Role of Immunomarkers in Diagnosis of Lung Carcinomas Using Small Lung Biopsies

Dr. Ali kamel daod*

(Received 26 / 9 / 2019. Accepted 31 / 10 / 2019)

□ ABSTRACT □

A small lung biopsy through the bronchi is considered the main method to diagnose most of lung carcinomas. It`s essential to identify the different types of primary and metastatic lung carcinomas in order to apply the appropriate chemical and targeted therapies which depend in their efficacy on the accurate diagnosis of the type of the tumors.

This study aims to determine the role of a selected group of immunohistochemical markers in confirming the diagnosis of primary lung carcinomas and distinguishing them from the metastatic ones.

The study was performed on 145 small pulmonary biopsies, taken from the archive of department of pathology at Tishreen University Hospitalin Lattakia. All biopsies were stained with H&E and diagnosed depending of the histologic and morphologic standards. Then the selected immunohistochemical stainings (P63 / p40, CD56, Chromogranin A, TTF1, Napsin-A, CK7, CK5 / 6, Desmoglin-3) were applied. The histomorphologic features were approached with the results of immunohistochemistry .

The study showed that confirming the diagnosis of lung cancers requires the application of appropriate immunological markers, especially the poorly differentiated tumors. The compination of TTF1 with Napsin-A increased the diagnostic accuracy of adenocarcinoma from 75% to 95% . Furthermore, the combination of Desmoglin-3, with P63/P40 confirms thediagnosis of squamous cell carcinoma .Nonsmall cell lung carcinomas are a heterogeneous group that includes different tumors, which are distinguished with immunohistochemical markers

Key words : Bronchial biopsy, lung carcinoma, immunological markers

* **Assistaent Faculty of Medicine, Tishreen University. Syria**

دور الواسمات المناعية في تشخيص سرطانات الرئة بالخزعة التنظيرية الصغيرة عبر القصبات

الدكتور علي كامل داود*

(تاريخ الإيداع 26 / 9 / 2019. قُبِل للنشر في 31 / 10 /2019)

□ ملخّص □

تعتبر الخزعة الرئوية الصغيرة التنظيرية عبر القصبات هي الوسيلة الرئيسية لتشخيص معظم سرطانات الرئة. تمييز مختلف أنماط السرطانات الرئوية البدئية والنقيلية مهم من أجل تطبيق المعالجة الكيميائية والعلاجات الهدفية التي يتوقف نجاحها على تحديد النمط الخلوي للورم بدقة.

تهدف الدراسة تحديد دور مجموعة انتقائية من الواسمات المناعية في تأكيد تشخيص السرطانات الرئوية البدئية وتمييزها عن النقائل.

أجريت الدراسة على 145 خزعة رئوية صغيرة من ارشيف مخبر التشريح المرضي في مشفى تشرين الجامعي باللاذقية. شخصت جميع العينات بالاعتماد على المعايير النسيجية والمورفولوجية وبطريقة التلوين الروتيني بـ H&E ، ثم طبقت الواسمات المناعية المنتقاة P63/p40, CD56, Chromogranin A, TTF1, Napsin-A, CK7,CK5/6, Desmoglin-3 . تمت مقاربة العلامات المورفولوجية النسيجية لكل ورم مع نتائج الواسمات المناعية.

بينت الدراسة أن تأكيد تشخيص سرطانات الرئة يتطلب تطبيق الواسمات المناعية المناسبة وخاصة الحالات القليلة التمايز. ترفع مشاركة TTF1, مع Napsin-A دقة تشخيص السرطان الغدي الرئوي من 75% إلى 95% ، وأن مشاركة Desmoglin-3 مع P63/p40, تؤكد تشخيص السرطان شائك الخلايا. المجموعة المسماة سرطانات غير صغيرة الخلايا هي مجموعة متغايرة تضم أوراما مختلفة يتم تمييزها بواسطة الواسمات المناعية.

الكلمات المفتاحية: الخزعة التنظيرية، سرطانه الرئة، الواسمات المناعية

* **مدرس – كلية الطب – قسم التشريح المرضي – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية**

مقدمة :

سرطانات الرئة هي من أكثر السرطانات شيوعا عند البشر . هي المسبب الأول للموت بالسرطان عند الرجال والمسبب الثاني عند النساء بعد سرطان الثدي[3,1] . أكثر ماتحصل سرطانات الرئة في الفئة العمرية 40 – 70 سنة [1].

بالاعتماد على الميزات المجهرية تتدرج سرطانات الرئة تحت مجموعتين رئيسيتين – السرطانات غير صغيرة الخلايا Nonsmall cell carcinomas (NSCC) والسرطانات صغيرة الخلايا (Small cell carcinomas(SCC .

تشكل المجموعة الأولى 85 % من سرطانات الرئة البدئية وتضم السرطان شائك الخلايا والسرطان الغدي والسرطان كبير الخلايا. المجموعة الثانية هي السرطانات صغيرة الخلايا وتشكل 15 % من مجمل سرطانات الرئة البدئية . تتبع الأورام العصبية الغدية الصماوية Neuroendocrine tumors لكل من المجموعتين السابقتين وتضم السرطان صغير الخلايا والكارسينوئيد النموذجي Typical carcinoid والكارسينوئيد اللانموذجي Atypical carcinoid والسرطان العصبي الغدي الصماوي كبير الخلايا Large cell neuroendocrine tumor [2,4,5,7] .

تنشأ السرطانات الغدية من الظهارة التنفسية أو الغدية ، تمثل 30% من مجمل سرطانات الرئة البدئية ، تأخذ أنماط نسيجية متعددة – الشكل العنبي ، الحليمي ، القصيبي السنخي ، المصمت ، المنتج للمخاط ، المختلط. يتميز السرطان الغدي بوجود تشكلات غدية ، فجوات سيتوبلازمية مخاطية ، نواة حويصلية ، نويات واضحة[3 ,14,12].

تنشأ السرطانات شائكة الخلايا على حساب الظهارة التنفسية التي تعرضت مسبقا لحؤول شائك الخلايا ، تشكل السرطانات الشائكة الخلايا حوالي 30% من مجمل سرطانات الرئة البدئية ، تضم تحت نماذج نسيجية شكلية – صغير الخلايا ، حليمي ، شبه قاعدي . يتميز السرطان شائك الخلايا بوجود الجسور الشوكية بين الخلايا واحتواء السيتوبلازما على الكيراتين [12,9,13].

السرطان كبير الخلايا غير المتمايز هو سرطان ظهاري شديد الخبيث سيء التمايز يفتقر لوجود العلامات المجهرية الغدية أو الشائكة . يأخذ السرطان كبير الخلايا عدة أشكال ، غدي صماوي ، شبه قاعدي الخلايا ، نير الخلايا ، شبه لمفاوي بشروي ، مختلط ، وهو يظهر غالبا كورم كبير متنخر. يتميز نسيجيا بحقول أو أعشاش خلوية ذات أشكال مضلعة ونوى حويصلية ونويات واضحة، انقسامات غزيرة ، بؤر نخرية [1 ,10].

