مطالعه تغییرات ترکیبات موکوسی در ضایعات مخاطی معده به روش هیستوشیمی

محمدرضا عرب Ph.D.☆♦، تقی الطریحی Ph.D.★، شمس شریعت تربقان M.D.★

☆ دانشکدهٔ پزشکی زاهدان، گروه علوم تشریح

★ دانشگاه تربیت مدرس، دانشکدهٔ پزشکی، گروه علوم تشریح

★ مجتمع بیمارستانی امام خمینی، انستیتو کانسر

♦ زاهدان، صندوق پستی ۱۱۵-۹۸۱۶۵، دانشکدهٔ پزشکی، گروه علوم تشریح

چکیده

* **هدف:** مطالعهٔ تغییرات ترکیبات موکوسی در ضایعات مخاطی معده به روش هیستوشیمی

* **مواد و روشها:** نمونه برداری از بیست و پنج معدهٔ گاستر کتومی شده از محل ضایعه و بافتهای مجاور آن انجام شد و نمونه‌ها مطابق روشهای معمول در آسیب‌شناسی پاساژ داده شدند. بلوکهای پارافینی با ضخامت ۵ - ۳ میکرومتر بریده شدند و مقاطع بریده شده توسط رنگ آمیزیهای هماتوکسیلن - ائوزین، آلسین بلو در pH=۱ و pH=۲/۵ و تولوئیدین بلو دربافرورنول با pH=۴/۵ و تکنیکهای مختلف بلوک کردن گروههای شیمیایی (متیلاسیون آرام، متیلاسیون فعال و متیلاسیون فعال - واکنش صابونی کردن) مورد مطالعه قرار گرفتند.

* **یافته‌ها:** نتایج این مطالعه نشان داد که در متاپلازی روده‌ای در معده و کارسینوم سلول حلقه انگشتری در معده ماهیت ترکیبات موکوسی از نوع اسیدی است. همچنین سیالوموسینها و سولفوموسینها به ترتیب در متاپلازی تیپ I و تیپ IIb شناسایی شدند. به علاوه ترکیب رنگ آمیزیهای تولوئیدین بلو و بلوک کردن گروههای شیمیایی نشان داد که بنیانهای سولفات مسئول خاصیت متاکرومازی در ترکیبات موکوسی هستند.

* **نتیجه‌گیری:** از آنجاکه ترکیبات سولفوموسینی در متاپلازی روده‌ای به عنوان یک ریسک فاکتور جدی برای تغییرات نئوپلازی هستند لذا شناسایی این ترکیبات در بیوپسی‌های معده می‌تواند به عنوان زنگ خطر جدی برای تغییرات نئو پلازی در بیمار تلقی شود و نیاز به مراقبت و پی‌گیری مداوم و جدی از بیمار را نشان می‌دهد.

گل واژگان: ترکیبات موکوسی، ضایعات مخاطی، کارسینوما، هیستوشیمی

مقدمه

سرطان معده یکی از شایعترین سرطانهای کشور ما(۱) و دارای گستردگی جهانی است (۲، ۳). هر چندکه شیوع آن در چهل سال گذشته به نصف کاهش یافته است (۴)، ولی از آنجاکه اتیولوژی دقیق این بیماری برای ما شناخته شده نیست، لذا تنها نقطهٔ امیدواری، تشخیص اولیه و زود هنگام آن است. در این خصوص مطالعهٔ ضایعات پیش سرطانی در مخاط معده مثل دیسپلازی و متاپلازی روده‌ای از اهمیت خاصی برخوردار است چراکه در افزایش بقای عمر پنج ساله بیماران بسیار مؤثر است (۶، ۵، ۳). از طرف دیگر؛ از آنجاکه این ضایعهٔ مخاطی، بیماری بدون علامتی است، و معمولاً علایم آن در مراحل پیشرفتهٔ بیماری بروز می‌کند، لذا باید هرگونه علامت مشکوک جدی در نظر گرفته شود (۶).

