

بررسی اختلالات کروموزومی در بیماران مبتلا به سرطان دهان

دکتر حسن حسین پور جاجرم*، دکتر کاظم قدسی**

* دانشیار گروه بیماریهای دهان دانشکده دندانپزشکی و مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

** استادیار گروه ژنتیک دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تاریخ ارائه مقاله: ۸۴/۱۰/۷ - تاریخ پذیرش: ۸۴/۵/۲

Title: The assessment of chromosomal abnormalities in patients with oral cancer

Authors:

Hosein Pour Jajarm H. Associate Professor*, Ghodsi K. Assistant Professor**

Address:

* Dept of Oral Medicine, School of Dentistry and Dental Research Center of Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

** Dept of Genetics Medical School, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Introduction:

The aim of this study which was done for the first time in Iran, was the assessment of chromosomal abnormalities in patients with oral cancer.

Materials & Methods:

For clinical, epidemiologic and probable chromosomal abnormalities evaluation, 45 patients with oral cancer were selected from patients referred to oral disease department of Mashhad dental school and Emam Reza, Ghaem and Omid hospitals.

We performed clinical examination and biopsy for confirming diagnosis of oral cancer. After pathology confirmation, two blood samples (containing EDTA and heparin) were prepared from patients who had not received any treatments (radio therapy, chemical therapy or antibiotic therapy) during the previous two weeks.

Heparinized blood samples were transported to genetic laboratory for cell culture.

Results:

Cell culture of 30 patients was done successfully and the other 15 which failed, were excluded from the study. In Karyotype examination, no chromosomal abnormalities were detected in these patients.

Conclusion:

Minor chromosomal disorders can not be studied through current available procedures in Iran and FISH system which makes further studies available, had not been put into practice in Iran so far. Molecular genetic study and gene isolation can help in detecting gene effect on oral cancer.

Key words:

Chromosomal abnormalities, patients, oral cancer.

Journal of Dentistry. Mashhad University of Medical Sciences, 2005; 29: 51-56.

چکیده

مقدمه:

در این تحقیق که برای نخستین بار در ایران صورت گرفت، هدف بررسی اختلالات کروموزومی در بیماران مبتلا به سرطان دهان بود. در صورت وجود اختلالات کروموزومی می توان جهت پیشگیری قبل از تولد برنامه ریزی نمود.

مواد و روش ها:

این مطالعه به روش تصادفی از ۴۵ بیمار مبتلا به سرطان دهان مراجعه کننده به دانشکده دندانپزشکی، بیمارستانهای قائم، امام رضا و امید مشهد پس از تکمیل پرسشنامه و معاینات کلینیکی و تأیید بیماری سرطان دو نمونه خون وریدی از بیمارانی که هیچ درمانی (رادیوتراپی، شیمی درمانی یا آنتی بیوتیک درمانی) در طی دو هفته قبل دریافت نکرده بودند، (حاوی هپارین، EDTA) تهیه گردید. نمونه خون هپارینه جهت کشت سلولی به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان قائم ارسال گردید و به روش آماری Chi-square آنالیز گردید.

یافته ها:

کشت سلول خون محیطی ۳۰ بیمار با موفقیت انجام شد و ۱۵ بیمار دیگر از مطالعه خارج شدند.

در نمونه کاربوتایپ و بندینگ GTG این بیماران اختلال کروموزومی مشاهده نشد.

نتیجه گیری:

وجود اختلالات جزئی کروموزومی با روشهای شایع فعلی در ایران قابل مطالعه نیست و سیستم FISH امکان بیشتری برای بررسی کروموزومی فراهم می‌سازد که هنوز در ایران راه‌اندازی نشده است. مطالعه ژنتیک مولکولی و ایزوله نمودن ژن می‌تواند در درک، نقش ژنتیک در سرطان دهان مؤثر باشد.

کلید واژه ها:

اختلالات کروموزومی، بیماران، سرطان دهان.

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد / سال ۱۳۸۴ جلد ۲۹ / شماره ۱ و ۲

مقدمه:

به طوری که بیش از ۹۰٪ بدخیمی‌های دهان را شامل می‌شود. میزان بروز آن در مردان ۴ برابر زنان است ولی در حال حاضر این نسبت به ۲ برابر یا کمتر کاهش یافته است. افزایش بروز این بیماری در زنان می‌تواند ناشی از افزایش مصرف سیگار و نوشیدن الکل باشد^(۱،۲).

شایعترین محل بروز SCC در داخل دهان، زبان (سطح خلفی طرفی، قدامی شکمی)، کف دهان و سپس کام نرم می‌باشد. اکثر موارد SCC از یک ضایعه پیش بدخیم (سفید یا قرمز) بوجود می‌آید. شایعترین علت زخم مزمن و مقاوم در دهان یا بر روی لب‌ها SCC می‌باشد که طبیعت بدون درد آن موجب می‌شود بیمار پس از پیشرفت قابل ملاحظه بیماری به پزشک مراجعه نماید^(۳).

سیگار، تنباکو و الکل مهمترین عواملی هستند که در ایجاد سرطان دهان نقش دارند. مطالعه نشان داده که بیش از ۵۰٪ افراد مبتلا به سرطان دهان سیگار می‌کشند. نسبت مبتلایان به سرطان دهان در افراد سیگاری ۳-۲ برابر غیر سیگاری‌هاست. خطر ایجاد SCC در افرادی که روزانه ۴۰ سیگار می‌کشند ۵ برابر و برای کسانی که روزانه ۸۰ سیگار می‌کشند ۱۷ برابر می‌باشد^(۴-۵).

