شد. برشها به قطر ۵ میکرون تهیه شدند. در هر سری برش از هر ۱۰ نمونه یکی به روش H&E (هماتوکسیلین و اتوزین) به منظور تشخیص محل ضایعه و کنترل نتایج به دست آمده، رنگ‌آمیزی و بررسی شد و سایر برشها برای بررسی غشای پایه غدد، به روش نیترا نقره رنگ‌آمیزی شد.

**یافته‌ها:** الگوی واکنش بافتهای خوش خیم و بدخیم نسبت به نیترا نقره بسیار متفاوت بود؛ در نمونه‌های بدخیم در اطراف آسینی‌ها و طنابهای سلولی، غشای پایه مشاهده نشد اما در استرومای اندک حد فاصل غدد، غشای ضخیم، ممتد و آرژینوفیلی تشکیل شد؛ در حالی که الیاف رتیکولار غشای پایه در نمونه‌های خوش خیم نازک و منقطع و با الیاف آرژینوفیل استروما گسترش یافته بود.

**نتیجه‌گیری:** در این تحقیق، به طور کلی اختلاف معنی‌داری در غشای پایه در بین نمونه‌های خوش خیم و بدخیم مشاهده شد که می‌تواند در تشخیص موارد مشکوک مورد استفاده قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود کاربری روشهای هیستوشیمیایی اختصاصی و در دسترس مانند رنگ‌آمیزی غشای پایه در تشخیص افتراقی سایر بافتهای خوش خیم و بدخیم در انواع تومورها و وجود آن در نواحی اطراف آسینی یا اطراف سلول‌ها مورد مطالعه قرار گیرد.

**کلید واژه‌ها:** پروستات؛ هیپرپلازی خوش خیم؛ آدنوکارسینوما؛ غشای پایه؛ رنگ‌آمیزی سیلورمتنامین

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند (دوره ۱۱، شماره ۴، سال ۱۳۸۳)

<sup>۱</sup> نویسنده مسؤول؛ استادیار گروه آموزشی علوم تشریحی (آناتومی)، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

آدرس: بیرجند- خیابان غفاری- دانشگاه علوم پزشکی بیرجند- بخش علوم تشریحی

تلفن: ۰۵۶۱-۴۴۴۳۰۴۱-۹ دورنگار: ۰۵۶۱-۴۴۳۵۱۶۸ پست الکترونیکی: tkermany@yahoo.com

<sup>۲</sup> استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

<sup>۳</sup> دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

<sup>۴</sup> دانشیار بخش ایمونولوژی پژوهشکده بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

**مقدمه**

با وجود مطالعات و تحقیقات گسترده و پیشرفته سلولی مولکولی، اساس تکوین و شکل‌گیری انواع هیپرپلازی‌های خوش‌خیم و بدخیم در اعضای مختلف بدن همچنان ناشناخته باقی مانده و میزان ابتلا به آن در حال فزونی است (۱).

در این میان سرطان غده پروستات، دومین عامل مرگ‌ومیر در اثر ابتلا به سرطان در میان مردان در دنیای غرب است (۲،۱) که با افزایش میانگین سن شیوع آن سیر صعودی دارد (۱).

نکته قابل قبول در تشکیل اغلب سرطان‌ها، ایجاد موتاسیون در سلول‌های سوماتیک نظیر سلول‌های اپی‌تلیالی است که از محیط کوچک (Microenvironment) اطراف سلول‌ها مانند ماتریکس خارج سلولی، خون‌رسانی عروق، سلول‌های التهابی و فیبروبلاست‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۳).

در اوایل دهه ۸۰ میلادی نظریه Bissel's مبنی بر این که ماتریکس خارج سلولی نقش کلیدی در فعالیت طبیعی و غیر طبیعی سلول‌ها ایفا می‌کند و هرگونه تغییر در ماتریکس و پاسخ سلول‌ها به آن منجر به بدخیمی می‌گردد، مطرح شد (۴). تاکنون مولکول‌های متعددی شناسایی شده‌اند که علاوه بر ساختار، نحوه آرایش ماتریکس و غشای پایه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۵-۷). گزارش شده است که نحوه آرایش غشای پایه با الگوی رشد یک سرطان مرتبط است و با حفظ و ضخیم‌شدگی یا از بین رفتن واکنش نشان می‌دهد (۵).