السرطان صغير الخلايا هو أكثر السرطانات العصبية الغدية الصماوية انتشارا . حسب تعريف WHO هو ورم ظهاري عالي الدرجة مكون من خلايا صغيرة فقيرة بالسيتوبلازما وحدود خلوية غير واضحة ونوى ذات كروماتين حبيبي ناعم ونويات غير واضحة . الخلايا ذات أشكال دائرية أو بيضوية أو مغزلية ، الانقسامات غزيرة مع وجود نخر واضح [13,12,10.8,7].

الورم السرطاوي النموذجي حسب تعريف WHO هو ورم عصبي غدي صماوي دون وجود انقسامات أكثر من 2 /10 ساحات مجهرية ودون وجود نخر . يتميز بخلايا دائرية الشكل ذات نوى نظامية ذات كروماتين حبيبي ونويات غير واضحة ، السيتوبلازما وفيرة نسبيا قاعدية التلون تتجمع الخلايا بأشكال عديدة – حبلي، زهيرات ، شبه قاعدي [14,12,7,8,7].

الورم السرطاوي اللانموذجي هو ورم عصبي غدي صماوي ذو ميزات الورم السرطاوي مع وجود انقسامات أكثر من 2 / 10 ساحات مجهرية أو مع وجود نخر واضح [9,22,18].

السرطان العصبي الغدي الصماوي كبير الخلايا سرطان عالي الدرجة يتميز بوجود خلايا كبيرة، أكبر بثلاث مرات من الخلايا اللمفاوية الصغيرة ، الخلايا مضلعة الشكل ذات نسبة نووية سيتوبلازمية قليلة، السيتوبلازما محبة للحمض تحتوي حبيبات ناعمة . النوى ذات كروماتين خشن والنويات واضحة ، الانقسامات أكثر من 10 /10 ساحات مجهرية [12,13,14,15, 10] . 70% من سرطانات الرئة لاتكتشف إلا في المراحل المتقدمة حيث لايمكن عندها تطبيق العلاج الجراحي ، لهذا تعتبر الخزعة التنظيرية الصغيرة هي الوسيلة الرئيسية لتشخيص معظم سرطانات الرئة[9] .

السرطانات قليلة التمايز سواء أكانت شائكة أم غدية ، أو الأورام ذات الأشكال الخاصة تفتقر لوجود العلامات الخلوية المميزة للتشخيص بالاعتماد على التلوين الروتيني بالهيماتوكسيلين إيوزين H&E[1] .

كثيرا من الأورام النقيلية من مصادر مختلفة تكون مورفولوجيا مشابهه لسرطانات الرئة البدئية، كذلك أورام الجنبة تشابه في بعض أشكالها الى حد كبير أورام الرئة الشائكة أو الغدية [3,7 ,1,].

عندما لاتكون الميزات الخلوية واضحة خاصة في الأشكال قليلة التمايز ، أوعندما تكون الخزعة التنظيرية صغيرة فقيرة بالنسيج يكون وضع التشخيص المجهري بالاعتماد على التلوين H&E صعبا جدا أو حتى مستحيلا [8,12 ,].

عندما يتعذر تأكيد التشخيص بتلوين H&E يتم اللجوء الى الواسمات المناعية النسيجية لتحديد النمط الخلوي للورم ووضع التشخيص الدقيق[1,8,9,6,3] .

تحديد نوع الورم بدقة مهم جدا من أجل تطبيق العلاج الكيميائي والعلاجات الهدفية وتحديد انذار الورم [1].

يمكن تمييز النماذج الخلوية لأورام الرئة باستعمال مجموعة انتقائية من الواسمات المناعية النسيجية تشمل Thyroid transcription factor-1 (TTF1), Napsin , Cytokeratin 7 (CK7) , Cytokeratin5/6 (CK5/6) , Desmoglin-3 , P63/P40 , CD56 , Chromogrania A

TTF1 : بروتين ينظم انتساخ الجينات النوعية لخلايا الدرق والرئة ، يوجد في الخلايا السنخية نموذج II وخلايا Clara في النسيج الرئوي وفي الخلايا الجريبية والخلايا نظيرة الجريبية في الدرق . يستخدم Anti TTF1 كواسم لتحديد ماإذا كان الورم من أصل رئوي أو درقي ، يفيد في تمييز السرطان الغدي الرئوي البدئي عن النقائل وعن الميزوتليوما ويميز السرطان صغير الخلايا عن الارتشاح اللمفاوي ، نمط التلون نووي ، إيجابي على 85% من سرطانات الرئة الغدية [10].

Napsin A يوجد في النسيج الرئوي والنسيج الكلوي Anti–Napsin A يفيد في تشخيص سرطانات الرئة الغدية . نمط التلوين سيتوبلازمي ايجابي على 75% من سرطانات الرئة الغدية[1].

Cytokeratins هي خيبطات كيراتينية توجد في السيتوبلازما ، تشكل الهيكل الخلوي للخلايا الظهارية يوجد نموذجين رئيسيين منها نموذج I نمط حامضي خفيف الوزن الجزيئي ، ونموذج II نمط قاعدي عالي الوزن الجزيئي [11].

Cytokeratin 5&6 (CK5/6) : CK5 كيراتين قاعدي عالي الوزن الجزيئي ، يوجد في الظهارة المطبقة والظهارة الانتقالية البولية والظهارة المصلية. CK6 أنموذج من الكيراتين القاعدي عالي الوزن الجزيئي يوجد في الظهارة الحرشفية المتكاثرة . Anti–CK5/6 إيجابي في 100% من الميزوتيليوما الخبيثة ونادرا في الأورام الغدية . يمكن أن يكون إجابي في السرطان كبير الخلايا الغير متمايز والسرطان الحرشفي ، نمط التلون سيتوبلازمي [1].

CK7 نمط من الكيراتين يتواجد في أغلب الظهارات القنوية والغدية والانتقالية الخلايا . Anti–CK7 يلون الأورام الغدية الرئوية والثدي والمبيض والظهارة البولية [1] .

P40 : ذو نوعية عالية للخلايا الحرشفية والقاعدية ، يفيد في كشف السرطان شائك الخلايا وهو أكثر نوعية من P63 لأنه سلبي دائما علي الأورام الغدية الرئوية [1].

P63 : جين مهم في تطور وتمايز الخلايا الظهارية[1].

CD56 : جزيء التصاق للخلايا العصبية Anti–CD56 يلون الخلايا العصبية والغدية الصماوية العصبية وخلايا السرطان صغير الخلايا [1].

Chromogranin–A عنصر من البروتينات الغدية الصماوية Anti– ChromograninA واسم جيد للكارسينوئيد والأورام الغدية الصماوية[9, 1].

Desmoglin–3 بروتين يرمز من قبل المورثة DSG–3 وهو بروتين سكري غشائي مرتبط بالكالسيوم يوجد في الخلايا الظهارية . Anti–Desmoglin–3 واسم جيد ونوعي للسرطان شائك الخلايا في الرئة ويميزه عن السرطان الغدي[1].

