بررسی کمی نقاط سازمان دهنده‌ی هسته در رده‌های میکروسکوپی موکواپیدرموییدکارسینوما با رنگ‌آمیزی نیترات نقره

دنیا صدری [*]، **فاطمه مشهدی عباس** [**]، **نوشین مدرسی** [***]، **فاطمه نصرالهی** [***]

[*] استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان، فک و صورت دانشکده‌ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی ازاد اسلامی واحد تهران
[**] استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان، فک و صورت دانشکده‌ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
[***] دندانپزشک

چکیده

بیان مساله: موکواپیدرموید کارسینوما یکی از شایع‌ترین تومورهای بدخیم غدد بزاقی است. چون رده‌بندی میکروسکوپی این تومور یکی از عوامل مهم در تعیین طرح درمان و پیش‌آگهی است، پس می‌بایست دارای معیارهای استاندارد و کاربردی باشد. رنگ‌آمیزی نیترات نقره با مشخص کردن نقاط سازمان دهنده‌ی هسته (AgNoRs) برای رده‌بندی، تعیین پیش‌آگهی و توان تکثیر تومورها کاربرد دارد و می‌تواند در رده‌بندی میکروسکوپی موکواپیدرموید کارسینوما نیز، کاربرد داشته باشد.

هدف: هدف از انجام این بررسی، ارزیابی پرولیفراسیون سلولی با مقایسه‌ی کمی نقاط سازمان دهنده‌ی هسته با روش (AgNoRs) در موکواپیدرموید کارسینومای غدد بزاقی و تعیین ارتباط آن با رده‌بندی میکروسکوپی این تومور بود.

مواد و روش: در این بررسی توصیفی تحلیلی، شمار 42 بلوک پارافینی با تشخیص موکواپیدرموید کارسینوما انتخاب شدند، اما با توجه به معیارهای کنار گذاشتن از بررسی، پنج نمونه کنار رفتند و بررسی بر روی 37 بلوک پارافینی، شامل 15 مورد موکواپیدرموید کارسینوما با رده‌ی خفیف میکروسکوپی، 11 مورد با رده‌ی متوسط میکروسکوپی و 11 مورد با رده‌ی شدید میکروسکوپی انجام شد. پس از مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها به روش (AgNoRs)، شمارش نقاط سازمان دهنده‌ی هسته به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی1000 انجام گردید. سپس، داده‌ها گردآوری و با آزمون آنوا واکاوی آماری شدند.

یافته‌ها: میانگین شمار نقاط سازمان دهنده‌ی هسته‌ای در نمونه‌های موکواپیدرموییدکارسینوما با رده‌ی شدید 1/65±0/73، با رده‌ی متوسط 1/1±0/35 و با رده‌ی خفیف 0/76±0/32 بود، که اختلاف میان سه گروه از لحاظ آماری معنادار گزارش شد (p <0/05).

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان داد، که روش AgNoRs برای رده‌بندی میکروسکوپی موکواپیدرموید کارسینوما، به عنوان روش کمکی کاربرد دارد، اما برای تعیین حساسیت و اختصاصیت این روش، انجام بررسی‌های دیگر پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: موکواپیدرموید کارسینوما، ,AgNORs رده‌بندی میکروسکوپی

تاریخ دریافت مقاله: 87/5/18 ، تاریخ پذیرش مقاله: 87/10/2 *Shiraz Univ Dent J 2009; 10(1): 1-6*

مقاله‌ی پژوهشی اصیل

نویسنده‌ی مسوول مکاتبات: دنیا صدری. تهران. پاسداران، گلستان پنجم، پلاک 18، دانشکده‌ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی ازاد اسلامی واحد تهران گروه آموزشی اورال پاتولوژی،
تلفن: 021-22542238، **پست الکترونیک**: donia1351@yahoo.com