در پروستات که عوامل آندروژنی و غیر آندروژنی، تنظیم رشد سلول‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند و باعث نمای مورفولوژیک متعددی باعث می‌گردد (۱)، یکی از سؤالات مهم در این خصوص، تغییر آرایش ماتریکس و غشای پایه در اطراف آسینی‌ها و سلول‌های اپی‌تلیال غده پروستات در مراحل مختلف هیپرپلازی خوش‌خیم و بدخیم است (۵-۱۱). باقی ماندن غشای پایه، حتی در مراحل پیشرفته (۱۲) و

یا تجزیه و سازماندهی مجدد آن در مراحل مختلف (۹)، در انتشار سلول‌های سرطانی اهمیت و جایگاه خاصی دارد (۵-۱۱، ۱۳)؛ از آنجا که توزیع ترکیبات خارج سلولی اجزای غشای پایه تازه تشکیل شده (نئوپلازی) از سلول‌ها و استروما متأثر می‌گردد (۱۰)، در این تحقیق با استفاده از رنگ‌آمیزی اختصاصی، تغییرات غشای پایه در مراحل مختلف رشد غدد مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت تا شاید گامی در جهت تشخیص بموقع آن باشد؛ بویژه آن که این سرطان‌ها در صورتی که زود تشخیص داده شوند، پیش‌آگهی نسبتاً مناسبی خواهند داشت.

**روش بررسی**

در این مطالعه تجربی، ۸ نمونه با تشخیص هیپرپلازی پروستات و ۶ مورد آدنوکارسینوما از بخش آسیب‌شناسی بیمارستان امام رضا (ع) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی بیرجند تهیه شد. آماده‌کردن نمونه‌ها با فیکساتور فرمالین، پردازش بافتی و قالب‌گیری در پارافین به روش معمول بافت‌شناسی انجام شد (۱۷). به طور متوسط از هر نمونه ۴ بلوک پارافینی تهیه شد. با کمک میکروتوم روتاری (Leitz 1512) مقاطع ۴-۵ میکرونی به روش سریال مهیا گردید.

رنگ‌آمیزی نیترا ت نقره جهت واکنش غشای پایه و الیاف رتیکولار مطابق روش بعد از Jone's (۱۹۵۷) انجام شد (۱۷)؛ پس از آن واکنش سلول‌های اپی‌تلیال غدد، آسینی‌ها، استروما و بافت فیبروماسکولار با میکروسکوپ نوری مطالعه و بررسی قرار گرفت.

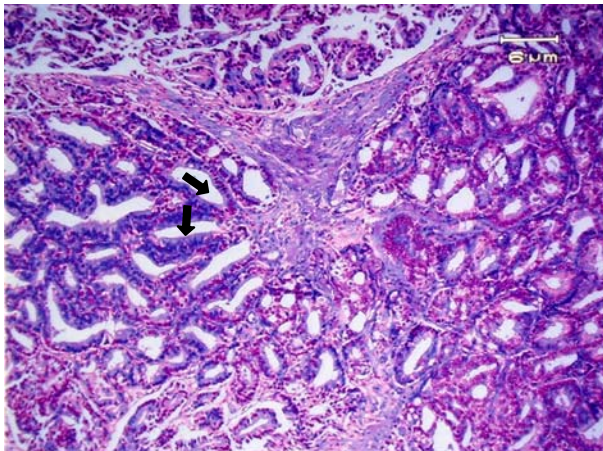
**یافته‌ها**

- نمونه‌های هیپرپلازی خوش‌خیم: آسینی‌های غدد با اپی‌تلیوم منظم یک تا دو لایه سلول، مجاری وسیع، برخی محتوی ترشحات و اجسام آمیلاسه و استروما و بافت

آسینی‌ها مشاهده شد. استرومای بین غدد اندک و اصطلاحاً غدد به صورت پشت به پشت (Back to Back) مشاهده شد (شکل ۳).