نمای بافت شناسی و تغییرات ترکیبات موکوسی در ضایعات مخاطی در معده دارای تأثیر و نفوذ عمیقی در فرآیند سرطان زایی در آن است، آنچنان‌که در مواردی که متاپلازی روده‌ای در معده، عارضهٔ زمینه‌ای و پیش تاز در مخاط معده بوده، نوع کارسینومای حاصل از آن معمولاً از تمایز بالایی برخوردار است درحالی که در مواردی که متاپلازی در مخاط دیده نمی‌شود، نوع تومور معمولاً از تمایز سلولی پایینی برخوردار است. از نظر اپیدمیولوژی نوع اول در ژاپن و نوع دوم در کشورهای غربی شیوع بیشتری دارد (۷). تغییرات متاپلاستیک معمولاً در مخاط انتروم و در طول انحنای کوچک معده بیشتر دیده می‌شود و به تدریج در بافتهای مجاور گسترش می‌یابند (۸). تنوع فوق العادهٔ اشکال هیستولوژیک ضایعات مخاطی معده، انعکاسی از ساختمان پیچیدهٔ طبیعی مخاط در معده است (۸). در مواردی که نمای هیستولوژیک تومور از نوع سلولهای با تمایز بالا[1] است، تولید موکوس در سلولهای پوششی کاهش و در مواردی نیز مثل تومورهای موسینوس و موکوئید افزایش می‌یابد (۷، ۸). در این نوع تومور، مقدار قابل ملاحظه‌ای ترکیبات موسینی در تشکیلات تومورال وجود دارد و سلولهای تومورال نمای حلقه انگشتری[2] پیدا می‌کنند که ممکن است محتوی موسینهای اسیدی یا خنثی باشند (۹). این نوع تومورها، دارای تمایل زیادی برای ارتشاح و انفیلتراسیون بوده و معمولاً با واکنش فیبروز شدیدی همراه می‌باشند و معمولاً مستقل از متاپلازی روده‌ای تکوین می‌یابند (۹، ۱۰). در حالی که نوع روده‌ای سرطان معده[3] که با گاستریت مزمن و متعاقب آن متاپلازی روده‌ای ارتباط پیدا می‌کند (۱۱) دارای پیش آگهی مناسبتری نسبت به نوع منتشر است و به نظر می‌رسد بیشتر با عوامل محیطی ارتباط دارد (۸، ۹، ۱۲، ۱۳). ناحیهٔ شروع این تغییرات در معده، ناحیهٔ گرد نی غدد معدی یعنی همان نقطهٔ تقسیم سلولی است. به نظر می‌رسد تغییرات مخاطی فوق حاصل نوعی القای ناجور و نامناسب در سلولهای ریشه‌ای[4] متعاقب متاپلازی روده‌ای است (۱۴). ضایعات پیش سرطانی مثل پولیپهای هیپرپلاستیک، آدنوماها و متاپلازی روده‌ای تغییراتی ژنتیکی در خود نشان می‌دهند که مشابه کار سینوم با تمایز بالا است. به نظر می‌رسد مسیرهای ژنی متفاوتی در مسیرنئوپلازی سلولهای تومورال با تمایز بالا و پایین وجود داشته باشد (۱۵). مطالعات بیولوژی مولکولی سرطان معده طیف وسیعی از تغییرات ژنی را در انواع متفاوت تیپهای هیستولوژیک معده در افراد مختلف نشان داده است. در حال حاضر دلایل زیادی در دست است که در اپی‌تلیوم معده در متاپلازی روده‌ای و گاستریت آتروفیک نشانه‌های فراوانی از بیان غیر طبیعی ژنهای تنظیم‌کننده وجود دارد (۱۶).

ارتباط میان ترشح ترکیبات سولفوموسینی و سیالوموسینی و سرطان معده و متاپلازی روده‌ای مورد تأکید قرار گرفته است (۱۷). موسینهای ترشح شده توسط سلولهای تومورال از طریق کاهش چسبندگی سلولی و واکنشهای ایمنی، ممکن است در فرآیند تهاجم و متاستاز سلولهای تومورال دخالت داشته باشد که مسئول تولید و ترشح این ترکیبات یک خانواده ژنی خاص است که به نام (MUC 1-6) نامگذاری شده‌اند (۱۸).