جدول رقم (1) يبين العلامات النسيجية والخلوية لسرطانات الرئة البدئية

نوع الورم	العلامات النسيجية والخلوية
السرطانات الغدية	تشكلات غدية ، فجوات سيتوبلازمية مخاطية ، نواة حويصلية ، نويات واضحة.
الشائكة الخلايا	لآلىء قرنية ، كيراتين ضمن اسيتوبلازما ، جسور شوكية بين الخلايا.
الكبيرة الخلايا	حقول أو أعشاش خلوية ، خلايا كبيرة مضلعة الشكل ، نوى حويصلية ، نويات واضحة ، انقسامات غزيرة ، بؤر نخرية .
الصغيرة الخلايا	خلايا صغيرة فقيرة بالسيتوبلازما ذات أشكال بيضوية أو دائرية أو مغزلية، حدود خلوية غير واضحة ، النوى ذات كروماتين حبيبي ناعم ، نويات غير واضحة ، انقسامات غزيرة ، نخر واضح.
السرطاوي النموذجي	خلايا دائرية الشكل وفيرة السيتوبلازما قاعدية التلون ، نوى نظامية الشكل ذات كروماتين حبيبي ، نويات غير واضحة ، تتجمع الخلايا بشكل حبلي أو شبه زهيرات أو شبه قاعدي.
السرطاوي اللانموذجي	نفس صفات الورم السرطاوي النموذجي + النخر والانقسامات أكثر من 10 في 10 ساحات

أهمية البحث وأهدافه:

نظرا لأهمية تحديد الأنماط الخلوية لسرطانات الرئة من أجل تطبيق المعالجة الكيميائية والعلاجات الهدفية الحديثة ، هدفت دراستنا تحديد المعايير النسيجية الخلوية الدقيقة وتطبيق جدول انتقائي من الواسمات المناعية لتأكيد تشخيص مختلف نماذج سرطانات الرئة البدئية وتمييزها عن النقائل.

طرائق البحث ومواده :

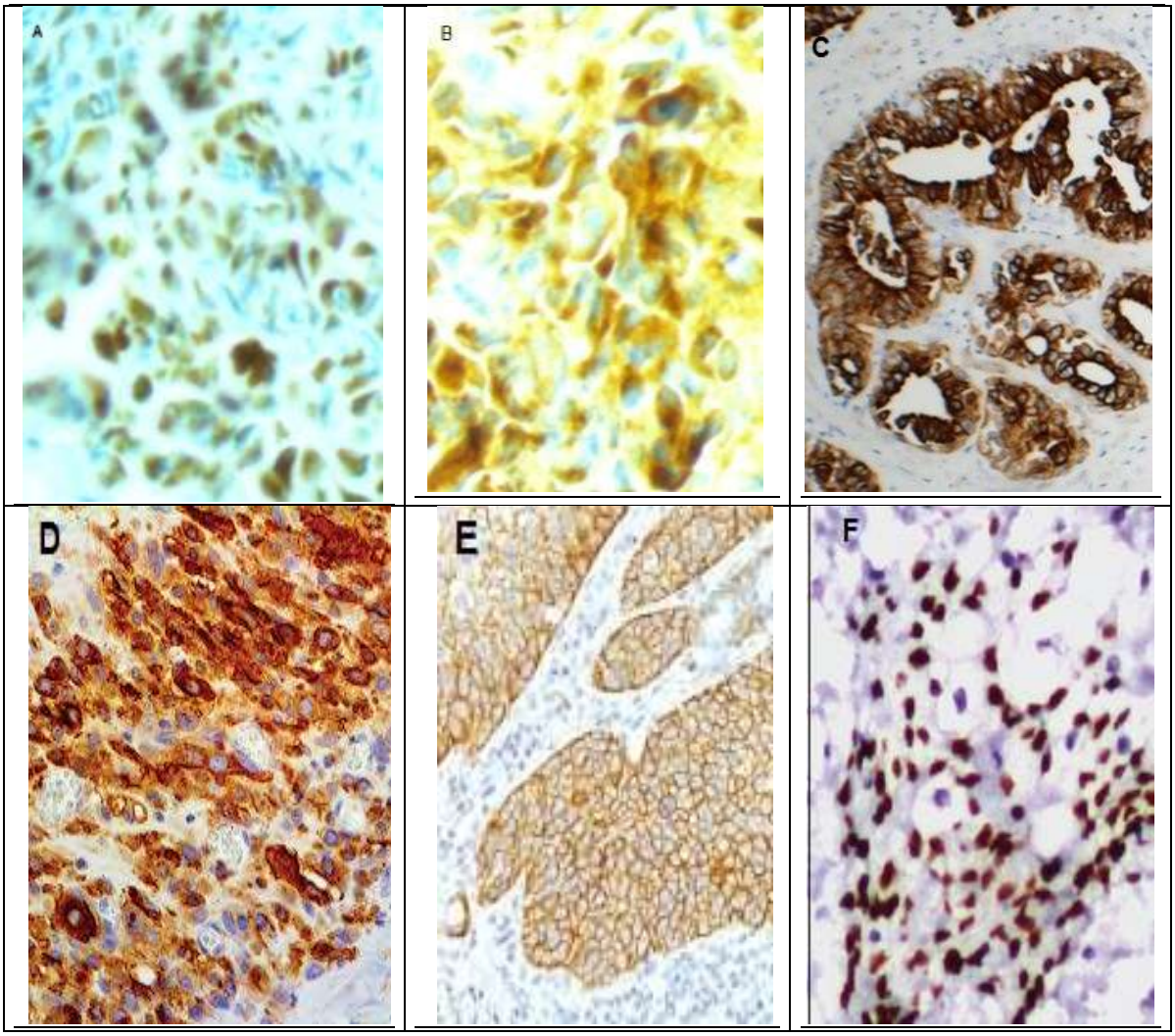
أجريت الدراسة على 244 خزعة رئوية صغيرة مأخوذة بالتنظير عبر القصبات كانت قد وردت الى مخبر التشريح المرضي في مستشفى تشرين الجامعي خلال الفترة الزمنية بين 1 /6 / 2015 و30 /6 / 2019

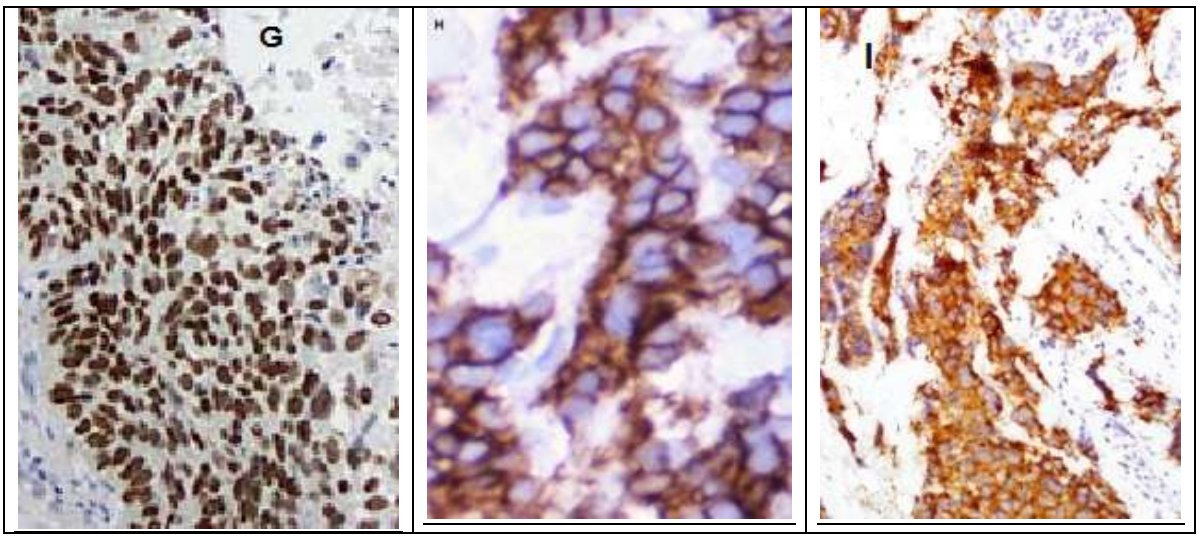
ثبت العينات بالفورمالين 10 % وحضرت منها مقاطع نسيجية بالطرق الروتينية المعتادة ولونت بالهيماتوكسيلين – إيوزين H&E ، درست جميع العينات بالمجهر الضوئي وشخصت بالاعتماد على العلامات النسيجية والخلوية المدرجة في الجدول رقم (1).

