

ارزیابی HBME-1 در افتراق سلول‌های مزوتلیال واکنشی و آدنوکارسینوم متاستاتیک در افزویون‌های سروزی بدن

دکتر علیرضا رحمانی^۱، دکتر محسن دهقانی زاهدانی^۲، دکتر نوشین افشار مقدم^۳، دکتر حمیدرضا حیدریان^۴

خلاصه

مقدمه: در این پژوهش، ارزش تشخیصی HBME-1 در افتراق سلول‌های مزوتلیال واکنشی و آدنوکارسینوم متاستاتیک در مایعات سروزی بدن بررسی شد.

روش‌ها: در این مطالعه، ۵۲ نمونه‌ی سل بلاک تهیه شده از افزویون سروزی، از بایگانی بخش پاتولوژی بیمارستان الزهرا (س) اصفهان انتخاب شد و به دو گروه طبقه‌بندی شدند؛ گروه اول شامل ۲۶ افزویون حاوی سلول‌های مزوتلیال راکتیو بدون شواهد مشکوک به بدخیمی از لحاظ مورفولوژی و یافته‌های بالینی و تصویر نگاری و گروه دوم شامل ۲۶ افزویون حاوی سلول‌های کارسینومی که دارای تأیید تشخیصی با بیوپسی داشتند، بود. رنگ آمیزی ایمونوسیتوشیمی بر روی نمونه‌ها با روش انویژن برای آنتی‌ژن HBME-1 و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

یافته‌ها: اختلاف آماری معنی‌داری از لحاظ واکنش پذیری برای مارکر HBME-1 در دو گروه آدنوکارسینوم متاستاتیک و مزوتلیال واکنشی دیده شد. طرح غالب رنگ‌پذیری برای سلول‌های مزوتلیال واکنشی، طرح غشایی و برای آدنوکارسینوم، طرح سیتوپلاسمی بود ($P = 0/001$). از نظر فراوانی نسبی شدت رنگ‌پذیری برای سلول‌های آدنوکارسینومی، رنگ‌پذیری منفی ۷ مورد (۲۶/۹ درصد)، + برابر ۴ مورد (۱۵/۳۸ درصد)، ++ به میزان ۱۱ مورد (۴۲/۳۰ درصد) و +++ به تعداد ۴ مورد (۱۵/۳۸ درصد) مشاهده شد. برای سلول‌های مزوتلیال واکنشی، واکنش منفی و + مشاهده نشد، واکنش ++ به تعداد ۳ مورد (۱۱/۵ درصد) و +++ به میزان ۲۳ مورد (۸۸/۵ درصد) وجود داشت ($P = 0/001$).

نتیجه‌گیری: طرح و شدت رنگ‌پذیری برای HBME-1 پانل جهت افتراق سلول‌های آدنوکارسینوم از مزوتلیال واکنشی مفید می‌باشد. با توجه به قرابت ایمونوراکتیویته مارکر HBME-1 در آدنوکارسینوم‌های متاستاتیک تخمدان با سلول‌های مزوتلیال واکنشی، کاربرد این مارکر به تنهایی در مایعات پریتون حاوی سلول‌های کارسینوم متاستاتیک تخمدان دارای محدودیت می‌باشد.

واژگان کلیدی: افزویون سروز، آدنوکارسینوم، مزوتلیال واکنشی، ایمونوسیتوشیمی، آنتی‌ژن HBME-1.