با آن‌که متاپلازی اغلب اوقات همراه با سرطان معده، زخم معده و گاستریت آتروفیک دیده می‌شود، لیکن نقش و اهمیت آن در فرآیندهای پاتولوژیک همچنان مبهم و سئوال‌انگیز است. بیشتر محققین بر این باورند که تمام انواع متاپلازی نباید به عنوان ضایعاتی پیش سرطانی در نظر گرفته شود، در همین راستا مطالعات هیستوشیمی وجود چندین نوع متاپلازی را نشان داده است که بعضی تنها دارای اهمیت واکنشی هستند (۱۹).

مواد و روشها

نمونه‌های گرفته شده از محل ضایعه و بافتهای اطراف آن در بیست و پنج معده گاسترکتومی شده، به روش معمول در آسیب‌شناسی پس از تثبیت در فرمالین - سالین پاساژ داده شدند. از بلوکهای پارافینی تهیه شده با ضخامت ۵-۳ میکرومتر مقطع‌گیری به عمل آمد، آنگاه تحت رنگ آمیزیهای هماتوکسیلن - ائوزین، آلسین بلو در pH=۲/۵ و pH=۱ و تولوئیدین بلو در بافر ورنول در pH=۴/۵ قرار گرفتند. برای تعیین نوع بنیانهای فعال در ترکیبات موکوسی از ترکیب رنگ آمیزیهای آلسین بلو در pH=۲/۵ و تکنیکهای مختلف بلوک کردن گروههای شیمیایی (متیلاسیون فعال، متیلاسیون آرام، متیلاسیون فعال همراه واکنش صابونی شدن) استفاده شد. در روش متیلاسیون فعال، مقاطع پس از آبدهی مطابق روش معمول، به مدت ۵ ساعت در درجه حرارت ۶۰° سانتیگراد در محلول ۱ درصد اسیدکلریدریک در متانول قرار می‌گیرند و سپس با محلول آلسین‌بلو در pH=۲/۵ به مدت ۳۰ دقیقه رنگ‌آمیزی می‌شوند. لامهای گروه کنترل در شرایط فوق در آب مقطر ۶۰ درجه قرار می‌گیرند و آنگاه مطابق روش معمول آبگیری و چسبانده می‌شوند. در روش متیلاسیون آرام، مقاطع در محلول ۱ درصد اسید کلریدریک در متانول به مدت ۴ ساعت در درجه حرارت ۳۷° سانتیگراد قرار می‌گیرند. لامهای گروه کنترل در شرایط فوق در آب مقطر ۳۷° سانتیگراد قرار می‌گیرند. در روش متیلاسیون فعال و صابونی کردن مقاطع به روش معمول آبدهی می‌شوند و آنگاه مقاطع در محلول ۰/۸۵

1. Well differentiated
2. Signet ring
3. Intestinal type
4. Stem cell

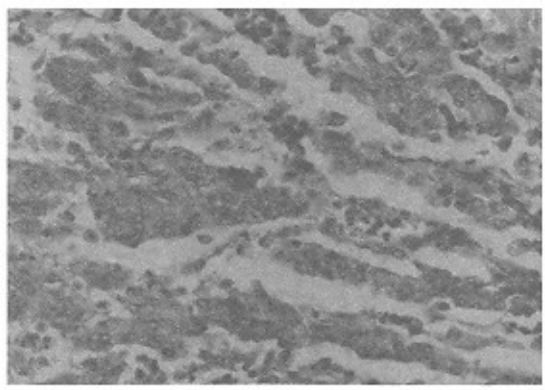
درصد اسیدکلریدریک در متانول به مدت ۵ ساعت و در درجه حرارت °۶۰ سانتیگراد قرار می‌گیرند. لامهای گروه کنترل در همین شرایط در آب مقطر قرار می‌گیرند و سپس نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت °۲۵ سانتیگراد در محلول واکنش صابونی شدن (۰/۵ درصد هیدروکسید پتاسیم در الکل ۷۰ درجه) قرار می‌گیرند.