صنفت العينات الى ثلاث مجموعات حسب التشخيص– ورمية ، مشتبهه ، غير ورمية أو غير كافية للدراسة واستبعدت الحالات غير الورمية والغير مناسبة للدراسة وعددها 99 حالة . الحالات الورمية والمشتبهة عددها 145 حالة تمت دراستها بدقة بالاعتماد على المعايير النسيجية والخلوية المدرجة في الجدول (1) .

تم اجراء مقاطع نسيجية من الحالات الورمية والمشتبهه ولونت بمجموعة انتقائية من الواسمات المناعية النسيجية تضم TTF1, Napsin , CK7 , CK5/6 ,Desmoglin–3 , P40 , Chromogranin–A , CD56

تم ارفاق كونترول ايجابي مع كل واسم أثناء اجراء التلوينات المناعية لكل الحالات شكل رقم (1)





شكل رقم (1) يبين التلوينات المناعية للكونترول المستخدم لكل واسم , D-CK5&6 , A-TTF1, B-Napsin-A , C- CK7
E – Desmoglin3 , F – P63 ,G – P40 H – CD56 , I – ChromograninA

النتائج والمناقشة:

النتائج

لدى اجراء الفحص بالمجهر الضوئي والتلوين بـ H&E وبالاعتماد على المعايير النسيجية والخلوية المذكورة بالجدول رقم (1) شخصت 29حالة سرطان غدي و 23 حالة سرطان شائك الخلايا و6 حالات سرطان كبير الخلايا غير متمايز و 18 حالة سرطان صغير الخلايا و20 حالة سرطان قليل التمايز و7 حالات ورم سرطاوي نموذجي و4 حالات ورم سرطاوي لانموذجي وبقيت 18 حالة تفتقر لوجود العلامات المميزة للتشخيص وضعت تحت تشخيص مبدئي سرطانات غير صغيرة الخلايا دون امكانية تحديد الأنموذج الورمي جدول رقم (2)

جدول رقم (2) يبين توزع الحالات حسب التشخيص المورفولوجي ونسبها المئوية .

التشخيص	العدد	النسبة المئوية
سرطان غدي	29	20%
سرطان شائك الخلايا	23	15.8%
سرطان كبير الخلايا	6	4.1%
سرطان صغير الخلايا	18	12.4%
ورم سرطاوي نموذجي	10	6.89%
ورم سرطاوي لانموذجي	3	2.2%
سرطان غير صغير الخلايا	38	26.2%
سرطان سيء التمايز	18	12.4%
المجموع	145	100%

عند تطبيق الواسمات المناعية على المجموعة التي شخصت سرطانات غدية وعددها 29 حصلنا على النتائج المبينة في الجدول رقم (3) .

جدول رقم (3) يبين نتائج الواسمات المناعية على المجموعة التي شخصت مورفولوجيا سرطانات غدية.

رقم العينة	TTF1	Napsin	CK7	CK5/6	P40/P63	Desmoglin	Chromogranin	CD56
1	+	−	+	−	−	−	−	−
2	−	+	+	−	−	−	−	−
3	−	−	−	+	+	+	−	−
4	+	+	+	−	−	−	−	−
5	+	+	+	−	−	−	−	−
6	−	+	+	−	−	−	−	−
7	+	+	+	−	−	−	−	−
8	−	−	+	−	−	−	−	−
9	+	+	+	−	−	−	−	−
10	+	+	+	−	−	−	−	−
11	+	+	+	−	−	−	−	−
12	−	−	−	+	−	−	−	−
13	−	−	+	+	+	−	−	−
14	+	+	+	−	−	−	−	−
15	−	−	−	+	+	+	−	−
16	−	−	+	+	−	−	−	−
17	+	+	+	−	−	−	−	−
18	+	+	+	−	−	−	−	−
19	−	+	+	−	−	−	−	−
20	−	−	−	+	+	+	−	−
21	−	+	+	−	−	−	−	−
22	+	−	+	−	−	−	−	−
23	−	−	+	−	−	−	−	−
24	+	+	+	−	−	−	−	−

25	−	−	−	−	−	−	−	−
26	−	−	+	+	+	−	−	−
27	−	−	−	−	−	+	−	−
28	+	−	−	−	−	+	−	−
29	−	−	−	−	−	+	−	−

عند تطبيق الواسمات المناعية على العينات التي شخصت سرطانات شائكة الخلايا وعددها 23 حصلنا على النتائج كما هي مدونة في الجدول رقم (4) .

جدول رقم (4) يبين نتائج الواسمات المناعية التي طبقت على المجموعة التي شخصت مورفولوجيا سرطانات شائكة الخلايا .

رقم العينة	TTF1	Napsin	CK7	CK5/6	P40/P63	Desmo-glin-3	Chromog-ranin-A	CD56
1	−	−	−	+	+	+	−	−
2	−	−	−	+	+	+	−	−
3	−	−	−	+	+	+	−	−
4	−	−	−	+	+	+	−	−
5	−	−	−	+	+	+	−	−
6	+	−	+	−	−	−	−	−
7	−	−	+	+	−	−	−	−
8	−	−	−	+	+	+	−	−
9	−	−	−	+	+	+	−	−
10	+	+	+	−	−	−	−	−
11	−	−	−	+	+	+	−	−
12	−	−	−	+	+	+	−	−
13	−	−	−	+	+	+	−	−
14	−	−	−	+	+	+	−	−
15	−	−	−	+	+	+	−	−
16	−	−	−	+	+	+	−	−
17	−	+	+	−	−	−	−	−
18	−	−	−	+	+	+	−	−
19	−	−	+	+	−	−	−	−

20	−	−	−	+	+	+	−	−
21	−	−	−	+	+	+	−	−
22	−	−	−	+	+	+	−	−
23	−	−	−	+	+	+	−	−

عند تطبيق الواسمات المناعية على العينات التي شخصت مورفولوجيا سرطان كبير الخلايا غير متمايز كانت النتائج كماهي مدونة في الجدول رقم (5) .