مقدمه

موارد، افتراق سلول‌های مزوتلیال واکنشی از آدنوکارسینوم بر مبنای مورفولوژی ساده امکان‌پذیر نیست (۱). بنابراین با اتخاذ روش‌های کمکی، صحت تشخیصی افزایش خواهد یافت. در حال حاضر، ایمونوسیتوشیمی یکی از روش‌های کمکی پیشنهادی جهت تمیز سلول‌های مزوتلیال واکنشی از آدنوکارسینوم است (۲). ایمونوسیتوشیمی را می‌توان در نمونه‌هایی

سلول‌های مزوتلیال، تنها سلول اختصاصی موجود در حفرات سروزی هستند. در مواقعی که این غشا توسط تحریکات ناشی از التهاب یا افزویون طولانی مدت تحریک می‌شود، این سلول‌ها تکثیر یافته، در داخل مایع ریزش می‌کنند و از لحاظ مورفولوژیک، تغییرات هسته‌ای و سیتوپلاسمی را نشان می‌دهند. در برخی

^۱ استادیار، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۲ استادیار، گروه آسیب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بندر عباس، بندر عباس، ایران.

^۳ دانشیار، گروه آسیب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۴ متخصص آسیب‌شناسی، شیراز، ایران.

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر نوشین افشار مقدم، دانشیار، گروه آسیب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

E-mail: afsharmoghadam@med.mui.ac.ir

مانند فلوسیتومتر نیز انجام داد (۳-۴)؛ ولی اکثر آزمایشگاه‌ها ترجیح می‌دهند که این تکنیک را بر روی گسترش‌های مستقیم، سل بلاک و سیتوسپین انجام دهند؛ چرا که در روش‌های سل بلاک و سیتوسپین نتایج بهتری حاصل شده است (۵). تا اواخر قرن بیستم، افتراق ایمونوهیستوشیمی سلول‌های مزوتلیال و متاستاتیک کارسینوم بر مبنای مارکرهایی صورت می‌گرفت که این مارکرها در سلول‌های مزوتلیال وجود نداشت. در چند سال اخیر، آنتی‌بادی‌های ایمونوراکتیو علیه سلول‌های مزوتلیال معرفی شدند که این مارکرها فاقد واکنش با سلول‌های کارسینومی هستند؛ مارکرهای مزوتلیالی پیشنهادی شامل کالرتینین (۶-۸)، ترومبومودولین (۹)، سیتوکراتین ۵/۶ (۱۰) و HMBE-1 می‌باشد (۱۱-۱۲). HBME-1، آنتی‌بادی مونوکلونال آنتی‌هیومن علیه سلول مزوتلیال است و به صورت تجاری قابل دسترسی می‌باشد. این آنتی‌بادی با آنتی‌ژنی با ماهیت نامشخص در سطح سلول‌های مزوتلیال واکنش می‌دهد. واکنش پذیری HBME-1 در بافت‌های طبیعی محدود به مزوتلیوم، اپی‌تلیوم برونش، اندوسرویکس و غضروف می‌باشد. در مورد تومورها، واکنش پذیری با مزوتلیوماپی‌تلیال، برخی انواع آدنوکارسینوم و تومورهای غضروفی گزارش شده است (۱۳).

هدف از این مطالعه، ارزیابی ارزش تشخیصی رنگ‌آمیزی ایمونوسیتوشیمی با آنتی‌بادی مونوکلونال HBME-1 جهت افتراق سلول‌های مزوتلیال از سلول‌های آدنوکارسینوم در افوزیون‌های بدخیم و خوش خیم می‌باشد.