در رنگ‌آمیزی نیترات نقره، غشای پایه آسینی‌های کوچک و بزرگ، بخوبی واکنش نشان داد. رشته‌های آرژینوفیل داخل استروما نیز رنگ گرفت.

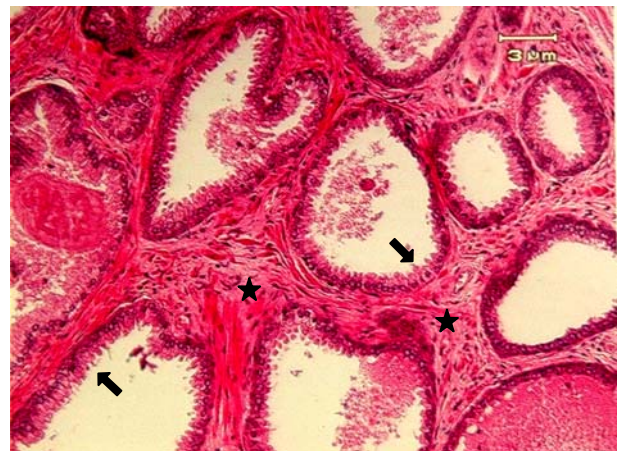
در نواحی با تغییرات آناپلازی بدخیم، غشای پایه اطراف آسینی‌ها در برخی نواحی از بین رفت و دستجات سلولی بدون غشای پایه مشاهده شد (شکل ۴).



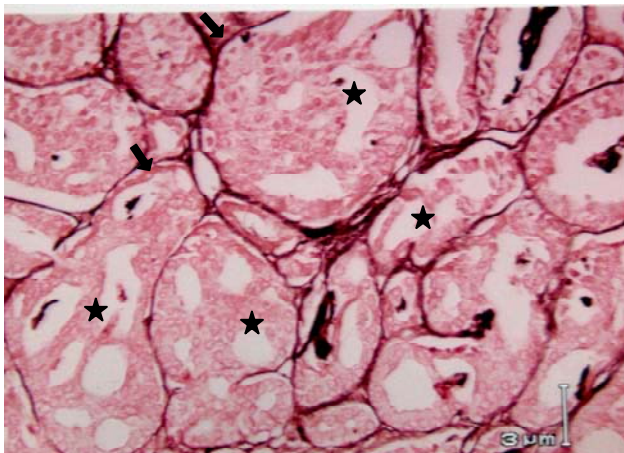
شکل ۳- آدنوکارسینوما، تشکیل آسینی‌ها و طناب‌های سلولی (←) و استرومای اندک مشاهده شد. بزرگنمایی: ۱۰۰×؛ رنگ‌آمیزی H&E

فیبروماسکولار نسبتاً وسیع مشاهده شد (شکل ۱). در رنگ‌آمیزی نیترات نقره در سلول‌های اپی‌تلیالی واکنش خاصی مشاهده نشد اما رشته‌های آرژینوفیل در استروما و قاعده غدد بدون مرز تیز و مشخص، با میزان نسبتاً زیادی مشاهده شد (شکل ۲).

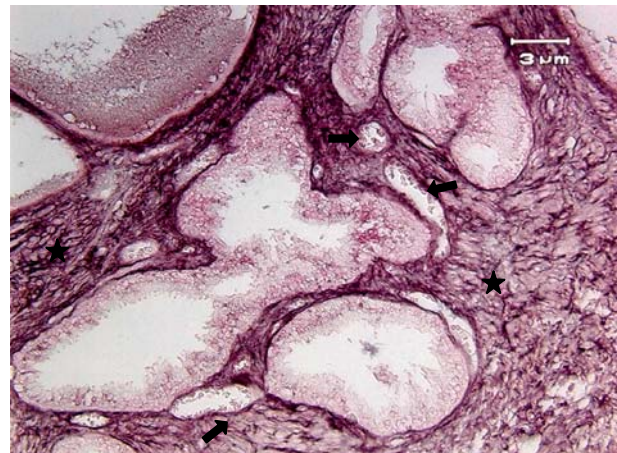
- نمونه‌های آدنوکارسینوما: استرومای کم، آسینی‌های بزرگ و کوچک، با سلول‌های منفرد یا دستجات سلولی با هسته‌های دیسپلازیک (هسته بزرگ، هتروکروماتین، غشای هسته‌ای پررنگ و نامنظم) در دیواره و درون برخی از