و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در مجاورت محلول آلسین بلو در pH=۲/۵ قرار می‌گیرند و سپس مطابق روش معمول آبگیری و چسبانده می‌شوند. در روش بلوک کردن گروههای شیمیایی و تولوئیدین بلو روش کار مطابق الگوی گفته شده خواهد بود ولی در رنگ‌آمیزی به جای آلسین بلو از تولوئیدین بلو با pH=۴/۵ استفاده می‌شود. همچنین برای تعیین گروههای مسئول خاصیت متاکرومازی از ترکیب رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو و واکنشهای بلوک کردن گروههای شیمیایی استفاده شد (۲۰). سپس مقاطع رنگ‌آمیزی شده توسط همکاران پاتولوژیست مورد مشاهدهٔ میکروسکوپی قرار گرفت.

تمام نمونه‌های مورد مطالعه این تحقیق از بخش آسیب‌شناسی انستیتو کنسر مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره) تهران تهیه شدند.

یافته‌ها

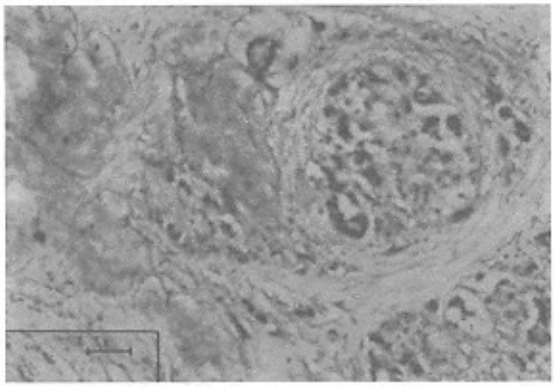
در ۲۲ بیمار (۸۸ درصد) علت گاسترکتومی ضایعات کارسینومایی و در ۳ بیمار (۱۲ درصد) علت گاسترکتومی، اولسرپپتیک، و گاستریت مزمن بود. از نظر توزیع سنی کمترین بیمار ۱۹ سال و مسن‌ترین آنها ۶۸ سال داشت که متوسط سن بیماران ۵۳ سال بود. از نظر توزیع جنسی ۱۷ بیمار (۶۸ درصد) مرد و ۸ بیمار (۳۲ درصد) زن بودند. از نظر محل ضایعه در ۱۰ بیمار (۴۰ درصد) محل ضایعه در انحنای کوچک، ۹ بیمار (۳۶ درصد) انتروپیلور و در ۵ بیمار (۲۰ درصد) ضایعه در محل کاردیا - فوندوس و در (۴ درصد) یک مورد ضایعه به صورت منتشر در سر تاسرمعده گسترش داشت. در بافتهای اطراف ضایعه در (۸۴ درصد) موارد درجاتی از دیسپلازی و در تمام موارد کارسینوما، (۸۸ درصد) متاپلازی مشاهده شد.



شکل ۱: کارسینوم Infiltrative، سلولهای تومورال دارای قابلیت تهاجم بالایی بوده و به صورت ورقه‌های سلولی آرایش می‌یابند. رنگ‌آمیزی: H&E، بزرگنمایی: ۲۰۰×

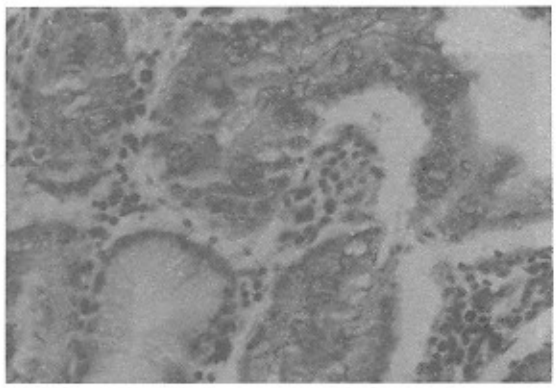
بر اساس تمایز سلولی در انواع کارسینوماها، آدنوکارسینوما با تمایز سلولی بالا، متوسط و ضعیف تقسیم بندی شدند که در آدنوکارسینوم با تمایزسلولی بالا، سلولهای تومورال تشکیلات غددی تمایز یافته‌ای ایجاد می‌کنند، در حالی که در آدنوکارسینوم با تمایز سلولی متوسط، سلولهای تومورال رفتارهای دوگانه‌ای برای ایجاد تشکیلات غددی از خود نشان می‌دهند و در آدنوکارسینوم با تمایز سلولی کم، سلولهای تومورال اساساً تمایلی به ایجاد تشکیلات غددی از خود نشان نمی‌دهند و بدین دلیل سلولهای نئوپلاستیک آزادانه در استرومای تومور انتشار می‌یابند (فتومیکروگراف ۱).