روش‌ها

نمونه‌های سل بلاک شامل بلوک پارافینی و اسلاید

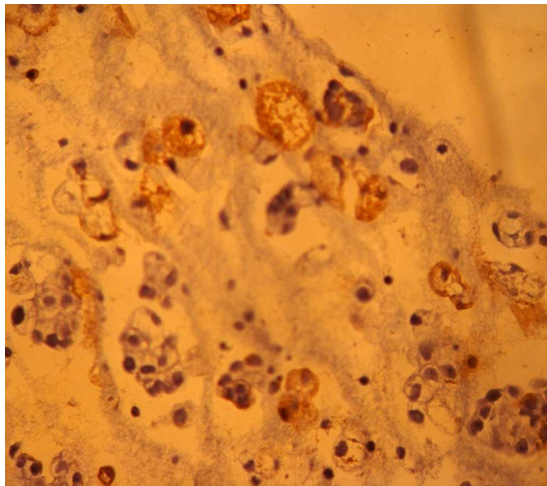
رنگ آمیزی شده با روش هماتوکسیلین-ئوزین تهیه شده از مایعات پلور و پریتون از محل بایگانی سیتولوژی بیمارستان الزهرای (س) دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جداسازی شد. سپس کلیه اسلایدها از لحاظ تعیین ماهیت تشخیص، بازبینی اولیه گردید. از بین این نمونه‌ها، ۲۶ بلوک با تشخیص آدنوکارسینوم متاستاتیک و دارای بیوپسی تأییدی و ۲۶ بلوک حاوی سلول‌های مزوتلیال واکنشی بدون سابقه‌ی قبلی بدخیمی یا شواهد بالینی و پرتونگاری به نفع بدخیمی انتخاب شدند. منشأ اولیه‌ی تومور در موارد آدنوکارسینوم شامل تخمدان (۱۰ مورد)، ریه (۷ مورد)، پستان (۵ مورد) و دستگاه گوارش (۴ مورد) بود. سپس از بلوک‌های انتخاب شده، برش‌های نازک سه میکرونی برای رنگ آمیزی ایمونوسیتوشیمی با مونوکلونال آنتی‌بادی HBME-1 تهیه شد. اسلایدها پارافینه و هیدراته شدند. عرضه‌ی آنتی‌ژن با بافر سترات ۱٪ (۶ = pH) در مایکروویو به مدت ۲۰ دقیقه انجام گردید. اسلایدها در حرارت اتاق با آنتی‌بادی مونوکلونال آنتی‌هیومن HBME-1، کلون M3505 با رقت ۱/۵۰ (محصول شرکت DAKO دانمارک) انکوبه شد. رنگ پذیری سلولی با استفاده از میکروسکوپ زایس در بزرگ‌نمایی بالا (۴۰۰x) و در ابعاد ۰/۴۶ میلی‌متر ارزیابی شد. موارد مثبت بر حسب درصد سلول‌های رنگ گرفته به سه درجه امتیازبندی شد؛ +: کمتر از ۱۰ درصد، ++: ۱۰-۵۰ درصد و +++: بیشتر از ۵۰ درصد. طرح رنگ پذیری نیز به صورت غشایی (ضخیم یا نازک)، سیتوپلاسمی و مخلوط طبقه‌بندی شدند (۱۴). داده‌ها با نرم‌افزار SPSS_{۱۵} (version 15, SPSS Inc,) (Chicago, IL) با تست‌های آماری t-test، ANOVA و χ^2 ، Scheffe، Leven، آنالیز گردید.

یافته‌ها

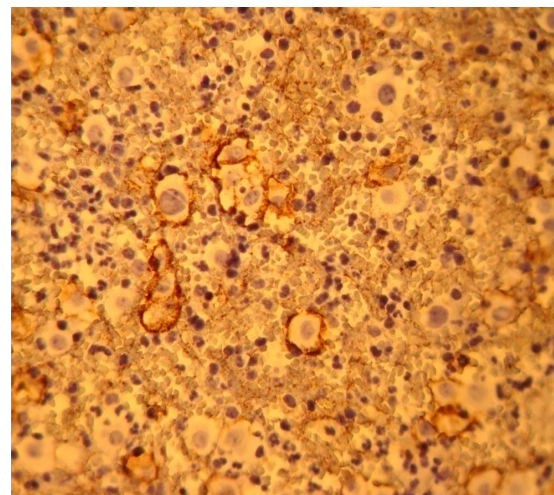
میانگین سنی افراد مورد بررسی برای گروه مزوتلیال واکنشی و آدنوکارسینوم متاستاتیک به ترتیب برابر با $12 \pm 5/5$ و $13 \pm 5/5$ بود.