شکل ۱- هیپرپلازی خوش خیم غدد با اپی‌تلیوم منظم و مجاری وسیع (←) و بافت فیبروماسکولار (★) نسبتاً وسیع بزرگنمایی: ۱۰۰×؛ رنگ‌آمیزی H&E



شکل ۴- آدنوکارسینوما، تشکیل آسینی‌ها و طناب‌های سلولی بدون غشای پایه (★) و غشای پایه و استرومای اندک آرژینوفیل (←) مشاهده شد. بزرگنمایی: ۱۰۰×؛ رنگ‌آمیزی نیترات نقره



شکل ۲- هیپرپلازی خوش خیم غدد (←): رشته‌های رتیکولار در بافت فیبروماسکولار؛ (★): رگ‌های خونی بزرگنمایی: ۱۰۰×؛ رنگ‌آمیزی نیترات نقره

**بحث و نتیجه گیری**

غشای پایه بخشی از ECM است که به طور طبیعی یا غیر طبیعی در اطراف بافتهای پوششی و شبه پوششی آرایش یافته و در انتقال اطلاعات ضروری سلولها به استروما نقش اساسی ایفا می کند. در صورت فعال شدن ژنهای سرطانی و تشکیل ضایعات توموری در سلولها، با حفظ یا از بین رفتن غشا، میان کنش سلولهای سرطانی و استروما تحت تأثیر قرار می گیرد و نقش مهمی در فرایند تهاجمی سلولهای سرطانی ایفا می کند (۱۹، ۱۸، ۱۶، ۱۵)؛ بنابراین مطالعه تغییر آرایش غشای پایه در تشخیص و درمان سرطان از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

رنگ آمیزی غشای پایه و الیاف رتیکولر به روش نیترات نقره، یکی از روشهای ابداع شده توسط Jones می باشد که با تغییراتی (۱۹) تاکنون جهت تغییر آرایش غشای پایه در روند تکامل بیولوژیک یا تغییرات پاتولوژیک کاربرد داشته است (۱۹، ۲۰)؛ از آنجا که تشکیل مواد غشای پایه جدید (نتوپلازی) در روند تکامل تهاجمی\* سرطان پروستات، بحرانی و مورد بحث است، بنابراین تعیین الگوی آن در نمونه های پاتولوژیک ارزشمند به نظر می رسد.

در تحقیق حاضر، الگوی واکنش بافتهای خوش خیم و بدخیم پروستات نسبت به نیترات نقره بسیار متمایز بود. در نمونه های خوش خیم رشته های رتیکولار با نمای غیر ممتد در قاعده غدد و به میزان نسبتاً فراوان در استروما مشاهده شد که شاید به علت نازک بودن غشای پایه غدد پروستات باشد که در شرایط طبیعی نیز گزارش شده است (۲)؛ اما در موارد بدخیمی در اطراف آسینی های کوچک و بزرگ (احتمالاً تازه تشکیل شده) غشای نسبتاً قطور و پیوسته ای از رشته های رتیکولار در ناحیه غشای پایه غدد مشاهده شد که با استرومای اندک حد فاصل غدد همپوشانی پیدا کرده بود.

در نواحی تغییر آرایش غدد، توده های سلولی بدخیم مشاهده شد ولی غشای پایه در اطراف سلولها مشاهده نشد و الیاف آرژینوفیل به صورت کپسولی در خارج از طنابهای سلولی در نواحی اطراف آسینی آرایش پیدا کردند؛ احتمالاً به دلیل همین اختلاف است که گزارشات متفاوتی در خصوص الگوی توزیع غشای پایه یا سازماندهی مجدد آن در انواع کارسینومای پروستات گزارش شده است (۸-۱۲، ۱۸).