درآمد

موکواپیدرموید کارسینوما از شایعترین تومورهای بدخیم با سرچشمه‌ی غده بزاقی در دهان است [1]. این تومور نخستین بار در سال(1895) از لحاظ بافت شناختی توصیف شد[2]. سپس، در سال 1921، آسیب موکواپیدرموید تومور به وسیله‌ی شیلینگ (Schilling) برای نخستین بار در تاریخ پزشکی گزارش گردید و در سال 1945 استوارت (Stwart) و همکاران، با توجه به توان متاستازی این تومور، واژه‌ی موکواپیدرموید کارسینوما را بر آن نهادند [2، 3 و 4]. پژوهشگران دریافتند، که به دنبال تشخیص میکروسکوپی موکواپیدرموید کارسینوما، رفتارهای زیست شناختی گوناگون برای این تومور قابل مشاهده است. پس، با بررسی دقیق‌تر نمای میکروسکوپی آسیب در افراد گوناگون، مساله‌ی رده‌بندی میکروسکوپی تومور را پیشنهاد کردند [5]. برای نخستین بار هیلی (Healy) برپایه‌ی نمای بافت-شناختی تومور، چون میزان سلول‌های موکوسی، تمایز سلولی، اناپلازی، میتوز و الگوی رشدی، این تومور را به سه گروه رده‌بندی کرد [6].

امروزه، معیارهایی، مانند نسبت عددی سلول‌های موکوسی، بینابینی‌و اپیدرموییدی، میزان شکل‌گیری فضاهای سیستیک و رده‌ی بدخیمی سلولی، به عنوان معیارهای رایج در رده‌بندی میکروسکوپی موکواپیدرموید کارسینوما استفاده می‌شود، که می‌تواند تا اندازه‌ای سلیقه‌ای بوده و از هماهنگی لازم در میان آسیب‌شناسان فک و دهان برخوردار نباشد [1]. با توجه به این‌که، رده‌بندی میکروسکوپی از معیارهای رده‌بندی تومور و تعیین گونه‌ی درمان و پیش‌آگهی است، پس لازم است، که با دقت تمام انجام شده و دارای معیارهای کاربردی باشد.

به تازگی، از نقاط سازمان دهنده‌ی هسته‌ای به عنوان نمایه‌ای برای تشخیص توان تکثیر در سرطان‌های گوناگون استفاده می‌شود [7].

شمار نقاط سازمان دهنده‌ی هسته‌ای (NORs) معرف حلقه‌هایی از DNA است، که به طور فعال از آنها RNA ریبوزومال نسخه‌برداری می‌شود و در پایان، به ساخت پروتئین منجر می‌گردد، به علت تمایل پروتئین‌های تشکیل‌دهنده‌ی آنها به املاح نقره به خوبی با رنگ آمیزی نیترات نقره (AgNOR) مشخص می‌شوند [8]. شمار نقاط سازمان دهنده‌ی هسته‌ای (NORs) بازتاب کننده‌ی تکثیر سلولی، تغییرات بدخیمی، رده‌بندی میکروسکوپی تومور،عود و متاستاز تومور، (وضعیت پیش‌آگهی تومور) است [9].

بهنام اسلامی و همکاران ارزش تشخیصی رنگ‌آمیزی نیترات نقره را برای شمار نقاط سازمان دهنده‌ی هسته‌ای در تومورهای سر و گردن بررسی کردند. در این بررسی، نمونه‌های مربوط به SCC دهانی، موکواپیدرموید کارسینوما، پلئومورفیک آدنوما و آدنوسیستیک کارسینوما همراه با بافت‌های طبیعی و دیسپلاستیک مخاط دهان مورد رنگ‌آمیزی نیترات نقره و شمارش این نقاط قرار گرفتند. نتایج بررسی نشان داد، که این روش برای تشخیص آسیب‌های دیسپلاستیک مخاطی از بدخیم و نیز، تومورهای خوش خیم غده‌ی بزاقی از تومورهای بدخیم غده‌ی بزاقی، روشی سودمند است [10].