میانگین درصد سلول‌های رنگ‌پذیر برای مارکر HBME-1 برای آدنوکارسینوم متاستاتیک برابر با $25/57$ (۳۶/۲۳-۱۴/۹) و برای گروه مزوتلیال واکنشی برابر $67/88$ (۷۳/۸۲-۶۱/۹۵) برآورد گردید ($P = 0/001$). شدت و الگوی رنگ‌پذیری برای دو گروه مذکور، در جداول و اشکال شماره‌ی ۱ و ۲ نشان داده شده است.

(۲۰/۸۲) $81/73$ و برای آدنوکارسینوم متاستاتیک (۴۲) $32/69$ محاسبه شد و تفاوت دو گروه معنی‌دار بود ($P = 0/001$).



شکل ۲. طرح رنگ‌پذیری سیتوپلاسمی برای آنتی‌بادی مونوکلونال HBME-1 در برخی از سلول‌های آدنوکارسینوم متاستاتیک ($400 \times$)



شکل ۱. طرح رنگ‌پذیری غشایی برای آنتی‌بادی مونوکلونال HBME-1 در سلول‌های مزوتلیال واکنشی ($400 \times$)

- طرح سیتوپلاسمی برای مزوتلیال واکنشی برابر صفر و برای آدنوکارسینوم متاستاتیک (۴۹) $44/38$ و تفاوت دو گروه معنی‌دار بود ($P = 0/001$). میانگین درصد سلول‌های رنگ‌پذیر به تفکیک منشأ آدنوکارسینوم‌های متاستاتیک نیز اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P = 0/001$) (جدول ۱).

فراوانی نسبی شدت و الگوی رنگ‌پذیری برای گروه مزوتلیال واکنشی و آدنوکارسینوم متاستاتیک در جداول ۲ و ۳ نشان داده شده است.

در ارزیابی شدت رنگ‌پذیری به تفکیک منشأ تومور، واکنش +++ طرح غالب در آدنوکارسینوم‌های تخمدانی بود و در سایر موارد دیده نشد. همچنین، الگوی رنگ‌پذیری غشایی طرح غالب در آدنوکارسینوم‌های تخمدانی بود و در سایر انواع این طرح شناسایی نگردید.

مقایسه‌ی میانگین (SD) الگوهای مختلف رنگ‌پذیری برای دو گروه به صورت زیر بود:

- طرح غشایی ضخیم برای مزوتلیال واکنشی برابر (۸۲) $26/18$ و برای آدنوکارسینوم متاستاتیک صفر محاسبه گردید و تفاوت دو گروه معنی‌دار بود ($P = 0/001$).

- طرح غشایی نازک برای مزوتلیال واکنشی

جدول ۱. مقایسه‌ی میانگین و انحراف معیار درصد رنگ‌پذیری آدنوکارسینوم‌های متاستاتیک به تفکیک منشأ

مکان اولیه	میانگین	انحراف معیار	تعداد
تخمدان	۵۲/۵	۲۳/۲۴	۱۰
ریه	۹/۲۸	۱۱/۳۳	۷
پستان	۱	۲/۲۳	۵
دستگاه گوارش	۱۷/۵	۱۲/۵۸	۴

P= ۰/۰۰۱

جدول ۲. مقایسه‌ی فراوانی نسبی شدت رنگ‌پذیری برای مارکر HBME-1 در دو گروه مزوتلیال واکنشی و آدنوکارسینوم متاستاتیک

شدت رنگ‌پذیری	مزوتلیال واکنشی (%) (n = ۲۶)	آدنوکارسینوم متاستاتیک (%) (n = ۲۶)
منفی	۰(۰)	۷(۲۶/۹)
+	۰(۰)	۴(۱۵/۳۸)
++	۳(۱۱/۵)	۱۱(۴۲/۳۰)
+++	۲۳(۸۸/۵)	۴(۱۵/۳۸)

P= ۰/۰۰۱

جدول ۳. مقایسه‌ی فراوانی نسبی الگوی رنگ‌پذیری برای مارکر HBME-1 در دو گروه مزوتلیال واکنشی و آدنوکارسینوم متاستاتیک

