پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۴، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹، صفحات ۱۸۷ تا ۱۹۰

مقاله اصلی
(Original Article)

بررسی ایمونوراکتیویتی برای مارکرهای سلولی CD15 و CD30 در بیماران مبتلا به لنفوم هوچکین کلاسیک

دکتر هانیه ژام[۱]،دکتر ناصر بلوری[۲]، دکتر مجید جعفری[۳]، دکتر آزاده رخشان[۲]، محمدرضا راعی[۴]، دکتر فرید صولت[۲]، دکتر افشین مرادی[۱*]

[۱] مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
[۲] گروه پاتولوژی، مرکز پزشکی شهدای تجریش، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۳] گروه اطفال، مرکز پزشکی شهدای تجریش، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۴] دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: *برای تشخیص و افتراق لنفوم هوچکین از سایر لنفوم‌ها از مارکرهای ایمونوهیستوشیمی به خصوص CD15 و CD30 استفاده می‌گردد. با توجه به آمارهای متفاوت فراوانی مارکرهای فوق وعدم اطلاع از وضعیت در کشور و به منظور تعیین شیوع ایمونوراکتیویتی برای مارکرهای CD15 و CD30 در بیماران ایرانی مبتلا به لنفوم هوچکین کلاسیک این تحقیق انجام گرفت.*

روش بررسی: *تحقیق به روش مقطعی بر روی کلیه بیماران با تشخیص قطعی لنفوم هوچکین کلاسیک صورت گرفت. بیماران بر اساس طبقه بندی WHO در چهار گروه Mixed cellularity، Nodular sclerosis، Lymphocyte rich و Lymphocyte depletion طبقه‌بندی شدند. مارکرهای سلولی CD15 و CD30 در سلول Reed-Sternberg بر اساس متد monoclonal antibody immunostaining تشخیص داده شد. شیوع هرکدام در نمونه‌ها تعیین و فاصله اطمینان ۹۵ درصد آن در جامعه ایرانی برآورد گردید.*

یافته‌ها: *تحقیق بر روی ۶۵ بیمار با میانگین سنی ۱۸/۱±۳۱/۹ سال انجام گرفت. ۲۸ بیمار (۴۳/۱ درصد) مونث و ۳۷ نفر (۵۶/۹ درصد) مذکر بودند. مارکرهای سلولی CD15 و CD30 به ترتیب در ۵۰ (۷۶/۹ درصد) و ۵۸ (۸۹/۲ درصد) بیمار مثبت بود. در ۴۶ (۷۰/۸ درصد) بیمار هر دو مارکر مثبت بودند و در ۳ (۴/۶ درصد) نفر هر دو مارکر منفی بود. ارتباط معنی‌داری میان مثبت بودن مارکرهای مذکور با سن و جنس بیماران دیده نشد ($p<0/6$).*

نتیجه‌گیری: *به نظر می‌رسد که نسبت قابل توجهی از بیماران ایرانی مبتلا به لنفوم هوچکین دارای مارکر سلولی CD15 یا CD30 مثبت هستند که می‌توانند در تشخیص لنفوم هوچکین مفید باشند. با این حال در موارد CD15 منفی و CD30 مثبت بهتر است برای پیشگیری از اشتباه با لنفوم آناپلاستیک anaplastic large cell lymphoma (ALCL) از مارکرهای بیشتری استفاده نمود.*

واژگان کلیدی: *لنفوم هوچکین، مارکر ایمونوهیستوشیمی CD15، مارکر ایمونوهیستوشیمی CD30.*

مقدمه

اصطلاح لنفوم برای یک گروه از تومورهای بدخیم بافت لنفاوی به کار می‌رود که از لحاظ درجه بدخیمی و تظاهرات بالینی و پاسخ به درمان بسیار متفاوت هستند (۱). بیماری هوچکین به عنوان یک لنفوم بدخیم شناخته می‌شود و وجه تمایز آن از لنفوم‌های دیگر در این است که در آن اکثریت سلول‌های زمینه‌ای را سلولهای غیرنئوپلاستیک واکنشی تشکیل می‌دهند و سلول‌های نئوپلاستیک و تشخیصی آن سلول Reed-Sternberg و یا واریانهای آن می‌باشد. لنفوم هوچکین به دو دسته کلاسیک و غیرکلاسیک (Lymphocyte-predominance) طبقه بندی