فوجیتا (Fujita) و همکاران، با استفاده از رنگ آمیزی نیترات نقره، این نقاط را در تومورهای بدخیم غده‌ی بزاقی شمارش کردند. نتایج بررسی نشان داد، که میانگین شمارش این نقاط (NORs) در موکواپیدرموید کارسینوما، اسی نیک سل کارسینوما و آدنوئید سیستیک کارسینوما، به ترتیب 2/20، 2/51 و 2/57 است، درحالی‌که این عدد در آدنوکارسینومای چند شکلی رده‌ی خفیف، آدنوماکارسینومای چند شکلی مجرای بزاقی و ادنوئید سیستیک کارسینومای گونه‌ی توپر به ترتیب 3/37، 3/99، 4/49 و 4/53 گزارش شد [11].

ووهاهولا (Vuhahula) و همکاران، رابطه‌ی میان شمارش AgNORs و رده‌بندی بافت شناختی و رفتار زیست شناختی آدنوئید سیستیک کارسینوما (ACC) را بررسی کردند. نمونه‌ها به سه گروه با رده‌ی خفیف، متوسط و شدید بدخیمی بخش گردید و بیماران از لحاظ وضعیت پیش‌آگهی به دو گروه با پیش‌آگهی مطلوب (بی متاستاز) و با پیش‌آگهی نامطلوب (با متاستاز) بخش شدند. نتایج بررسی نشان داد، با این که، در بیشتر موارد، نمونه‌های با رده‌ی شدید آدنوئید سیستیک کارسینوما (ACC) شمار AgNORs چهار و بالاتر را نشان می‌دادند، اما همه‌ی موارد آدنویید سیستیک کارسینوما با پیش‌آگهی نامطلوب، با وجود رده‌ی بافت شناختی خود، شمار AgNORs بالاتر داشتند. به نظر می‌آید، که بخشی از تغییرات همراه با مراحل بدخیمی آدنوئید سیستیک کارسینوما، با چشم‌پوشی از تظاهرات بافت شناختی تومور، با شمار AgNORs قابل پیش‌بینی موجود، به تشخیصی دقیق و کار آمد دست یافت. پس، تصمیم آن است [12]. با توجه به این‌که، رده‌بندی میکروسکوپی موکواپیدرموید کارسینوما از معیارهای رده‌بندی تومور و تعیین گونه‌ی درمان و پیش‌آگهی است، پس لازم است، با استفاده از روش‌های رنگ‌آمیزی

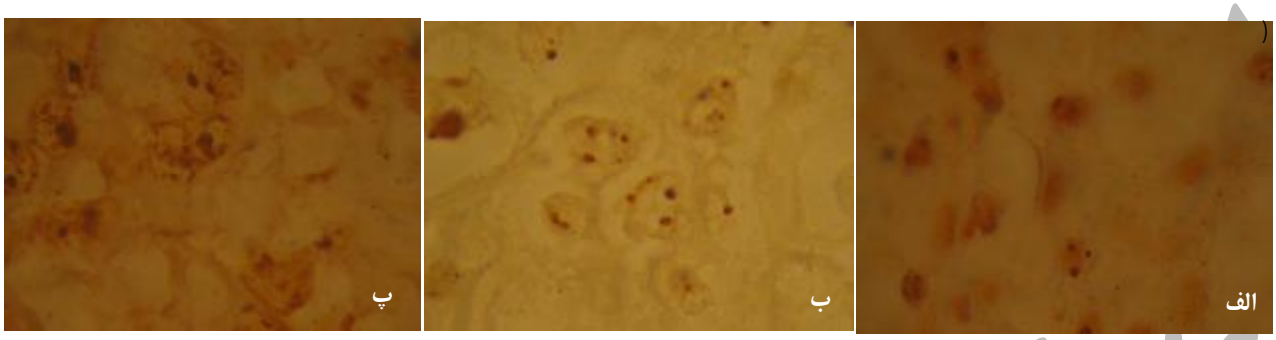
شد تا با استفاده از رنگ آمیزی نیترات نقره و شمارش نقاط سازمان دهنده‌ی هسته، بر پایه‌ی تفاوت موجود در توان تکثیر تومورها، پژوهشی طراحی گردد. هدف از انجام این بررسی، مقایسه‌ی شمار نقاط سازمان دهنده‌ی هسته‌ای در رده‌های گوناگون میکروسکوپی موکواپیدرموییید کارسینوما با رنگ آمیزی نیترات نقره است تا به این ترتیب، بتوان به روشی دقیق‌تر برای رده‌بندی میکروسکوپی موکواپیدرموییید کارسینوما دست یافت.