الگوی رنگ‌پذیری	مزوتلیال واکنشی (%) (n = ۲۶)	آدنوکارسینوم متاستاتیک (%) (n = ۲۶)
غشایی ضخیم	۱(۳/۸)	۰(۰)
غشایی نازک	۷(۲۶/۹)	۴(۲۱/۱)
غشایی ضخیم و نازک	۱۸(۶۹/۲)	۰(۰)
سیتوپلاسمیک	۰(۰)	۸(۴۲/۱)
مخلوط	۰(۰)	۷(۳۶/۸)

P= ۰/۰۰۱

بحث

سرورزی هستند، می‌توانند نمای سلول‌های مزوتلیال را تقلید کنند؛ بنابراین استفاده از روش‌های تشخیصی کمکی برای این موارد الزامی است (۵). آنتی‌بادی مونوکلونال HBME-1، بحث برانگیزترین مارکر مزوتلیالی پیشنهادی در این زمینه می‌باشد. تصور می‌شود که این آنتی‌بادی با یک آنتی‌ژن با ماهیت نامشخص در سطح ویلی سلول‌های مزوتلیال واکنش دهد؛ طبق نظرات برخی محققین، با توجه به ایجاد طرح رنگ‌پذیری غشایی، بر خلاف سلول‌های آدنوکارسینوم که طرح رنگ‌پذیری سیتوپلاسمی ایجاد می‌کنند، می‌توان این دو نوع سلول را از یکدیگر افتراق داد (۱۷-۱۵). در مطالعه‌ی حاضر میانگین

سلول‌های مزوتلیال واکنشی در برخی موارد به علت تغییرات شدید هسته‌ای می‌توانند نمای سلول‌های بدخیم را تقلید کنند. این تغییرات شامل بزرگی و بی‌نظمی هسته‌ای، طرح کروماتین خشن و هستک برجسته است. شرح حال بالینی بیمار از لحاظ وجود بیماری‌هایی مانند آمی، سیروز، لوپوس، انفارکت ریه، نارسایی کلیه و ابتلا به ایدز می‌تواند در توجیه این مسأله کمک کننده باشد؛ ولی در بسیاری از موارد، به خصوص بیماران سرپایی، دسترسی به شرح حال بیمار امکان‌پذیر نیست. از طرف دیگر، آدنوکارسینوم‌ها نیز که شایع‌ترین بدخیمی‌های درگیر کننده‌ی غشاهای

Ascoli و همکاران در مطالعه‌ای تحت عنوان «کاربرد HBME-1 در افوزیون‌های سروزی» به این نتیجه دست یافتند که درصد ایمونوراکتیویته برای سلول‌های مزوتلیال واکنشی از ۲۰ تا ۱۰۰ درصد متغیر بوده و به طور ثابت، الگوی رنگ‌پذیری غشایی و در مواردی اندک، طرح سیتوپلاسمی را نشان داده است. از گروه کارسینوم، ۲۴ درصد با HBME-1 واکنش دادند که بیشترین فراوانی با ۸۳ درصد موارد، مربوط به کارسینوم‌های تخمدانی و اغلب با طرح غشایی بود. سایر آدنوکارسینوم‌ها، پستان با ۸۹ درصد، ریه با ۹۳ درصد و دستگاه گوارش با ۸۶ درصد فاقد واکنش بود و انواع واکنش‌پذیر، طرح سیتوپلاسمی را نشان دادند (۱۳).

Lozano و همکاران نتیجه‌گیری کردند که HBME-1 در ۸۰ درصد آدنوکارسینوم‌ها، منفی و در تمام موارد سلول‌های مزوتلیال واکنشی، مثبت می‌باشد (۱).

در بررسی Fetsch و همکاران کلیه‌ی موارد، سلول‌های مزوتلیال واکنشی با طرح غشایی غالب برای HBME-1 ایمونوراکتیو بود؛ از لحاظ شدت رنگ نیز ۶۱ درصد موارد متوسط و ۱۲ درصد قوی بود (۲۰).