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکزتحقیقات سرطان، دکتر افشین مرادی (**e-mail:** afshinmo2002@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۵/۱۷
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۶/۲۴

میشود .فرم کلاسیک خود به ۴ ساب‌تایپ تقسیم می‌شود: ۱- Nodular sclerosis، ۲- Mixed cellularity، ۳- Lymphocyte depletion و ۴- Lymphocyte rich (۲).

دو مارکر CD30 و CD15 معمولا در فرم کلاسیک بیماری دیده می‌شوند (۲). بیماری هوچکین اغلب در نوجوانان و اوایل دوران بلوغ و یا در سنین متوسط عمر دیده می‌شود و در مردان شیوع آن دو برابر زنان است (۳). تعدادی خصیصه‌های غیرمعمول در بیماری هوچکین وجود دارد که در تشخیص این بیماری کمک کننده است، نظیر انتشار محوری غدد لنفاوی گرفتار شده به وسیله بیماری، وجود تعداد زیادی از سلول‌های غیربدخیم و کاملاً نرمال و سلول‌های ائوزینوفیل به حالت مخلوط با سلول‌های بدخیم در بافت‌های آلوده بیماری، هیپرپلازی لنفوئید که شایع بوده و غالباً قبل یا همراه با شروع بیماری می‌باشد و اختلال زودرس فعالیت سیستم ایمنی سلولی (۴). با وجود این ویژگی‌های بالینی و آزمایشگاهی، در تعدادی از بیماران افتراق لنفوم هوچکین از سایر بیماری‌های سیستم لنفاوی نظیر Anaplastic Large Cell Lymphoma به سادگی ممکن نیست و باید از مارکرهای سلولی استفاده کرد (۵). مثبت بودن توام CD15 و CD30 در لنفوم هوچکین کلاسیک ارزش تشخیصی دارد و در افتراق این بیماری از سایر لنفوم‌ها دارای اهمیت است (۶). ولی از آنجا که در برخی از لنفوم‌های هوچکین کلاسیک CD15 منفی است و از طرف دیگر در لنفوم اناپلاستیک CD30 مثبت است، امکان اشتباه بین این دو بیماری که پیش‌آگهی و درمان کاملا متفاوتی دارند، وجود دارد. لذا آگاهی از میزان مثبت شدن این مارکرها در بیماری هوچکین ضروری است، چون عدم تشخیص صحیح آن پیامدهایی نظیر درمان ناقص یا درمان بیش از حد تهاجمی را به دنبال خواهد داشت. میزان موارد مثبت برای CD15 ۸۵ تا ۹۰ درصد و برای CD30 ۸۹ درصد گزارش شده است (۲). به نظر می‌رسد در بسیاری از آزمایشگاه‌های شهر تهران حتی در موارد تیپیک هوچکین که به درمان هم جواب داده‌اند درصد موارد مثبت مارکرهای فوق کمتر از میزان گزارش شده در مراجع باشد. لذا در موارد مشکوک، ارزش اخباری منفی تست‌های منفی پایین و غیر قابل اعتماد است. با توجه به نبود اطلاعات در خصوص مارکرهای سلول Reed-Sternberg در بیماران ایرانی، این تحقیق در مراجعه کنندگان به بیمارستان‌های شهدا و پارس در سال‌های ۱۳۸۵تا ۱۳۸۸ به منظور تعیین میزان ایمونوراکتیویتی برای CD15 و CD30 در بیماران ایرانی مبتلا به لنفوم هوچکین صورت گرفت.