مواد و روش

این بررسی از گونه‌ی توصیفی تحلیلی است. نمونه گیری از گونه‌ی نمونه‌های در دسترس بوده و بررسی برپایه‌ی رنگ آمیزی نیترات نقره و شمارش نقاط سازمان دهنده‌ی هسته‌ای در برش‌های حاصل از بلوک پارافینی نمونه های موکواپیدرموییید کارسینوما با رده‌های میکروسکوپی گوناگون انجام شد. در این بررسی، با توجه به انجام بررسی اولیه، شمار 42 نمونه برای بررسی انتخاب شدند و لام‌های هماتوکسین- ائوزین مربوط به آنها برای تایید تشخیص از سوی دو آسیب شناس دهان بررسی شد. شمار پنج نمونه، با توجه به شرایط کنار گذاشتن از بررسی، شامل نکروز و خونریزی گسترده‌ی بافتی، ناکافی بودن بافت موجود در بلوک پارافینه، از بررسی کنار گذاشته شدند و بررسی بر روی 37نمونه‌ی موکواپیدرموییید کارسینوما، شامل 15 مورد با رده‌ی خفیف، 11 مورد با رده‌ی متوسط و 11 مورد، با رده‌ی شدید انجام شد. بلوک‌های یاد شده از بخش آسیب شناسی دهان دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و انستیتو سرطان امام انتخاب شده بودند. داده‌های مربوط به بیماران مبتلا (سن و جنس) و مربوط به آسیب (درد، تورم، جای رخداد و عود) از پرونده‌ی بالینی موجود در بخش آسیب شناسی به دست آمده و در برگه‌ی اطلاعاتی وارد گردید. پس از آماده‌سازی بلوک‌های پارافینه مربوط به هر لام، برش‌های پنج میکرونی از آنها فراهم شد و برپایه‌ی روش پلوتون (ploton)، رنگ‌آمیزی نیترات نقره انجام گردید [13]. به این ترتیب که، نمونه‌ها، در آغاز، در زایلن پارافین‌گیری شدند. سپس، به وسیله‌ی الکل مطلق 95، 90 و 70 درصد آبگیری گردیدند و پس از شست و شو با آب مقطر، اسلایدها به مدت 40 دقیقه در دمای اتاق و در محفظه‌ی تاریک در محلول نیترات نقره (یک حجم ژلاتین دو درصد در محلول اسید فرمیک یک درصد و یک حجم محلول نیترات نقره 50 درصد) رنگ آمیزی شدند، پس از رنگ آمیزی، اسلایدها با آب مقطر شسته شده و با گزیلن آبگیری گردید و در یک محیط واسطه‌ی ساختگی (Synthetic medium) مانت شدند. برای اطمینان از صحت مراحل رنگ آمیزی، نمونه‌ی سرطان پستان، به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. پس از آماده‌سازی لام‌ها از هر اسلاید، شمار 100 عدد سلول با درشت نمایی 100 عدسی شیئی شمارش گردیدند. برای انجام این کار، 10 زمینه‌ی میکروسکوپی به روش تصادفی انتخاب شد و از هر زمینه، شمار 10 سلول به روش تصادفی شمارش گردید. نقاط قهوه‌ای یا سیاه رنگ درون هسته‌ها، به عنوان نقاط مثبت شمارش شدند. نقاط به هم پیوسته و روی هستک، به عنوان یک نقطه محاسبه گردیدند [13]. برای مقایسه‌ی سه گروه میکروسکوپی از لحاظ میانگین شمارش AgNORs، از آزمون آنوا استفاده و P کمتر از 0/05، معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از 37 مورد موکواپیدرموییید کارسینومای مورد بررسی، 18 مورد، به جنس مذکر و 19 مورد، به جنس مونث مربوط بودند. سه مورد از نمونه‌ها، سن کمتر از 30 سال و دیگر افراد، بالای 30 سال بودند. بیست و پنج مورد دارای علایم بالینی، شامل درد و تورم و 12 مورد، بدون علایم بالینی بودند. بیشترین شمار نمونه‌ها، به ترتیب در ناحیه‌ی کام، پاروتید و غده‌ی زیر فکی بوده و دیگر موارد، در غدد بزاقی فرعی نواحی گونه و لب، رترومولر و سینوس ماگزیلاری رخ داده بود. میانگین شمارش AgNORs در موکواپیدرموییید کارسینوما با رده‌ی شدید 1/65±0/73 بوده و در نمونه‌های با رده‌ی متوسط و خفیف به ترتیب 1/1±0/35 و 0/76±0/32 بود (p <0/05) (نگاره‌های 1 تا 3) و (جدول 1). میانگین شمارش NORs در نمونه‌های مربوط به جنس مونث (0/92±0/29) بیشتر از جنس مذکر بود (0/78±0/22)، ولی این اختلاف از لحاظ آماری معنادار نبود. در زمینه‌ی سن، جای رخداد و علایم بالینی نیز، ارتباطی معنادار با میانگین شمارش AgNORs یافت نشد(جدول 2). میانگین شمارش NORs در نمونه‌های مربوط به غدد بزاقی اصلی 1/73±0/66 و در نمونه‌های مربوط به غدد بزاقی فرعی 0/9±0/39 بود (جدول 3).