در مطالعه‌ی Longatto و همکاران، HBME-1 در ۲۵ درصد موارد آدنوکارسینوم تخمدانی مثبت بود (۲۱).

Politi و همکاران در مطالعه‌ی خود حساسیت و ویژگی مارکر HBME-1 را به ترتیب ۹۸ و ۷۱ درصد در افتراق سلول‌های مزوتلیال واکنشی از آدنوکارسینوم متاستاتیک برآورد کردند (۲۲).

درصد سلول‌های رنگ‌پذیر برای مارکر HBME-1 برای آدنوکارسینوم متاستاتیک (۲۵/۵۷) کمتر از مزوتلیال واکنشی (۶۷/۸۸) برآورد گردید (۰/۰۰۱ = P). از لحاظ شدت واکنش‌پذیری، واکنش‌های شدید درجه +++ در تعداد عمده‌ای از موارد مزوتلیال واکنشی رؤیت شد. طرح ستوپلاسمیک در هیچکدام از موارد مزوتلیال واکنشی دیده نشد و همچنین طرح غشایی نیز در موارد مزوتلیال واکنشی بیشتر از موارد آدنوکارسینوم دیده شد. بنابراین، ارزش افتراقی این مارکر با در نظر گرفتن طرح رنگ‌پذیری افزایش می‌یابد (۱۸). در مقایسه‌ی الگوی رنگ‌پذیری برای مارکر HBME-1، به تفکیک منشأ آدنوکارسینوم متاستاتیک، طرح مشابه سلول‌های مزوتلیالی راکتیو (یعنی طرح غشایی و واکنش +++ در آدنوکارسینوم‌های تخمدان مشاهده شد. توجیه این مسأله می‌تواند ناشی از قرابت نزدیک منشأ سلول‌های آدنوکارسینوم تخمدان با سلول‌های مزوتلیالی باشد. برای این که منشأ آدنوکارسینوم‌های تخمدانی از اپی‌تلیوم ژرمینال تخمدان است و تصور می‌شود که ماهیت این سلول‌ها، سلول‌های شبه مزوتلیالی با منشأ رویانی مشابه سلول‌های مزوتلیال باشد (۱۹). اگر آدنوکارسینوم‌های متاستاتیک تخمدان طرح مورفولوژیک کلاسیک بدخیمی شامل دستجات سلولی پر از دحام، پاپیلا و آتی‌پی سلولی شدید را نشان دهند، می‌توان به سهولت آن را از مزوتلیال راکتیو افتراق داد؛ ولی در مواردی که به طور ایزوله ریزش کنند، ارزش کمک تشخیصی مارکر HBME-1 بسیار محدود خواهد بود و بایستی به روش‌های تشخیصی دیگر متوسل شد.

شرایط شبیه به بیوپسی‌های بافتی استفاده گردید.

نتیجه‌گیری

طرح و شدت رنگ‌پذیری برای HBME-1، پانل مفید جهت افتراق سلول‌های آدنوکارسینوم از مزوتلیال واکنشی است. با توجه به قرابت ایمونوراکتیویتی مارکر HBME-1 در آدنوکارسینوم‌های متاستاتیک تخمدان با سلول‌های مزوتلیال واکنشی، کاربرد این مارکر به تنهایی در مایعات پریتوان حاوی سلول‌های کارسینوم متاستاتیک با منشأ تخمدانی، دارای محدودیت می‌باشد.

تنوع در میزان ایمونوراکتیویتی و هم‌پوشانی در طرح رنگ‌پذیری در سلول‌های مزوتلیال واکنشی و آدنوکارسینوم برای HBME-1 در مطالعات زیادی نشان داده شده است. گوناگونی در نتایج ممکن است در نتیجه‌ی اندازه و نوع نمونه، فیکساسیون، روش دماسکه کردن آنتی‌بادی، حساسیت بین آزمایشگاهی، کلون‌های آنتی‌بادی و تفسیر ایمونوراکتیویتی بین پاتولوژیست‌ها باشد (۲۲، ۲).