مواد و روشها

این مطالعه به روش مقطعی (cross sectional) بر روی کلیه بیماران مبتلا به لنفوم هوچکین کلاسیک که به طور مستمر مراجعه کرده بودند، انجام گرفت. تشخیص لنفوم هوچکین کلاسیک بر اساس نمونه پاتولوژی از غدد لنفاوی بود. نمونه تمام بیماران مبتلا به هوچکین که در مقطع زمانی ۱۳۸۵ تا ۱۳۸۸ مراجعه کرده بودند، تحت بررسی قرار گرفت و تعداد نمونه بر اساس حجم نمونه در مطالعات قبلی که از حداقل ۵۶ نمونه (۷) تا حداکثر ۵۷۱ نمونه (۸) انجام گرفته است، به تعداد ۶۵ نفر برآورد گردید.

پس از هماهنگی‌های به عمل آمده با آزمایشگاه بیمارستان پارس، اسلایدهای H&E (هماتوکسیلین- ائوزین) و بلوک‌های پارافینی مناسب خصوصا نواحی پرتراکم سلول‌های Reed-Sternberg انتخاب شدند. از بلوک‌های فوق برش‌های ۳ میکرومتری تهیه شد و بر روی اسلاید منتقل گردید. رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی بر اساس متد LASAB انجام گرفت. جهت رنگ‌آمیزی از monoclonal mouse anti-human CD15. M 07333 و monoclonal mouse anti-human CD30. N 1558 ساخت شرکت Dako Cytomatic استفاده شد. در این روش رنگ‌آمیزی، سلول‌های Reed-Sternberg CD15 و CD30 مثبت و منفی مشخص گردید. طبقه‌بندی لنفوم هوچکین نیز بر اساس نتایج پاتولوژیک نمونه‌ها انجام گرفت.

خصوصیات سن، جنس و گزارش هیستولوژیک در یک فرم ثبت گردید و شیوع هر یک از مارکرها در نمونه‌ها تعیین و میزان واقعی در جامعه (فاصله اطمینان ۹۵ درصد) برآورد گردید و نقش سن و جنس بر موارد مثبت مارکرها با آزمون دقیق فیشر مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

۶۵ بیمار مبتلا به لنفوم هوچکین کلاسیک با میانگین سنی ۱۸/۱±۳۱/۹ سال (دامنه ۶ الی ۷۹ سال) تحت بررسی قرار گرفتند. توزیع سنی بیماران از منحنی نرمال تبعیت می‌کرد. ۲۸ بیمار (۴۳/۱ درصد) مونث و ۳۷ بیمار (۵۶/۹ درصد) مذکر بودند. فراوانی ساب‌تایپ mixed cellularity ۲۵ مورد (۳۸/۵ درصد)، nodular sclerosis ۳۰ مورد (۴۶/۲ درصد)، lymphocyte rich ۹ مورد (۱۳/۸ درصد) و lymphocyte depletion ۱ مورد (۱/۵ درصد) بود.

شیوع CD15 ۷۶/۹ درصد (۵۰ بیمار) بود و میزان واقعی آن از حداقل ۷۰/۷ درصد تا ۸۳ درصد برآورد شد. شیوع CD30 ۸۹/۲ درصد (۵۸ نفر) به دست آمد و میزان واقعی از حداقل ۸۲/۲ درصد تا ۹۶/۴ درصد برآورد گردید. در ۴۶ بیمار (۷۰/۸ درصد) هم‌زمان هر دو مارکر CD15 و CD30 مثبت بود.

به منظور بررسی رابطه ساب‌تایپ‌های لنفوم هوچکین کلاسیک با CD15 و CD30 نسبت موارد مثبت و منفی CD15 و CD30 درساب‌تایپ‌های مذکور مقایسه شد که نتایج آن در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به ناکافی بودن نمونه‌ها در زیرمجموعه‌ها آزمون آماری به عمل نیامد.