ترکیب رنگ‌آمیزی تولوئیدین بلو و واکنشهای بلوک کردن گروههای شیمیایی نشان داد که برای واکنش متاکرومازی بنیانهای سولفات ضروری هستند.



شکل ۲: ترکیبات موکوسی با قابلیت متاکرومازی در اطراف تشکیلات تومورال نشان داده شده است. رنگ‌آمیزی: Tuloidine blue، بزرگنمایی: ۲۰۰×

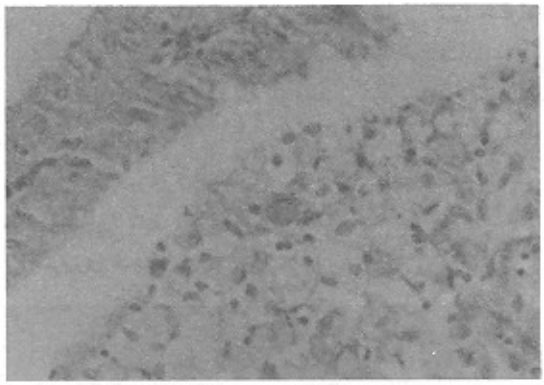
خاصیت متاکرومازی در سلولهای جامی شکل در بخشهای متاپلاستیک، سلولهای حلقه انگشتری و همچنین در ترکیبات موکوسی اطراف تشکیلات غددی مشاهده شد که در این مورد معمولاً تشکیلات متاکروماتیک به طور کامل تودهٔ سلولی تومورال را در بر می‌گیرند (فتومیکروگراف ۴ - ۲).



شکل ۳: قابلیت متاکرومازی ترکیبات موکوسی در سلولهای جامی شکل در متاپلازی روده‌ای در معده نشان داده شده است. رنگ‌آمیزی: Tuloidine blue، بزرگنمایی: ۲۰۰×

رنگ‌آمیزی آلسین بلو در pH=۲/۵ و pH=۱ قادر به ردیابی موکوپلی ساکاریدهای اسیدی از نوع سیالوموسینها و سولفوموسینها در بخشهای متاپلاستیک است. ترکیبات سولفوموسینی در سلولهای جامی

شکل در نواحی متاپلاستیک ردیابی شدند. این نوع ترکیبات در متاپلازی نوع کولونی[1] ردیابی شد. این نوع از متاپلازی قابلیت بالایی برای پیشرفت به سمت تغییرات نئوپلازیک دارد (فتومیکروگراف ۵).

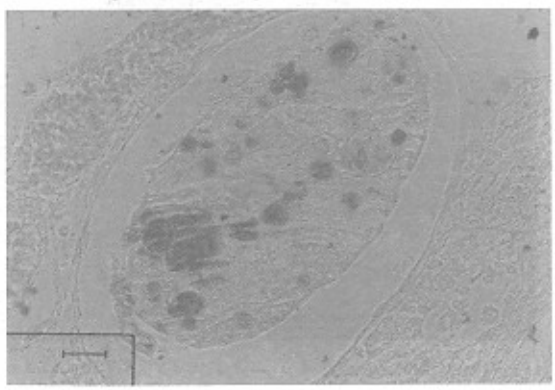


شکل ۴: ردیابی سلولهای ترشح کننده موسینهای اسیدی در کارسینوم سلول حلقه‌انگشتری. قابلیت بالای این رنگ‌آمیزی برای ترکیبات فوق نشان داده شده است.