از آنجا که نمای بافتی هیپرپلازی های پروستات در بخشهای مختلف غده متنوع است، تغییرات غشای پایه می تواند در افتراق دو نوع خوش خیم و بدخیم نقش کلیدی ایفا نماید؛ همچنین در آدنوکارسینوما، از بین رفتن غشا در اطراف آسینی های بدخیم، می تواند بیانگر شدت بدخیمی و احتمال متاستاز باشد؛ یا در درجه بندی بافت شناختی و یا مرحله بندی بالینی (Stage) مورد استفاده قرار گیرد.

در مطالعه حاضر، غشای پایه آندوتلیوم عروق تازه تشکیل شده، در حد فاصل آسینی ها نیز با رنگ آمیزی نقره واکنش نشان داد؛ این نوع رنگ آمیزی را شاید بتوان جهت تعیین میزان رگ زایی استفاده نمود.

با توجه به نتایج حاصل، پیشنهاد می شود کاربری روشهای هیستوشیمیایی اختصاصی و در دسترس، بویژه رنگ آمیزی غشای پایه در تشخیص افتراقی بافتهای خوش خیم و بدخیم در انواع تومورها و وجود آن در نواحی اطراف آسینی یا اطراف سلولها مورد مطالعه قرار گیرد.

**تقدیر و تشکر**

از امور پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند که حمایت مالی این تحقیق را بر عهده داشتند، تشکر و قدردانی می گردد؛ همچنین از همکاری بی دریغ جناب آقای مهدی نژاد که در تهیه نمونه های مناسب مساعدت نمودند و جناب آقای خراشادیزاده در آزمایشگاه تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی بیرجند که در تهیه عکسها همکاری نمودند، سپاسگزاری می نماید.

\*\* Invasive Phenotype

## منابع:

- 1- Van Coppenolle F, Slomianny C, Carpentier F, Le Bourhis X, Ahidouch A, Croix D, et al. Effects of hyperprolactinemia on rat prostate growth: evidence of androgeno-dependence. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001; 280 (1): E 120-29.
- 2- Kissane MJ. *Anderson's Pathology.* 9<sup>th</sup> ed. Vol 2. St.Louis: Mosby; 1990.
- 3- Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. *Nature.* 2004; 432 (7015): 332-37. Review.
- 4- Lin CQ, Bissell MJ. Multi-faceted regulation of cell differentiation by extracellular matrix. *FASEB J.* 1993; 7 (9): 737-43. Review.
- 5- Matsuo Y, Hashimoto S, Koga T, Yonemitsu Y, Yoshino I, Sugimachi K, et al. Growth pattern correlates with the distribution of basement membrane and prognosis in lung adenocarcinoma. *Pathol Res Pract.* 2004; 200 (7-8) :517-29.
- 6- Tian B, Li Y, Ji XN, Chen J, Xue Q, Ye SL, et al. Basement membrane proteins play an active role in the invasive process of human hepatocellular carcinoma cells with high metastasis potential. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2005; 131 (2): 80-6.
- 7- Matsumura S, Oue N, Kitadai Y, Chayama K, Yoshida K, Yamaguchi Y, et al. A single nucleotide polymorphism in the MMP-1 promoter is correlated with histological differentiation of gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2004; 130 (5): 259-65.
- 8- Barsky SH, Siegal GP, Jannotta F, Liotta LA. Loss of basement membrane components by invasive tumors but not by their benign counterparts. *Lab Invest.* 1983; 49 (2): 140-7.
- 9- Fuchs ME, Brawer MK, Rennels MA, Nagle RB. The relationship of basement membrane to histologic grade of human prostatic carcinoma. *Mod Pathol.* 1989; 2 (2): 105-11.
- 10- Bonkhoff H, Wernert N, Dhom G, Remberger K. Basement membranes in fetal, adult normal, hyperplastic and neoplastic human prostate. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1991; 418 (5): 375-81.
- 11- Fong CJ, Sherwood ER, Braun EJ, Berg LA, Lee C, Kozlowski JM. Regulation of prostatic carcinoma cell proliferation and secretory activity by extracellular matrix and stromal secretions. *Prostate.* 1992; 21 (2): 121-31.
- 12- Bonkhoff H, Wernert N, Dhom G, Remberger K. Distribution of basement membranes in primary and metastatic carcinomas of the prostate. *Hum Pathol.* 1992; 23 (8): 934-39.
- 13- Stewart DA, Cooper CR, Sikes RA. Changes in extracellular matrix (ECM) and ECM-associated proteins in the metastatic progression of prostate cancer. *Reprod Biol Endocrinol.* 2004; 2: 2.
- 14- Hiltunen EL, Anttila M, Kultti A, Ropponen K, Penttinen J, Yliskoski M, et al. Elevated hyaluronan concentration without hyaluronidase activation in malignant epithelial ovarian tumors. *Cancer Res.* 2002; 62 (22): 6410-13.
- 15- Ricciardelli C, Mayne K, Sykes PJ, Raymond WA, McCaul K, Marshall VR, et al. Elevated levels of versican but not decorin predict disease progression in early-stage prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 1998; 4 (4): 963-71.
- 16- Simpson MA, Reiland J, Burger SR, Furcht LT, Spicer AP, Oegema TR Jr, et al. Hyaluronan synthase elevation in metastatic prostate carcinoma cells correlates with hyaluronan surface retention, a prerequisite for rapid adhesion to bone marrow endothelial cells. *J Biol Chem.* 2001; 276 (21): 17949-57.
- 17- Carleton HM, Drury RAB, Wallington EA. *Carleton's Histological Technique.* Oxford: Oxford Medical Publications; 2005.
- 18- Carvalho HF, Line SR. Basement membrane associated changes in the rat ventral prostate following castration. *Cell Biol Int.* 1996; 20 (12): 809-19.
- 19- Bonkhoff H, Remberger K. Differentiation pathways and histogenetic aspects of normal and abnormal prostatic growth: a stem cell model. *Prostate.* 1996; 28 (2): 98-106.
- 20- Churukian CJ. Consistent silver methods for demonstrating basement membranes, reticulum, and fungi. *J Histotechnol* 1996; 19(3):211-218.