جدول ۱- مقایسه نسبت ایمونوراکتیویتی CD15 و CD30 در ساب‌تایپ‌های مختلف لنفوم هوچکین کلاسیک

ساب‌تایپ لنفوم	CD15 مثبت (n=۵۰)	CD30 مثبت (n=۵۸)
Mixed cellularity	۲۰ (۴۰)*	۲۲ (۳۸)
Nodular sclerosis	۲۳ (۴۶)	۲۶ (۴۴/۸)
Lymphocyte rich	۶ (۱۲)	۹ (۱۵/۵)
Lymphocyte depletion	۱ (۲)	۱ (۱/۷)

* اعداد داخل پرانتز معرف درصد هستند.

به منظور بررسی رابطه سن بیماران با وضعیت CD، سن بیماران CD15 مثبت با سن بیماران CD15 منفی و همچنین سن بیماران CD30 مثبت با سن بیماران CD30 منفی مقایسه شد که نشان داد در بیماران CD15 مثبت و منفی میانگین سنی بیماران به ترتیب ۱۸/۷±۳۲/۹ و ۱۶/۲±۲۸/۸ سال ($p<0/5$) و در بیماران CD30 مثبت و منفی میانگین سنی بیماران به ترتیب ۱۸/۵±۳۲/۸ و ۱۵/۲±۳۲/۹ سال بود ($p<0/9$) و تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

در بیماران مونث و مذکر نسبت CD15 مثبت به ترتیب ۷۸/۶ درصد (۲۲ نفر) و ۷۵/۷ درصد (۲۸ نفر) بود که به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p<0/51$). همچنین در بیماران مونث و مذکر نسبت CD30 مثبت به ترتیب ۸۵/۷ درصد (۲۴ نفر) و ۹۱/۹ درصد (۳۴ نفر) بود که به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p<0/86$).

بحث

این مطالعه نشان داد که مارکرهای سلولی CD15 و CD30 در تعداد زیادی از بیماران مبتلا به هوچکین کلاسیک مثبت است، به گونه‌ای که ۷۰ درصد بیماران دارای هر دو مارکر مذکور بوده و ۹۵ درصد بیماران حداقل یکی از این دو مارکر را داشتند. این یافته نشان می‌دهد که توجه به مارکرهای مذکور می‌تواند در تشخیص موارد مشکوک کمک کننده باشد. در این خصوص باید توجه کرد که نسبت موارد CD30 مثبت در مقایسه با CD15 مثبت بیشتر بوده و وجود آن در بیماران مشکوک به لنفوم هوچکین ارزش تشخیصی بیشتری دارد. البته باید توجه کرد که تعیین ارزش تشخیصی این مارکرها برای تشخیص لنفوم هوچکین منوط به بررسی فراوانی و نسبت آن در بیماران غیر مبتلا به لنفوم هوچکین بوده و در این صورت با تعیین حساسیت و ویژگی مارکرهای مذکور می‌توان در خصوص ارزش تشخیصی مارکرهای CD15 و CD30 اظهار نظر نمود.

مقایسه نتایج مطالعه ما با نتایج مطالعات قبلی تفاوت‌ها و شباهت‌هایی را نشان می‌دهد، به گونه‌ای که در مطالعه Hall نسبت موارد مثبت CD15 معادل ۸۰ درصد گزارش شده است (۸) که تقریبا مشابه نتیجه مطالعه ما بوده است. در مطالعه Rudiger نسبت موارد مثبت CD15 و CD30 به ترتیب ۷۵ درصد و ۹۵ درصد ذکر شده است (۹) که نسبت CD30 مثبت بیشتر از نسبت به دست آمده در مطالعه ما و نسبت CD15 مثبت مشابه مطالعه ما است. در مطالعه Liu و همکاران نسبت موارد مثبت CD15 و CD30 به ترتیب ۸۱ درصد و ۱۰۰ درصد ذکر شده است (۷) که از نتایج به دست آمده در مطالعه ما بیشتر است. آنچه در این مطالعات با نتایج مطالعه ما مشابه است، بالاتر بودن نسبت موارد CD30 مثبت در مقایسه با CD15 مثبت است. تفاوت‌های نتایج مطالعات دیگران با نتایج مطالعات ما می‌تواند به خطای آزمایشگاهی و تفاوت‌های نژادی و ماهیت سلول‌های بدخیم در بیماران نژادهای مختلف مربوط باشد. انجام مطالعات بیشتر در این خصوص کمک کننده است.