جدول رقم (5) يبين نتائج التلوينات المناعية على المجموعة التي شخصت مورفولوجيا سرطانات كبيرة الخلايا

رقم العينة	TTF1	NapsinA	CK7	CK5/6	P40	Desmoglin3	Chromogranin	CD56
1	−	+	+	−	−	−	−	−
2	+	+	+	−	−	−	−	−
3	−	−	+	−	−	−	−	−
4	−	−	+	−	−	−	+	+
5	−	−	−	−	−	−	−	−
6	−	−	−	−	−	−	−	−

عند تطبيق الواسمات المناعية على العينات التي شخصت سرطان صغير الخلايا وعددها 18 حالة كانت النتائج كما هي مدونة في الجدول رقم (6).

جدول رقم (6) يبين نتائج التلوينات المناعية على المجموعة التي شخصت مورفولوجيا سرطان صغير الخلايا.

رقم العينة	TTF1	NapsinA	CK7	CK5/6	P40	Desmoglin3	Chromogranin	CD56
1	+	−	+	−	−	−	+	+
2	−	−	−	−	−	−	−	−
3	+	−	+	−	−	−	+	+
4	+	−	+	−	−	−	+	+
5	+	−	+	−	−	−	+	+
6	−	−	−	−	−	−	−	−
7	+	−	+	−	−	−	+	+
8	+	−	+	−	−	−	+	+

9	+	−	+	−	−	−	+	+
10	+	−	+	−	−	−	+	+
11	−	−	+	−	−	−	−	−
12	+	−	+	−	−	−	+	+
13	+	−	+	−	−	−	+	+
14	−	−	+	−	−	−	+	+
15	−	−	−	−	−	−	−	−
16	+	−	+	−	−	−	+	+
17	+	−	+	−	−	−	+	+
18	−	−	−	−	−	−	−	−

عند تطبيق الواسمات المناعية على العينات التي شخصت ورم سرطاوي أنموذجي وعددها 10 حالات كانت النتائج كما هي مدونة في الجدول رقم (7) .

جدول رقم (7) يبين نتائج التلوينات المناعية على الحالات التي شخصت ورم سرطاوي نموذجي وعددها 10 حالات

رقم العينة	TTF1	Napsin	CK7	CK5/6	P40	Desmoglin	Chromogranin	CD56
1	−	−	+	−	−	−	+	+
2	−	−	+	−	−	−	+	+
3	−	−	−	−	−	−	−	−
4	−	−	−	−	−	−	−	−
5	−	+	+	−	−	−	−	−
6	−	−	+	−	−	−	−	−
7	+	−	+	−	−	−	+	+
8	−	−	−	+	−	−	−	−
9	+	−	+	−	−	−	+	+
10	−	−	+	−	−	−	−	−

عند تطبيق الواسمات المناعية على العينات التي شخصت ورم سرطاوي لاأنموذجي الخلايا كانت النتائج كما هي مدونة في الجدول رقم (8) .

جدول رقم (8) يبين نتائج التلوينات المناعية على الحالات التي شخصت ورم سرطاوي لانموذجي وعددها 4 حالات

رقم العينة	TTF1	Napsin	CK7	CK5/6	P40	Desmoglin	Chromogranin	CD56
1	+	−	+	−	−	−	+	+
2	+	−	+	−	−	−	+	+
3	−	−	+	−	−	−	+	+
4	+	−	+	−	−	−	−	−

عند تطبيق الواسمات المناعية على العينات التي شخصت سرطان غير صغير الخلايا كانت النتائج كما هي مدونة في الجدول (9).

جدول رقم (9) يبين نتائج التلوينات المناعية على الحالات التي شخصت سرطانات غير صغيرة الخلايا وعددها 38 حالة .

رقم العينة	TTF1	Napsin	CK7	CK5/6	P40	Desmoglin	Chromogranin	CD56
1	+	+	+	−	−	−	−	−
2	+	−	+	−	−	−	−	−
3	−	+	+	−	−	−	−	−
4	−	−	−	+	+	−	−	−
5	−	−	−	+	−	+	−	−
6	−	−	−	−	+	+	−	−
7	+	−	+	−	−	−	−	−
8	+	+	+	−	−	−	−	−
9	−	−	−	+	+	+	−	−
10	+	+	+	−	−	−	−	−
11	−	+	+	−	−	−	−	−
12	−	+	+	−	−	−	−	−
13	−	−	−	+	+	+	−	−
14	−	+	+	−	−	−	−	−
15	−	−	−	+	+	−	−	−
16	−	−	−	+	+	+	−	−
17	−	+	+	−	−	−	−	−

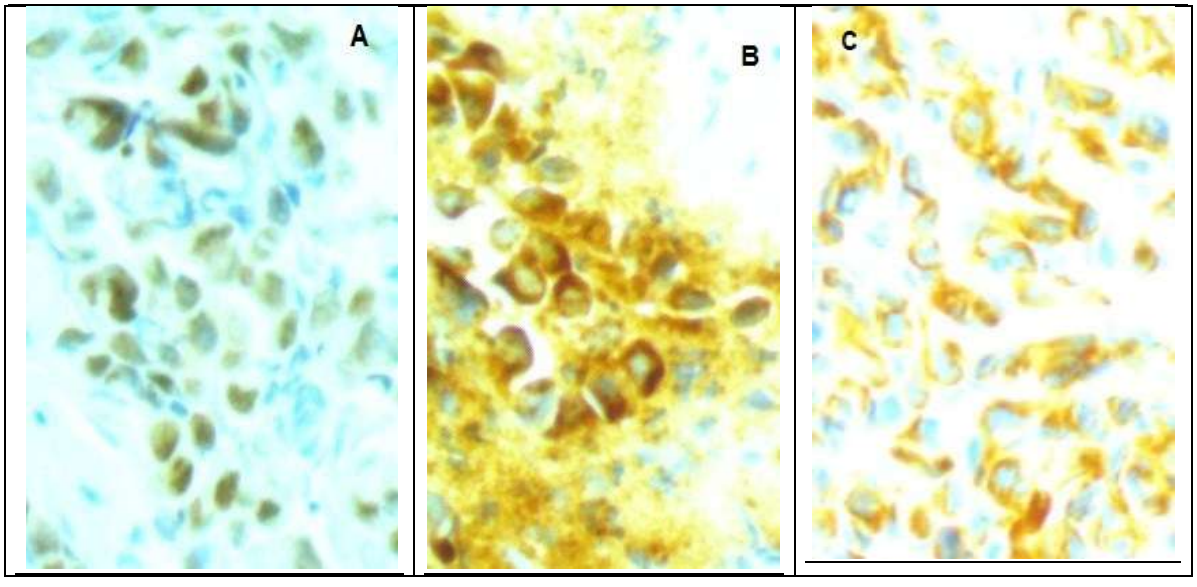
18	−	−	+	+	+	−	−	−
19	−	−	+	−	+	−	−	−
20	−	−	+	+	+	−	−	−
21	−	−	+	+	−	−	−	−
22	+	+	−	−	−	+	+	−
23	−	−	−	−	−	+	−	−
24	+	−	−	−	−	−	−	+
25	−	−	−	−	+	−	−	−
26	−	−	−	−	−	−	+	−
27	−	−	+	−	+	−	−	−
28	+	−	−	−	−		−	−
29	−	−	−	−	−	−	+	−
30	−	+	−	−	−	−	−	−
31	−	−	−	−	−	−	+	−
32	+	−	−	−	−	−	−	−
33	−	−	−	−	−	−	−	−
34	−	−	−	−	−	+	−	−
35	−	−	−	−	−	−	−	−
36	−	−	+	+	+	−	−	−
37	+	+	−	−	−	+	+	−
38	−	+	−	−	−	+	−	−