نگاره‌ی 1) الف: *نقاط سازمان دهنده‌ی هسته با رنگ آمیزی نیترات نقره AgNoRs در موکو اپیدرموییدکارسینوما با رده میکروسکوپی خفیف (بزرگنمایی 1000)،* ***ب:*** *نقاط سازمان دهنده‌ی هسته با رنگ آمیزی نیترات نقره AgNoRs در موکو اپیدرموییدکارسینوما با رده‌ی میکروسکوپی متوسط (بزرگنمایی 1000)،* ***پ:*** *نقاط سازمان دهنده‌ی هسته با رنگ‌آمیزی نیترات نقره AgNoRs در موکو اپیدرموییدکارسینوما با رده‌ی میکروسکوپی شدید (بزرگنمایی 1000)*

جدول 1: *میانگین شمارش AgNORs در انواع موکواپیدرموییدکارسینوما به تفکیک رده‌بندی بافت شناختی*

رده‌بندی میکروسکوپی موکواپیدرموییدکارسینوما	شمار	میانگین شمارش و انحراف معیار AgNORs
خفیف	15	0/76±0/32
متوسط	11	1/1±0/35
شدید	11	1/65±0/73

جدول 2: *فراوانی انواع بافت شناختی موکواپیدرموئید کارسینوما به تفکیک سن، جنس و علایم بالینی*

گونه‌ی متغیر		موکواپیدرموییدکارسینوما خفیف	متوسط	شدید
سن	< = 30	14(41/2)	10(29/4)	10(29/4)
	<30	1(33/3)	1(33/3)	1(33/3)
جنس	مذکر	7(38/9)	5(27/8)	6(33/3)
	مونث	8(42/1)	6(31/6)	5(26/3)
درد و تورم	دارد	8(32)	9(36)	8(32)
	ندارد	7(58/3)	2(8/3)	3 (33/3)