رنگ‌آمیزی: Tuloidine blue، بزرگنمایی: ۴۰۰×

شکل ۵: ردیابی سلولهای ترشح کننده موسینهای اسیدی در متاپلازی روده‌ای. سلولهای جامی شکل به خوبی رنگ گرفته‌اند.

pH=1، رنگ‌آمیزی: Alcian blue، بزرگنمایی: ۲۰۰×



شکل ۶: ردیابی سلولهای تومورال ترشح کننده ترکیبات سولفوموسینی پس از میتیلاسیون آرام در سلولهای متاستاتیک درون یک لنفاتیک.

pH=2/5، رنگ‌آمیزی: Alcian blue، بزرگنمایی: ۴۰۰×

رنگ‌آمیزی آلسین بلو در pH=۲/۵ و روشهای بلوک کردن گروههای شیمیایی نشان داد که ماهیت سلولهای مهاجم تومورال اغلب از نوع سلولهای ترشح کننده ترکیبات سولفوموسینی است (فتومیکروگراف ۶).

بحث

متاپلازی روده‌ای، دیسپلازی، گاستریت آتروفیک و مزمن دسته‌ای از ضایعات مخاطی هستند که در اطراف نواحی تومورال وجود دارند و همچنین به عنوان پیش ساز تغییرات نئوپلازیک در مخاط معرفی شده‌اند (۸، ۲۱، ۲۲). متاپلازی روده‌ای در معده عبارت از جایگزین شدن مخاطی با خصوصیات اپی‌تلیوم روده‌ای به جای مخاط طبیعی است (۱۹). و به سه نوع قابل تقسیم است: تیپ I متاپلازی روده‌ای که تشابه زیادی با اپی تلیوم رودهٔ کوچک داشته و سلولهای آن اغلب سیالوموسین ترشح می‌کنند (۱۷)، تیپ IIa که در این نوع متاپلازی، سلولهای جامی شکل موسینهای اسیدی از دستهٔ سیالوموسینها و ندرتاً سولفوموسین ترشح می‌کنند؛ تیپ IIb که متشکل از سلولهای ترشح کنندهٔ سولفوموسین و ندرتاً سیالوموسین است (۱۷). میزان تولید سولفوموسین توسط سلولهای استوانه‌ای در این نوع متاپلازی متغیر است (۲۱). وقتی سلولهای پوششی ناحیهٔ انتروم دچار متاپلازی روده‌ای می‌شوند، لایهٔ زایای مخاط به طرف پایین کشیده می‌شود و تمایز آنها برای تبدیل به سلولهای غددی کاهش می‌یابد(۸).

مطالعات Mullen (۱۹۹۵) نشان داده است که سلولهای طبیعی مخاط معده سیالوموسین ترشح نمی‌کنند در حالی که سلولهای متاپلاستیک وکار سینومایی مخصوصاً اگر عفونت هلیکوباکتر پیلوری[2] نیز وجود داشته باشد، سیالوموسین ترشح می‌کنند. تولید موسین توسط سلولهای فوق به عنوان واکنش تطابق بدن در نظر گرفته می‌شود (۲۳).

از دیدگاه آناتومیک تمام قسمتهای معده قابلیت یکسانی برای تغییرات نئوپلاستیک از خود نشان نمی‌دهند بلکه نواحی انتروم - پیلور و انحنای کوچک معده بیشترین میزان تغییرات بدخیمی را به خود اختصاص می‌دهند (۷، ۱۰، ۱۳، ۱۴، ۲۴، ۲۵) که در این مطالعه نیز علیرغم تعداد کم بیماران، این موضوع مشاهده می‌شود.

تغییر در ماهیت ترشحات موکوسی یا حذف آنها به عنوان یکی از مظاهر تمایز غیر طبیعی در ضایعات پوششی معده معرفی شده است (۸، ۱۷، ۲۶، ۲۷). Haung معتقد است که با توجه به قابلیت تطابق و سازش بدن، متاپلازی روده‌ای و بالطبع تغییر در ماهیت ترکیبات موکوسی یک تغییر واکنشی بدن به عوامل آزار رسان است و تولید سولفوموسین در نواحی متاپلاستیک دارای ارزش محافظتی است؛ ولی با این وجود معتقد است که بعضی از انواع متاپلازی روده‌ای در سیر بیماری ممکن است ماهیت بد خیمی پیدا کنند (۲۸). Ghandur - mnaymneh معتقد است تولید فراوان موکوس مشخصه‌ای است که اغلب در مراحل تهاجمی و کمتر در مرحلهٔ *in situ* قابل مشاهده است (۲۹). اهمیت این مطالعه در این است که

1. Colonic type
2. Helicobacter Pylori

امکان تشخیص متاپلازی تیپ کولونی را فراهم می‌کند.