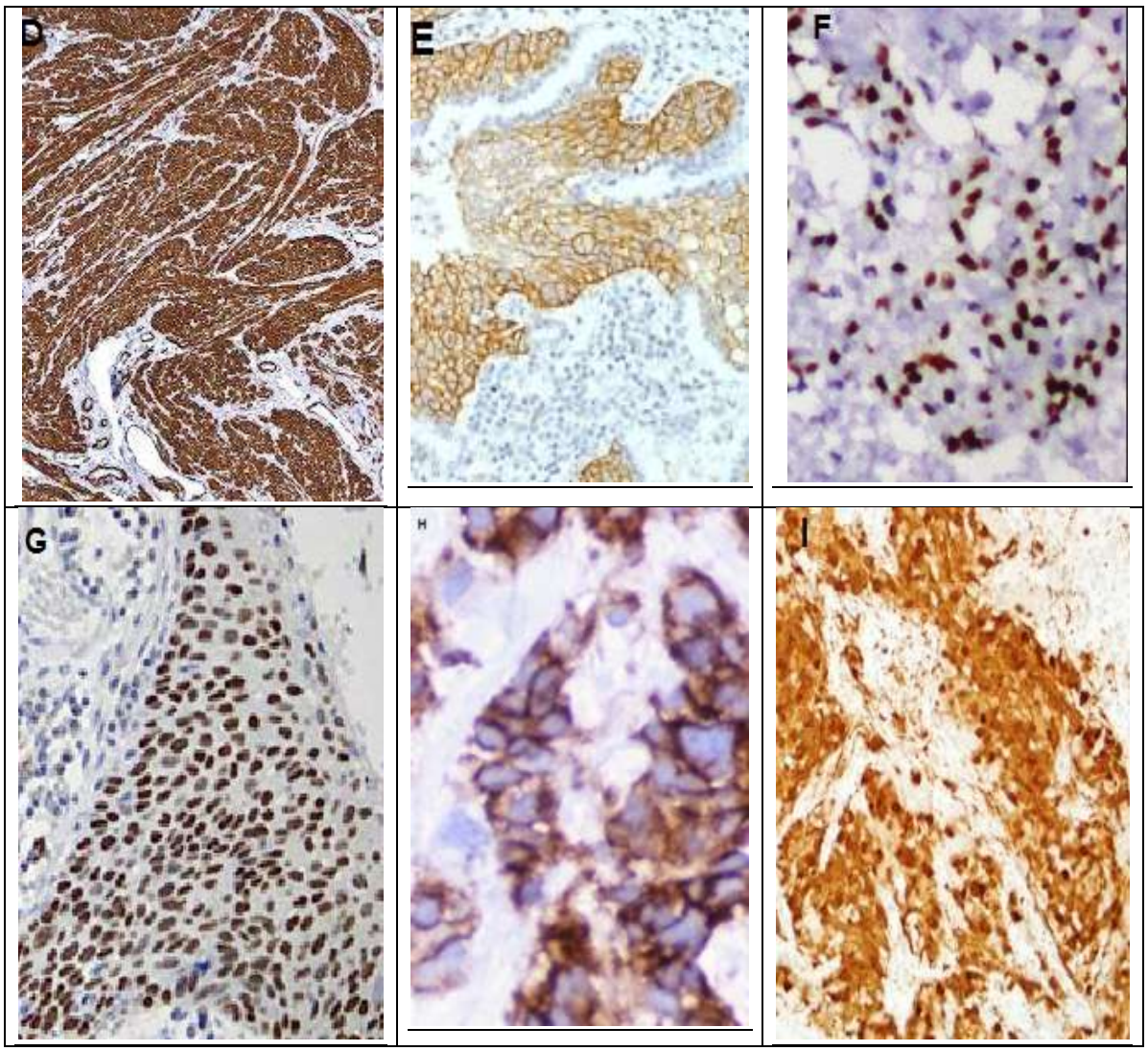
عند تطبيق الواسمات المناعية على العينات التي شخصت سرطانات سيئة التمايز وعددها 18 حالة كانت النتائج كما هي مدونة في الجدول (10).

جدول رقم (10) يبين نتائج التلوينات المناعية على الحالات التي شخصت سرطانات سيئة التمايز وعددها 18 حالة

رقم العينة	TTF1	Napsin	CK7	CK5/6	P40	Desmoglin	Chromogranin	CD56
1	−	−	+	+	+	+	−	−
2	+	−	+	−	−	−	−	−
3	−	−	−	+	+	+	−	−

4	−	−	−	+	+	+	−	−
5	−	−	−	+	+	+	−	−
6	−	−	−	−	+	+	−	−
7	−	−	+	−	−	−	+	−
8	+	+	+	−	−	−	+	−
9	−	−	+	+	+	−	+	−
10	−	−	−	+	+	+	−	−
11	−	−	+	−	−	−	+	−
12	+	−	−	−	−	−	+	−
13	+	−	−	−	−	−	+	−
14	+	−	−	−	−	−	+	−
15	−	−	−	−	−	−	+	−
16	−	−	−	−	+	+	−	−
17	+	+	+	−	−	−	−	−
18	−	−	−	−	−	−	+	−





شكل رقم (2) يبين نتائج التلوينات المناعية F ، Desmoglin3 D–CK5&6 ، A–TTF1, B–Napsin–A , C– CK7 ، – P63 ,G – P40 H – CD56 , I – ChromograninA E–

المناقشة

لدى دراسة نتائج التلوينات المناعية على المجموعة الأولى التي شخصت نسيجيا سرطانات غدية وعدها 29 حالة تبين وجود 10 حالات (TTF1+ Napsin + CK7+) وسلبية على بقية الواسمات ، و 13 حالة كانت (CK7+, Napsin–, TTF1+) وسلبية على بقية الواسمات ، و 14 حالة (CK7+, Napsin+, TTF1–) . كذلك نلاحظ وجود 17 حالة إيجابية على أحد الوسمين TTF1 أو Napsin على الأقل . جميع هذه الحالات تأكد تشخيصها سرطانات غدية.

5 حالات كانت (CK7+, Napsin–, TTF1–) هذه النتيجة توجه نحو تشخيص سرطانات غدية نقيلية. حالتان ذات مظهر نسيجي لسرطانات غدية رئوية ولكنها (CK7+, Napsin–, TTF1–) .

4 حالات كانت (CK7–, Napsin–, TTF1–) وإيجابية على واسمات Desmoglin , P40 , CK5/6 هذا يؤكد تشخيصها سرطانات شائكة الخلايا وليست غدية كانت قد شخصت خطا سرطانات غدية.

لدى تحليل نتائج المجموعة الثانية المشخصة سرطانات شائكة الخلايا بالاعتماد على العلامات النسيجية والخلوية وعددها 23 حالة تبين وجود 3 حالات ذات (TTF1/Napsin+ ,CK7+) وسلبية على بقية الواسمات هذا يؤكد تشخيصها سرطانات غدية وليست شائكة الخلايا. حالة واحدة كانت + CK5/6 وسلبية على بقية الواسمات هذا يوجه لأصل الورم غير رئوي. الحالات الباقية وعددها 19 حالة كانت (+ CK5/6 , P40+ , Desmoglin+) يؤكد هذا تشخيصها سرطانات شائكة الخلايا .