جدول 3: *میزان میانگین شمارش AgNORs در انواع بافت شناختی موکواپیدرموییدکارسینوما به تفکیک جای رخداد*

جای رخداد آسیب	شمار	خفیف	متوسط	شدید	میزان میانگین AgNORs
پاروتید	7	1	3	3	1/6±0/01
تحت فکی	7	3	1	3	1/14±0/32
زیر زبانی	-	-	-	-	-
کام	9	2	4	3	1/18±0/44
گونه/لب	6	5	-	1	0/96±0/32
زبان	-	-	-	-	-
رترومولر/کف دهان	2	2	-	-	0/67±0/27
سینوس ماگزیلا	6	2	3	1	0/79±0/53

بحث

با توجه به این که رده‌بندی موکواپیدرموییدکارسینوما در رده-بندی آسیب و تعیین گونه‌ی درمان نقش دارد، می‌توان با استفاده از روش‌های تازه‌تر، به معیارهای استاندارد و هماهنگ دست یافت. نتایج بررسی کنونی نشان داد، که رنگ آمیزی AgNORs می‌تواند برای رده‌بندی میکروسکوپی موکواپیدرموییدکارسینوما کاربرد داشته باشد. نتایج بررسی‌های وهاهولا و همکاران درباره‌ی آدنوئید سیستیک کارسینوما نیز، این امر را تایید می‌کنند [12]. بررسی صالحی‌نژاد و همکاران نیز نشان می‌دهد، که بروز نقاط سازمان یافته‌ی هسته در انواع رده میکروسکوپی خفیف، متوسط با شدید موکواپیدرموییدکارسینوما اختلافی معنادار دارد. در بررسی یاد شده، بروز نقاط سازمان یافته‌ی هسته در انواع رده میکروسکوپی خفیف، متوسط و شدید موکواپیدرموییدکارسینوما، به ترتیب 4/38، 5/43 و 6/78 بود [14]. تفاوت در میانگین به دست آمده در این بررسی و بررسی کنونی می‌تواند ناشی ازتفاوت روش رنگ آمیزی و تفاوت در شمار و پراکندگی نمونه‌ها و شیوه‌ی شمارش نقاط باشد. علائدینی و همکاران در پژوهشی همانند بر روی 35 نمونه‌ی انواع رده‌ی میکروسکوپی موکواپیدرموییدکارسینوما نتایجی همانند بررسی کنونی یاد کرده‌اند. در این بررسی، بروز نقاط سازمان یافته‌ی هسته در انواع رده میکروسکوپی خفیف، متوسط و شدید موکواپیدرموییدکارسینوما، به ترتیب 0/15±0/64، 1/04±0/21 و 1/42±0/23 بیان شد و این روش، به عنوان روش کمکی در کنار رنگ آمیزی معمول برای رده‌بندی میکروسکوپی این تومور پیشنهاد گردید و یادآور شد،