مطالعات Diressn و Haung پتانسیل متاپلازی تیپ کولونی را برای پیشرفت به طرف نئوپلازی مورد تأکید قرار داده است (۲۸، ۳۰). مطالعات Sakamoto و همکاران نشان داده است که هر چند فرآورده‌های خانوادهٔ ژنی MUC (1-6) بر حسب سن تغییر می‌کند اما نوع ترشح اعضای این خانوادهٔ ژنی با پیش آگهی بیمار نیز ارتباط دارد (۳۱). این امر نیز توجه به هیستوشیمی ترکیبات موکوسی در ضایعات مخاطی را بیشتر توجیه می‌کند. آلسین بلو رنگی بازی است که در pH پایین با تشکیل اتصالات نمکی با گروههای اسیدی ضعیف، موجب رنگ‌آمیزی موسینهای اسیدی می‌شود. در pHهای پایین فقط گروههای سولفات یونیزه باقی می‌مانند. بنابراین آلسین بلو در pH=۱ گروههای سولفات را ردیابی می‌کند. وجود این بنیانهای فعال توسط Ohe و همکاران نیز توسط آنتی بادی مونوکلونال در نواحی متاپلاستیک و کارسینومایی نشان داده شده است (۳۲). از طرف دیگر؛ در این مطالعه انجام واکنش متیلاسیون با واکنش استری کردن گروههای شیمیایی موجب غیر فعال شدن گروههای کربوکسیل و فعال ماندن گروههای سولفات شد. بنابراین می‌توان گفت این دو نوع رنگ‌آمیزی می‌تواند ترکیبات سولفوموسینی را در متاپلازی نشان دهد. لذا ردیابی این ترکیبات در نمونه‌های بیوپسی می‌تواند به عنوان یک زنگ خطر جدی برای بیمار تلقی شود و نیاز به پی‌گیری مداوم او را نشان می‌دهد و همچنین می‌تواند در برنامه‌های بیماریابی دسته جمعی مورد استفاده قرار گیرد.

به علاوه با توجه به حساسیت زیاد، این رنگ آمیزیها می‌تواند برای ارزیابی میزان تهاجم سلولهای تومورال در دیوارهٔ معده و درجه بندی آن مورد استفاده قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود واجب می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس که بودجه این طرح پژوهشی را عهده دار بود صمیمانه تشکر نمایند. همچنین همکاریهای فراوان بخش علوم تشریح دانشگاه تربیت مدرس که این پروژه در آنجا انجام گرفت و انستیتو کانسر مجتمع بیمارستانی امام خمینی(ره) و جناب آقای دکتر جمالی شایسته قدردانی است.

References

۱. رحمانی علیرضا: بررسی قسمت فوقانی دستگاه گوارش در استان اصفهان. سمینار سرطانهای دستگاه گوارش، ۱۳۶۹، انستیتوکانسر، دانشگاه علوم پزشکی تهران

2. Cortan RS, Kumar V, Robbins SL: Robbins pathological basis of disease, Philadelphia, WB Saunders, 1989, pp 838-858

3. Antonioli DA: Precursors of gastric caranoma: A Critical review with a brief description of early (curable) gastric cancer. Hum Pathol 1994; 25: 994-1005

4. Faivre J, Benhamiche AM: Epidemiology and etiology malignant gastric tumors. Rev Prat 1997; 47: 833-836

5. Domellof L, Sweden U, Janunger RG: The risk for Gastric carcinoma after partial gastrectomy. Am J Surg 1977; 134: 581-584

6. Cotton PB: Early gastric cancer: Proceeding of the second BSG. SK and F. international work shop. London costle House publication 1982

7. Devita VT, Helman S, Rosenberg SA: Cancer Principle and practice of oncology. 3ed, Philadelphia, JP Lippincott company, 1985, pp 765-799