لدى دراسة نتائج التلوينات المناعية على المجموعة الثالثة التي كانت مشخصة سرطانات كبيرة الخلايا غير متمايزة وعددها 6 حالات . كانت اثنتان منها إيجابية على TTF1 وعلى Napsin وإجابية ضعيفة على CK7 تؤكد هذه النتائج تشخيصها سرطانات غدية . الأربعة الباقية كانت سلبية على كل الواسمات ماعدى ايجابية ضعيفة على TTF1 يوجه هذا نحو تشخيصها سرطانات كبيرة الخلايا غير متمايزة ولكن بعد نفي احتمالات النقائل بتطبيق واسمات متممة ليست ضمن موضوع هذا البحث.

لدى دراسة نتائج التلوينات المناعية على المجموعة الرابعة التي كانت مشخصة نسيجيا سرطانات صغيرة الخلايا وعددها 18 حالة. تبين وجود 13 حالة +CD56 مع ايجابية متفاوتة علىChromogranin و CK7 و TTF1. هذه النتائج تؤكد تشخيصها سرطانات صغيرة الخلايا. بينما كانت الخمسة الباقية سلبية على CD56 و الـ Chromogranin وكذلك على بقية الواسمات، يتطلب تشخيصها اجراء واسمات متممة.

لدى دراسة نتائج التلوينات المناعية على المجموعة الخامسة التي كانت قد شخصت نسيجيا ورم سرطاوي أنموذجي وعددها 10 حالات ، تبين وجود 5 حالات +CD56 , +Chromogranin بينما كانت سلبية على بقية الواسمات ، تؤكد هذه النتائج تشخيصها ورم سرطاوي . بينما كانت الخمس حالات الباقية سلبية على الواسمين المذكورين وعلى بقية الواسمات باستثناء واحدة كانت +CK7 يستدعي تشخيصها المزيد من الواسمات والدراسة.

لدى دراسة نتائج التلوينات المناعية على المجموعة السادسة التي كانت قد شخصت نسيجيا ورم سرطاوي لاأنموذجي وعددها ثلاث حالات تبين أن اثنتان منها كانت +CK56 , +Chromogranin تأكد تشخيصها ورم سرطاوي . الحالة الباقية كانت سلبية على كل الواسمات .

لدى دراسة التلوينات المناعية على المجموعة السابعة التي كانت قد شخصت نسيجيا سرطانات غير صغيرة الخلايا NSCLC وعددها 38 حالة تبين وجود أربع حالات (+CK7, +Napsin, +TTF1) و خمسة حالات (+TTF1 +CK7+, Napsin−,) و أربع حالات (+CK7, +Napsin, −TTF1) وسلبية على بقية الواسمات ، هذه الحالات ومجموعها 13 حالة تأكد تشخيصها بهذه النتائج سرطانات غدية رئوية بدئية . 20 حالة كانت نتائجها (Desmoglin+ , CK5/6+, P40/P63+ أكدت هذه النتيجه تشخيصها سرطانات شائكة الخلايا . حالتان كانت ايجابية فقط على CK5/6 توجه نحو نقائل يتطلب تشخيصها المزيد من الواسمات. ثلاث حالات أبدت إيجابية طفيفة ومتفاوتة على CK7, TTF1 وسلبية على بقية الواسمات بالإضافة لميزاتها النسيجية شخصت سرطانات كبيرة الخلايا.

لدى دراسة نتائج التلوينات المناعية على المجموعة الثامنة التي كانت قد شخصت نسيجيا سرطانات غير متميزة وعددها 18 حالة ، تبين وجود ثلاث حالات (+CK7, +Napsin, +TTF1) وسلبية على بقية الواسمات ، وأربع حالات (+CK7, −Napsin, +TTF1) وسلبية على بقية الواسمات ، وثلاث حالات (−TTF1 ,−Napsin, +CK7) وسلبية على بقية الواسمات . جميع هذه الحالات وعددها عشرة شخصت سرطانات غدية رئوية بعد أن

كانت مشخصة سرطانات غير متميزة . 7 حالات كانت (CK7+, Napsin−, TTF1−) شخصت سرطانات غدية نقيلية تتطلب المزيد من الواسمات لتحديد منشأها . خمسة حالات كانت , P40/P63+ , CK5/6+ +Desmoglin وهي سرطانات شائكة الخلايا قليلة التمايز . حالتان كانت CK5/6+ وسلبية على بقية الواسمات يتطلب تشخيصها واسمات متممة .

المقارنة مع الدراسات العالمية

في دراسة مشابهه لدراستنا نشرت في مجلة Archves of Pathology عام 2012 . قام بها كل من Whithaus,K , Fukuoka,J , Prihoda,T في قسم التشريح المرضي بجامعة تكساس . كانت الدراسة بعنوان تقييم دور كل من P63,TTF1 , CK5/6, NapsinA في تشخيص السرطانات الغدية الرئوية وتفريقها عن السرطان شائك الخلايا. أجريت الدراسة على 291 خزعة من سرطانات رئوية ، شخصت مورفولوجيا على النحو التالي : 197 (75%) سرطان غدي ، و66(25%) سرطان شائك الخلايا و 28 حالة لم يحدد التشخيص. لونت جميع العينات بالواسمات المذكورة أعلاه . بينت النتائج أن حساسية NapsinA كانت 83% ونوعيته 98% وحساسية TTF1 60% ونوعيته 98% للسرطانات الغدية . وأن حساسية P63 95% ونوعيته 86% 96% . خلصت الدراسة الى أن مشاركة p63 مع NapsinA ذات دقة عالية في التفريق بين السرطان الغدي والشائك الخلايا وهذه النتائج تتماشى مع دراستنا.

دراسة نشرت على موقع PupMed عام 2011 قام بها كل من , Findeis,J Hosey,J, Yang,Q في قسم التشريح المرضي بجامعة Rochester , USA . الدراسة أجريت على 120 حالة سرطان رئوي بدئي و37 حالة نقائل الى الرئتين بينت الدراسة أن 95(79%) من 120 كانت TTF1+/ NapsinA`+ ، NapsinA− / TTF1+ ، TTF1− / NapsinA+ . بنسب 8.3% ، 3.3% ، 9.2% على التوالي . وكانت 8(23%) من 37 حلة النقائل كانت ايجابية على TTF1 . هذه الدراسة تشير الى أن المشاركة المزدوجة للواسمين رفع مستوى الدقة في تشخيص السرطانات الرئوية الغدية وتمييزها عن النقائل . هذا يتفق مع هدف دراستنا .

دراسة مشابهة أجريت في مصر ، نشرت في مجلة Journal of the Egyptian National Cancer Institute بينت دور مشاركة NapsinA مع]Desmoglin3 في تشخيص السرطانات الرئوية.

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات

1− بعد تطبيق الواسمات المناعية على جميع الحالات المدروسة وعددها 145 حالة ومقاربة النتائج مع الموجودات النسيجية بتلوين H&E تم تغير عميق في تشخيص الكثير من الحالات كما هو موضح في الجدول رقم (11) .