در این مطالعه، برای تقلیل مشکلات تکنیکی به جای استفاده از اسمیرهای سیتولوژی، از نمونه‌های خوب فیکس شده‌ی تهیه شده با روش سل بلاک، با

References

- Lozano MD, Panizo A, Toledo GR, Sola JJ, Pardo-Mindan J. Immunocytochemistry in the differential diagnosis of serous effusions: a comparative evaluation of eight monoclonal antibodies in Papanicolaou stained smears. *Cancer* 2001; 93(1): 68-72.
- Fetsch PA, Abati A. Immunocytochemistry in effusion cytology: a contemporary review. *Cancer* 2001; 93(5): 293-308.
- Sayed DM, el Attar MM, Hussein AA. Evaluation of flow cytometric immunophenotyping and DNA analysis for detection of malignant cells in serosal cavity fluids. *Diagn Cytopathol* 2009; 37(7): 498-504.
- Pierson DM, Jones D, Muzzafar T, Kersh MJ, Challagundla P, Medeiros LJ, et al. Utility of CD26 in flow cytometric immunophenotyping of T-cell lymphomas in tissue and body fluid specimens. *Cytometry B Clin Cytom* 2008; 74(6): 341-8.
- Krausz T, Barker FC. Reactive effusions. In: Gray W, McKee GT, Editors. *Diagnostic cytopathology*. London: Churchill Livingstone; 2003. p. 135-200.
- Murugan P, Siddaraju N, Habeebullah S, Basu D. Immunohistochemical distinction between mesothelial and adenocarcinoma cells in serous effusions: a combination panel-based approach with a brief review of the literature. *Indian J Pathol Microbiol* 2009; 52(2): 175-81.
- Yeh CJ, Chuang WY, Chou HH, Jung SM, Hsueh S. Multiple extragenital adenomatoid tumors in the mesocolon and omentum. *APMIS* 2008; 116(11): 1016-9.
- Henzi T, Blum WV, Pfefferli M, Kawecky TJ, Salicio V, Schwaller B. SV40-induced expression of calretinin protects mesothelial cells from asbestos cytotoxicity and may be a key factor contributing to mesothelioma pathogenesis. *Am J Pathol* 2009; 174(6): 2324-36.
- Iakhiaev AV, Rezaie AR, Idell S. Thrombomodulin-mediated catabolism of protein C by pleural mesothelial and vascular endothelial cells. *Thromb Haemost* 2007; 98(3): 627-34.
- Shield PW, Koivurinne K. The value of calretinin and cytokeratin 5/6 as markers for mesothelioma in cell block preparations of serous effusions. *Cytopathology* 2008; 19(4): 218-23.
- Saleh HA, El Fakharany M, Makki H, Kadhim A, Masood S. Differentiating reactive mesothelial cells from metastatic adenocarcinoma in serous effusions: the utility of immunocytochemical panel in the differential diagnosis. *Diagn Cytopathol* 2009; 37(5): 324-32.
- Szczepulska-Wojcik E, Langfort R, Roszkowski-Sliz K. A comparative evaluation of immunohistochemical markers for the differential diagnosis between malignant mesothelioma, non-small cell carcinoma involving the pleura, and benign reactive mesothelial cell proliferation. *Pneumonol Alergol Pol* 2007; 75(1): 57-69.
- Ascoli V, Carnovale-Scalzo C, Taccogna S, Nardi F. Utility of HBME-1 immunostaining in serous effusions. *Cytopathology* 1997; 8(5): 328-35.