8. Nagayo T: Histogenesis and precursor of Human gastric cancer, Berlin, Heidelberg springer verlag 1980

9. OoTa KL, Sobin H: International Histological classification of Tumors. WHO, No 18, 1977, pp 19-24

10. Tatematsu M, Furihatu C, Katsuyama T: Gastric and intestinal phenotypic expression of human singnet Ring cell carcinoma revealed by their biochemistry, Mucin Histochemistry and ultrastructre, Cancer Res 1986; 46: 4866-4872

11. Correa P, Chen VW: Gastric canecr. Cancer Surv 1994; 19: 55-76

12. Danvessar K, Pezzullo JC, Kessimian N: Gastric adenocarainoma: prognostic singificance of several pathologic parameters and histologic classification. Human Pathology 1990; 21: 325-332

13. Ming SC: Gastric adenocarcinoma. A pathological classification. Cancer 1997; 39: 2475-2485

14. Sipgelman AD, Williams CB, Talbot IC, Domizio P: Upper gastrointestinal cancer in patients with familial adenomatous polyposis. Lancet, 1989; 30: 783-785

15. Tahara E, Hofler H: Molecular bilogy of gastric cancer. World J Surg, 1995; 19: 484-490

16. Siponen P, Hyrarinen H, Seppala K, Balser MU: Pathogenesis of the transformation from gastritis to malignancy. Aliment pharmacol Ther suppl 1998; 12; 61-71

17. Jass JR: A classification of gastric dysplasia. Histopathology 1983; 7: 181-193

18. HO SB, Shekels LL, Trribara NW, Kim YS: Mucin gene expression in normal, preneoplastic and neoplastic human gastri epithelium. Cancer Res 1995; 55: 26181-26190

19. Shennib H, Lough J, Kelin HW, Hampson LG: Gastric carcinoma: intestinal metaplasia and tumor growth patterns as indicators of prognosis. Surgery

1986; 774-799
20. Drury RAB: Carleton histological technique. 5ed, Oxford university press, 1980, pp 232-260
21. Tosi P, Fillipe MI, Baak JPA, Santopietro R: Morphometric definition and grading of gastrointestinal metaplasia. J Pathol 161: 201-208
22. Grundmann E, Schalke W: Histology of possible precancerous stages in the stomach. Gastric cancer, Berlin, springer-verlag 1979; pp 72-82
23. Mullen PJ, Carr M, Milton JD, Rhodes JM: Immunohistochemical detection of O-acetylated sialomucins in intestinal metaplasia and carcinoma of the stomach. Histopathology 1995; 27: 161-167
24. Jarvis LR: Morphometric analysis of gastric dysplasia. J Pathol 1985; 147: 133-138
25. Wilson NW, Macartney JW: Organ culture of human gastric mucosa and gastric cancer: morphological aspects. J Pathol 1986; 150: 127-134
26. Matsukuma A, Mori M, Enjali M: Sulphomucin-secrering intestinal metaplasia in the human gastric mucosa. Cancer 1990; 66: 689-694
27. Lansdown M, Quirke P, Dixon MF, Axon AR: Highgrade dysplasia of the gastric mucosa: a marker for gastric carcinoma. Gut 1990; 31: 977-983
28. Haung Cun Bing, J UX, J E fei, Xian Yong meng: Sulphomucin colonic type intestinal metaplasia and carcinoma in the stomach. Cancer 1986; 57: 1370-1375
29. Ghandur-mnaymneh, Jose Paz: Dysplasia of Non metaplatic gastric mucosa. Am J Surg Pathol 1988; 12: 96-114
30. Driessn A, Ectors N, Creemers J, Filez L: Intestinal metaplasia in gastric malignacy: a comparison between carcinoma and lymphoma. Eur J Gasteroln-Hepatol. 1998; 10: 595-600
31. Sakamoto H, Yonezawa S, Utsunomiya T, Tannka S: Mucin antigen expression in gastric carcinomas of Young and old adults. Hun pathol 1997; 28: 1056-1065
32. Ohe Y, Y Hinoda, Irimura T, Imai K: Expression of sulfated carbohydrate chains detected by monoclonal antibody 91/9 H in human gastric caner tissues. Jpn J Cancer Res 1994; 85: 400-408