جدول رقم (11) يبين نتائج التشخيص النسيجي ومقارنتها مع التشخيص بالواسمات المناعية

التشخيص	عدد حالات تشخيص HIC	النسبة المئوية	عدد حالات التشخيص H&E	النسبة المئوية
سرطان غدي رئوي بدئي	35	24.13%	29	20%
شائك الخلايا بدئي/	47	32.41%	23	15.8%

نقيلي				
سرطان كبير الخلايا	9	6.20%	6	4.1%
سرطان صغير الخلايا	13	8.96%	18	12.4%
كارسينوئيد نموذجي	5	3.44%	15	6.89%
كارسينوئيد لانموذجي	3	2.06%	3	2.2%
نقائل سرطان غدي	26	17.93%	38 NSCLC	26.2%
أخرى	7	4.82%	18 Undifferntiated	12.4

2- نلاحظ أن السرطانات الغدية المشخصة بالاعتماد على علامات نسيجية وخلوية واضحة بتلوين H&E تم تأكيد تشخيصها بالواسمات المناعية باستثناء أربع حالات كانت علاماتها النسيجية خادعة وأكدت تشخيصها الواسمات المناعية سرطانات شائكة الخلايا.

3- السرطانات شائكة الخلايا ذات العلامات النسيجية الواضحة، تم تأكيد تشخيصها بالواسمات المناعية ماعدا أربع حالات كانت علاماتها النسيجية خادعة وتم تصحيح تشخيصها إلى سرطانات غدية

4- نلاحظ أن الواسم TTF1 إيجابي على 75% سرطانات الرئة الغدية البدئية . واسم NapsinA إيجابي على 80% من سرطانات الرئة الغدية البدئية . عند مشاركة الواسمين معا تم تأكيد تشخيص 95% من سرطانات الرئة الغدية.

5 – أن التشخيص المورفولوجي NSCLC هو تشخيص شكلي يضم مجموعات متغايرة من الأورام، والواسمات المناعية ميزتها الى غدي ، شائك الخلايا ، كبير الخلايا، غدي صماوي ، نقائل .

6 – لايمكن بواسطة الواسمات المناعية التمييز بين الأصل البدئي أو النقيلي للسرطان شائك الخلايا.

7 – السرطانات قليلة التمايز هي مجموعة متغايرة من الأورام البدئية أو النقيلية ميزتها الواسمات المناعية .

8 – السرطان صغير الخلايا يشتبه بالسرطانات القليلة التمايز، أكدت الواسمات المناعية جميع الحالات وفرقتها عن الحالات الأخرى خاصة اللمفومات والنقائل والكارسينوئيد .

التوصيات

- ضرورة مشاركة واسمي TTF1 و NapsinA في تشخيص سرطانات الرئة الغدية
- ضرورة مشاركة واسمي Desmoglin3 و P40/P63 في تشخيص السرطانات شائكة الخلايا
- ضرورة مقاربة الموجودات النسيجية مع نتائج التلوينات المناعية للوصول الى التشخيص الأكيد خاصة في السرطانات كبيرة الخلايا والسرطانات القليلة التمايز

References

1. DABBS,D.J.*Diagnostic Immunohistochemistry*. 4 ,Elsevier, Pittsburgh. 2014,1148.
2. KENTARO, I . Update on Immunohistochemistry for the Diagnosis of Lung Cancer. Cancers MDPI . Vol.10(3) , Mar 2018. < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5876647/>
3. CARNEY, JM1; KRAYNE, AM; ROGGLI,VL.*Immunostaining in lung cancer for the clinician. Commonly used markers for differentiating primary and metastatic pulmonary tumors.* PubMed.2017. Vol 35 (23), 2202-2219 < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/ 25700114>
4. ROOPER, LM, SHARMA, R. *INSM1 Demonstrates Superior Performance to the Individual and Combined Use of Synaptophysin, Chromogranin and CD56 for Diagnosing Neuroendocrine Tumors of the Thoracic Cavity.* PupMed. 2017, Nov; Vol. 41(11):1561-1569.. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28719469
5 .LESTER,S.C.*Manual of surgical pathology*. 3,Elsevier, Philadelphia.2010,610.
6. ROSAI.J. *Surgical pathology*,10. Elsevier , London . 2011, 2746.
7. RAO,N;MORAN.A.C.*Pulmonary Pathology*. Demosmedical,NewYork.2014, 201.
8. AZAR,G.P;NADJI.M .*Color atlas of immunochemistry*. Springer, USA,2007 .
9. MOREIRA,A.L.*Diagnostic Non-small Cell Carcinoma in Small Biopsy and Cytology*. Springer, NewYork, 2015,237.
10. MOSTAFA,M.F. *Diagnosis of Small Lung Biopsy*. Springer, NewYork, 2015,111.
11 .CAGLE,T.P. *Lung Cancer*, WoltersKumer, NewYork, 2015.
12 .FRAIRE,E.A;CAGEL.P.T. *Atlas of Neoplastic Pulmonary Disease*, Spriger. NewYork, 2010,166.
13 . TOMASHEFSKI,J.R;DAIL AND HAMMAR'S. *Pulmonary Pathology,3*, Springer, USA,2005,883.
14 . RICHARD,L.K ; KRADIN,M.D. *Understanding Pulmonary Pathology.3,* Elsevier, United States,2017,344.
15 . KONSTATIONS,N.M;CHRISTIN,M.D. *Tumors of the shest*. Springer,USA,2010,67.
16 . PHILIP,T.G; TIMOTHY,C.A. *Transbronchial and Endobronchial Biopsies .4*, Wolters Kluwer,USA, 2009,345.
17 . ALIYA,N.H. *Thoracic Pathology*.3, Elsevier,2012,631.
18 . PHILIP,T.C.; TIMOTHY,C.A.*Reviews in Surgical Pathology Lung Cancer.* 2,Wotters Kluwer,Philadelphia,2011,320.
19 . DANIS,S.Z.;CAROL,F.F. *Pulmonary Pathology.3*,Elsevier, USA,2018,235.
20 . HELMUT,P.*Pathology of Lung Disease.2*, Spriger,USA,2017,540.
21 .WILLIAM, D. TRAVIS ,I ; NATASHA, R. *Pathological Diagnosis and Classification of Lung Cancer in Small Biopsies and Cytology: Strategic Management of Tissue for Molecular Testing* . PupMed,2011; 32(1): 022-031 <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0031-127>
22 .ERIK.T ; ALAIN.C . *The Use of Immunohistochemistry Improves theDiagnosis of Small Cell Lung Cancer and ItsDifferential Diagnosis. An InternationalReproducibility Study* . Journal of Thoracic Oncology. 2018 vol.25(9); 2766-2775. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1556086416335729>
23. FINDEIS,J ; HOSEY,J ; YANG,Q. *Combination of napsin A and TTF-1 immunohistochemistry helps in differentiating primary lung adenocarcinoma from metastatic carcinoma in the lung.* PupMed.2011 .19,No.4. 313-320 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21464700>

24 . El-Sayed, N ; Tahoun, E. The role of Napsin-A and Desmocollin-3 in classifying poorly differentiating non-small cell lung carcinoma. Journal of the Egyptian National Cancer Institute.Vol 28, No 1, March 2016, 13-22 <https://doi.org/10.1016/j.jnci.2015.11.002>