هدف فرعی مطالعه، بررسی رابطه ساب‌تایپ‌های لنفوم هوچکین با نسبت موارد مثبت CD15 و CD30 بود که با توجه به ناکافی بودن نمونه‌ها در ساب‌تایپ‌های لنفوم هوچکین امکان‌پذیر نبود.

موارد مثبت CD15 و CD30 با جنسیت و سن بیماران ارتباط معنی‌داری نداشت و در هر دو جنس و در گروه‌های سنی مختلف انتظار مشابهی از موارد مثبت CD15 و CD30 را خواهیم داشت.

اگر چه مطالعات بیشتر و با حجم نمونه بالاتر برای قضاوت در خصوص ارزش تشخیصی CD15 و CD30 برای تشخیص موارد لنفوم هوچکین ضروری است، لیکن نتایج این مطالعه حاکی از مفید بودن استفاده از مارکرهای مذکور در تشخیص لنفوم هوچکین است، خصوصاً در صورتی که از هر دو مارکر

برای تشخیص لنفوم هوچکین استفاده شود. همچنین لازم به ذکر است در مواردی از لنفوم هوچکین کلاسیک که CD30 مثبت و CD15 منفی است، احتمال لنفوم آناپلاستیک با سلول بزرگ وجود دارد، به خصوص اگر سلول‌های درشت تیپ Reed-Sternberg زیاد باشد. در این صورت لازم است از سایر مارکر ها از قبیل Clusterin، ALK-1 و Fascin نیز استفاده نمود.

تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بخاطر تشخیص ضرورت طرح و تأمین هزینه های اجرای آن صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نماییم. همچنین سپاس ویژه‌ای ازبیمارستان پارس و به ویژه مسئول آزمایشگاه جناب آقای دکتر بهروز شفقی داریم. بدیهی است بدون همکاری این آزمایشگاه انجام این تحقیق مقدور نبوده است.

REFERENCES

1. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster J. Robbins pathologic basis of diseases. 8th edition. New York: W.B. Saunders; 2010.
2. Ioachim HL, Medeiros LJ. Ioachim's lymph node pathology. 4th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009
3. Constine LS. Cured of Hodgkin lymphoma, but suffering a broken heart. Leuk Lymphoma 2008; 49:1433-35.
4. Hsu SM. The never ending controversies in Hodgkin's disease. Blood 1990; 75: 1742.
5. Hudson MM, Donaldson SS. Hodgkin's disease. In: Pizzo PA, Poplack DG, Eds. Principles and practice of pediatric oncology. 3rd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2003. p.523-43.
6. Howard SC, Metzger ML, Hudson MM. Pediatric Hodgkin lymphoma. In: Antillon FA, Bernaola E, Sierrasesumaga L, Eds. Pediatric oncology. Philadelphia: Pearson Education; 2006.
7. Liu Y, Zhuang H, Liao X, Luo X, Luo D, Cai X. Immunophenotype and differential diagnosis of Hodgkin's lymphoma. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi 2002 ; 23: 524-27.
8. Hall PA, D'Ardenne AJ. Value of CD15 immunostaining in diagnosing Hodgkin's disease: a review of published literature. J Clin Pathol 1987; 40: 1298-304.
9. Rüdiger T, Ott G, Ott MM, Müller-Deubert SM, Müller-Hermelink HK. Differential diagnosis between classic Hodgkin's lymphoma, T-cell-rich B-cell lymphoma, and paragranuloma by paraffin immunohistochemistry. Am J Surg Pathol 1998; 22: 1184-91.