14. Ueda J, Iwata T, Takahashi M, Hoshii Y, Ishihara T. Comparative immunochemical study of lectin-binding sites and cytoskeletal filaments in static and reactive mesothelium and adenocarcinoma. *Pathol Int* 2001; 51(6): 431-9.
15. Wu GP, Zhang SS, Fang CQ, Liu SL, Wang EH. Immunocytochemical panel for distinguishing carcinoma cells from reactive mesothelial cells in pleural effusions. *Cytopathology* 2008; 19(4): 212-7.
16. Mocanu L, Cimpean AM, Raica M. Value of antimesothelioma HBME-1 in the diagnosis of inflammatory and malignant pleural effusions. *Rom J Morphol Embryol* 2006; 47(4): 351-5.
17. Marchevsky AM, Wick MR. Evidence-based guidelines for the utilization of immunostains in diagnostic pathology: pulmonary adenocarcinoma versus mesothelioma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2007; 15(2): 140-4.
18. Ordonez NG. The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma: a comparative study of epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2003; 27(8): 1031-51.
19. Rosai J. Ovary: female reproductive system. In: Rosai J, Ackerman LV, Editors. *Rosai and Ackerman's surgical pathology*. Edinburgh: Mosby; 2005. p. 1659-74.
20. Fetsch PA, Abati A, Hijazi YM. Utility of the antibodies CA 19-9, HBME-1, and thrombomodulin in the diagnosis of malignant mesothelioma and adenocarcinoma in cytology. *Cancer* 1998; 84(2): 101-8.
21. Longatto FA, Alves VA, Kanamura CT, Nonogaki S, Bortolan J, Lombardo V, et al. Identification of the primary site of metastatic adenocarcinoma in serous effusions. Value of an immunocytochemical panel added to the clinical arsenal. *Acta Cytol* 2002; 46(4): 651-8.
22. Politi E, Kandaraki C, Apostolopoulou C, Kyritsi T, Koutselini H. Immunocytochemical panel for distinguishing between carcinoma and reactive mesothelial cells in body cavity fluids. *Diagn Cytopathol* 2005; 32(3): 151-5.

Evaluation of HBME-1 in the Differential Diagnosis of Reactive Mesothelial and Metastatic Adenocarcinoma Cells in Body Serous Effusions

Alireza Rahmani MD¹, Mohsen Dehgani MD², Noushin Afshar Moghaddam MD³,
Hamidreza Heidarian MD⁴

Abstract

Background: We tried to evaluate the diagnostic utility of HBME-1 in distinguishing between reactive mesothelial cells and adenocarcinoma in body serous effusions.

Methods: We examined 52 cytologic specimens of serous effusions processed by cell block technique retrieved from the pathology archive of Al-zahra hospital (Isfahan). They were categorized in two groups: Group I. 26 effusions containing reactive mesothelial cells from patients with no evidences of malignancy based on cytomorphology, clinical data and imaging; and Group II. 26 effusions containing adenocarcinomatous cells from patients with diagnosis established by routine histology. Immunostaining with HBME-1 was performed using an Envision technique. Statistical analysis was performed with SPSS software.

Findings: Statistical significance was found with HBME-1 when comparing both adenocarcinoma versus mesothelial cells ($P = 0.001$). Also, we found HBME-1 outlined cell membranes in reactive mesothelial cells versus cytoplasmic pattern in adenocarcinoma cells ($P = 0.001$). The staining intensity for adenocarcinoma cells included: Negative in 7 cases (26.9%); score + in 4 cases (15.38%), score ++ in 11 cases (42.30%) and score +++ in 4 cases (15.38%). In mesothelial cells, Negative and score + was not seen, score ++ was in 3 cases (11.5%), and score +++ in 23 cases (88.5%) ($P = 0.001$).

Conclusion: The staining pattern and intensity for HBME-1 is a useful panel for differentiation of adenocarcinoma and mesothelial cells. The only limitation of this marker is ovarian carcinoma that shows the same pattern as reactive mesothelial cells.

Keywords: Serous fluid, adenocarcinoma, reactive mesothelial, HBME-1 antigen, immunocytochemistry.

¹ Assistant Professor, Department of Gastroenterology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

² Assistant Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

³ Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Banda Abbas University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

⁴ Pathologist, Shiraz, Iran.

Corresponding Author: Noushin Afshar Moghaddam MD, E-mail: afsharmoghaddam@med.mui.ac.ir