که ارزش تعیین پیش آگهی این روش می‌بایست با بررسی‌های بالینی ارزیابی شود [15]. در بررسی کنونی، ارتباطی معنادار میان میانگین شمار AgNORs و علایم بالینی بیمار (درد و تورم) دیده نشد. بررسی آدیامی (Adeyami) و همکاران نیز، این امر را تایید می‌کند و استفاده از این روش را به افتراق تومورهای خوش‌خیم از بدخیم محدود می‌داند [16]، اما در بررسی وهاهولا، میان میزان بروز AgNORs و پیش‌آگهی بیماری، پیوندی چشمگیر یافت شد، به نظر می‌رسد، که توان تکثیر سلول‌های توموری نقشی مهم در تعیین پیش آگهی و وضعیت متاستاز آسیب دارد، اما در زمینه‌ی علایم بالینی بیماری عواملی دیگر، مانند ترشح پروستاگلاندین‌ها و شرایط موضعی نقش مهم‌تر دارند [12]. با این حال، نتایج بررسی ریور (Rivere) نشان می‌دهد، که همیشه میان توان تکثیر تومورها، و میزان و شدت رنگ‌پذیری AgNoRs ارتباطی معنادار دیده نشده است [17]. بررسی همسان پیچ (Pich) و همکاران بر روی تومورهای ناحیه‌ی سر و گردن، چون غدد بزاقی اصلی و فرعی نیز، این امر را تایید می‌کند. در این بررسی مروری، نتایج بررسی 833 نمونه‌ی تومورهای غدد بزاقی از نظر ارتباط نشانگرهای تکثیر، شامل AgNoRs,Ki-67,MIB-1 و پیش آگهی تومور بررسی شد و نتایج نشان داد، که در 665 نمونه، توان تکثیر زیاد با پیش آگهی بد مرتبط است، اما در 168 نمونه، هیچ ارتباطی دیده نشد، که این امر را ناشی از نبود روشی استاندارد در تعیین توان تکثیر می‌داند [18].

در بررسی کنونی روشن شد، که میزان بروز AgNORs در تومورهای مربوط به غدد بزاقی فرعی نسبت به غدد بزاقی اصلی میانگینی کمتر را نشان می‌دهد (0/39±0/9 در برابر 0/66± 1/73)، که به نظر می‌آید این امر ناشی از بروز بیشتر تومورهای با رده‌ی میکروسکوپی پایین‌تر در غدد بزاقی فرعی در این بررسی است، اما درباره‌ی ساختار طبیعی و تومورهای خوش خیم غدد بزاقی در رنگ آمیزی نیترات نقره و بررسی نقاط سازمان دهنده‌ی هسته، اختلاف معنادار دیده شده است [19].

در این بررسی، میانگین شمارش AgNORs در تومورهای مربوط به جنس مونث بیشتر از جنس مذکر بود، که این امر ممکن است ناشی از اثر عوامل هورمونی بر توان پرولیفراسیون سلول‌های توموری باشد، که می‌بایست در این زمینه بررسی‌های بیشتر انجام شود.

در این بررسی، به علت نبود سامانه‌ی ارجاع و پیگیری بیماران پس از درمان، وضعیت عود و متاستاز (پیش آگهی) بیماری قابل پیگیری نبوده، که از محدودیت‌های بررسی به شمار می‌رود. حساسیت به دمای محیط می‌تواند بر نتیجه‌ی رنگ آمیزی با نیترات نقره اثر گذارد و نیز، شمارش غیر رایانه‌ای نقاط سازمان دهنده‌ی هسته ممکن است دقت کافی در شمارش را نداشته باشد. این موارد نیز، از محدودیت‌های این بررسی بوده است.

نتیجه گیری

نتایج این بررسی نشان داد، که با توجه به معنادار بودن اختلاف میانگین شمارش AgNORs در انواع رده‌ی میکروسکوپی موکواپیدرموییید کارسینوما، این روش می‌تواند در کنار رنگ آمیزی هماتوکسین- آئوزین و به عنوان روش کمکی برای تایید رده‌بندی میکروسکوپی این آسیب به کار گرفته شود، اما می‌بایست اختصاصی بودن و حساسیت این روش برای رده‌بندی میکروسکوپی موکواپیدرموییید کارسینوما بررسی گردد و نیز، استفاده از دیگر نشانگرهای تکثیر در رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی (PCNA,Ki-67) و بررسی ارتباط آنها با وضعیت بالینی بیماران و پیش آگهی بیماری پیشنهاد می‌گردد.

******

References

1. Neville BW, Dam DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral and Maxillofacial Pathology. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 2002. p. 435-437.
2. Eversole LR. Histologic classification of salivary tumors. Arch Pathol 1971; 92: 433-443.
3. Shafer WG, Hine MK, Levy BM. A textbook of Oral Pathology. 4th ed. USA: WB Saunders Co; 1983. p. 315-317.