## The changes in basement membrane and distribution of reticular fibers in benign hyperplasia and adenocarcinoma of prostate

T. Kermani \*, M. Zardast \*\*, AR. Sabzari \*\*\*, AR. Varasteh \*\*\*\*

\* Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

\*\* Assistant Professor, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

\*\*\* Student of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

\*\*\*\* Associate Professor, Department of Immunology, BU-Ali Research Centre, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

### Abstract

**Background and Aim:** Prostate cancer is the second most prevalent malignancy in men, which affects health, economy, and social life. The ability to predict accurately, after prostatectomy, would increase optimization of disease management, because the presence or absence of basement membrane (BM) and reticular fibers are as important as cell lines in detecting of benignancy and malignancy of cancers. This study was designed to assess the condition of the BM and reticular fibers in stroma in benign prostatic hyperplasia (BPH) and adenocarcinoma of prostate.

**Materials and Methods:** In this experimental study, prostate tissue samples were obtained from pathology department of Emam Reza Hospital of Birjand University of Medical Sciences. On the whole, 8 cases with BPH and 6 cases with Adenocarcinoma of prostate were used in the research. The samples were sectioned to 5 $\mu$  thickness. One out of 10 per sections was stained with H-E in order to obtain histologic diagnosis, and the others stained with silver-methenamine to detect BM.

**Results:** The benign and malignant tissues showed different reaction patterns against Ag nitrate. In the malignant samples, BM and reticular fibers were not observed at newly formed periacinar and cell cords. In a few stroma between the acinars, continuous, arginophil, and thick membrane was formed. BM reticular fibers, in benign samples were thin and discontinuous expanding to stroma arginophil fibers.

**Conclusion:** The study showed that BM pattern is different in benign and malignant samples, a point that is important in detecting of doubtful cases. And probably newly formed periacinar BM would restrict the malignancy distribution. We suggest these available and special BM staining methods to detect benignancy and malignancy in various tumors and the presence of BM in periacinar and pericellular areas would also be used.

**Key Words:** Prostate; BPH; Adenocarcinoma; Basement membrane; Silver-methenamine stain