4. Seifert G, Sobin LH. The World Health Organization's Histological Classification of Salivary Gland Tumors. A commentary on the second edition. Cancer 1992; 70: 379-385.
5. Seifert G, Brocheriou C, Cardesa A, Eveson JW. WHO International Histological Classification of Tumors. Tentative Histological Classification of Salivary Gland Tumours. Pathol Res Pract 1990; 186: 555-581.
6. Kahn MA, Lucas RM. Mucoepidermoid tumor: a case report involving the operculum of an erupting permanent second molar. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1989; 68: 375-379.
7. Cabrini RL, Schwint AE, Mendez A, Femopase F, Lanfranchi H, Itoiz ME. Morphometric study of nucleolar organizer regions in human oral normal mucosa, papilloma and squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med 1992; 21: 275-279.
8. de Rosa I, Staibano S, Lo Muzio L, Delfino M, Lucariello A, Coppola A, et al. Potentially malignant and malignant lesions of the lip. Role of silver staining nucleolar organizer regions, proliferating cell nuclear antigen, p53, and c-myc in differentiation and prognosis. J Oral Pathol Med 1999; 28: 252-258.
9. Pillai KR, Sujathan K, Kannan S, Abraham EK, Mathew B, Amma NS, Nair MK, Menon VP. Argyrophilic nucleolar organizer regions in the evaluation of tumour progression in the oral mucosa: correlation with tissue pathology. J Cancer Res Clin Oncol 1994; 120: 723-726.
10. Eslami B, Rahimi H, Rahimi F, Khiavi MM, Ebadifar A. Diagnostic value of silver nitrate staining for nucleolar organizer regions in selected head and neck tumors. J Cancer Res Ther 2006; 2: 129-131.
11. Fujita S, Takahashi H, Okabe H. Nucleolar organizer regions in malignant salivary gland tumors. Acta Pathol Jpn 1992; 42: 727-733.
12. Vuhahula EA, Nikai H, Ogawa I, Miyauchi M, Takata T, Ito H, Ito R. Correlation between argyrophilic nucleolar organizer region (AgNOR) counts and histologic grades with respect to biologic behavior of salivary adenoid cystic carcinoma. J Oral Pathol Med 1995; 24: 437-342.
13. Ploton D, Menager M, Jeannesson P, Himber G, Pigeon F, Adnet JJ. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. Histochem J 1986; 18: 5-14.
14. Salehinejad J, Ghaffarzadegan K, Sagharvanian N, Mohtasham N. Correlation between AgNoRs,Ki-67 with grade of malignancy in salivary gland mucoepidermoid carcinoma. J Mashhad Dent School 2004; 28: 53-60.
15. Alaeddini M, Khalili M, Tirgary F, Etemad-Moghadam S. Argyrophilic proteins of nucleolar organizer regions (AgNORs) in salivary gland mucoepidermoid carcinoma and its relation to histological grade. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008; 105: 758-762.
16. Adeyemi BF, Kolude BM, Akang EE, Lawoyin JO. A study of the utility of silver nucleolar organizer regions in categorization and prognosis of salivary gland tumors. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006; 102: 513-520.
17. Rivero ER, Caliari MV, Tarquínio SB, Loyola AM, de Aguiar MC. Proliferate activity in oral salivary gland tumors: the role of PCNA and AgNOR assessed by a double staining technique. J Oral Sci 2004; 46: 87-92.
18. Pich A, Chiusa L, Navone R. Prognostic relevance of cell proliferation in head and neck tumors. Ann Oncol 2004; 15: 1319-1329.
19. Fujita S, Takahashi H, Okabe H. Proliferative activity in normal salivary gland and pleomorphic adenoma. A study by argyrophilic nucleolar organizer region (AgNOR) staining. Acta Pathol Jpn 1992; 42: 573-578.