سرطانزایی یک روند ژنتیکی است که منجر به تغییر شکل و رفتار سلولی می‌شود. ارزیابی این تغییرات در سطح مولکولی ممکن است اولین وسیله تشخیص و کنترل این ضایعات باشد. تعیین اختلال کروموزومی در پیش‌بینی رفتار و تعیین میزان بقاء بیماری به ما کمک می‌کند^(۵).

سرطان بعد از بیماری‌های قلبی و عروقی دومین علت عمده مرگ و میر می‌باشد. آنچه حتی از میزان مرگ و میر ناشی از سرطان نیز دردناکتر است، رنج عاطفی و جسمانی حاصل از آن می‌باشد. تنها امید برای مهار این مصیبت هولناک، کسب آگاهی بیشتر درباره علت و بیماریزایی آن می‌باشد و در واقع گامهای بلندی در درک سبب شناسی و اساس مولکولی سرطان برداشته شده است^(۱).

سرطان دهان ۲٪ سرطانهای بدن را شامل می‌شود و یکی از ۱۰ علت شایع مرگ و میر در انسان است. این بیماری در افراد مسن بروز می‌کند به طوری که ۹۵٪ موارد آن در افراد بالای ۴۰ سال رخ می‌دهد. علت افزایش شیوع این بیماری در سنین بالا، تأثیر تجمعی عوامل سرطانزا از قبیل سیگار، الکل، تنباکو و ... بر روی مخاط دهان گزارش شده است^(۲).

اتیولوژی سرطان دهان چند عاملی بوده و طی یک فرایند چند مرحله‌ای رخ می‌دهد. مسلماً تغییرات و آسیب‌های وارده، DNA را تحت تأثیر قرار داده و آن را ناپایدار می‌سازد^(۳).

مجموعه‌ای از عوامل داخلی و خارجی برای بروز تغییرات بدخیمی مورد نیاز می‌باشد. سیگار، الکل، تنباکو، نور خورشید، تروما، تحریکات دندانی، AIDS و سایر وضعیتهای نقص ایمنی، آنتی فقر آهن، عفونت کاندیدا و ... از جمله عواملی هستند که در بروز سرطان دهان نقش دارند^(۲).

SCC شایعترین سرطان دهان با منشأ اپی تلیالی می‌باشد و شایعترین بدخیمی است که در حفره دهان مشاهده می‌شود.

مواد و روش ها:

جهت بررسی کلینیکی، اپیدمیولوژی و اختلال کروموزومی در بیماران مبتلا به سرطان دهان ۴۵ بیمار مبتلا به این بیماری از میان مراجعین به بیمارستان‌های قائم، امید، امام رضا و بخش بیماری‌های دهان دانشکده دندانپزشکی مشهد به طور تصادفی انتخاب گردیده و پس از معاینه کلینیکی، پرسشنامه‌ای حاوی سوابق دربارۀ سن، جنس، میزان تحصیلات، شغل، نوع بیماری، تاریخچه، عوامل خطر مختلف و... برای آنها تکمیل شد. سپس شجره‌نامه بیمار ترسیم گردید.

از بیمارانی که برای اولین بار مراجعه کرده بودند و هنوز تشخیص بیماری آنها مسجل نشده بود، بیوپسی تهیه گردید و جهت تأیید به بخش پاتولوژی دانشکده دندانپزشکی ارسال گردید. پس از تأیید پاتولوژی در صورت عدم درمان بیمار طی دو هفته گذشته (اعم از شیمی درمانی، رادیوتراپی و آنتی بیوتیک تراپی) دو نمونه خون وریدی (حاوی هپارین، EDTA) اخذ گردید. نمونه خون هپارینه جهت کشت سلولی به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان قائم مشهد ارسال گردید. نمونه خون حاوی EDTA جهت استخراج DNA (که به طرح بعدی موکول می‌شود) به دانشگاه منچستر انگلستان ارسال خواهد شد. از بیمارانی که تحت عمل جراحی قرار نگرفته بودند، نمونه بافتی تهیه گردید. قطعه‌ای از بافت سرطانی در شرایط کاملاً استریل به محیط کشت بافتی انتقال داده شد. جهت کشت به آزمایشگاه ژنتیک ارسال گردید. ولی کشت بافت بسیار حساس می‌باشد و در صورت آلودگی بافت، کشت آن با شکست مواجه می‌شود و از آنجا که محیط دهان حاوی میکروارگانیزم‌های فراوانی است، موفق به انجام این کار نشدیم.

سلولهای کشت شده هاروست^۱ شده و از سلولهای کشت شده گستره تهیه شد و کاریوتایپ آن مطالعه گردید. در نهایت

پروتوانکوژن‌ها در حالت طبیعی باعث رشد و تمایز سلول‌ها می‌شوند و احتمالاً در سرطانی‌ها نقش دارند. نقش تعدادی از این ژن‌ها در SCC سر و گردن گزارش شده است^(۵،۶).

ژن‌های سرکوب کننده تومور از رشد و تمایز سلول‌ها جلوگیری می‌کند. کاهش فعالیت این ژن‌ها در سرطانی‌ها معمول است. بعضی از آنها که در SCC نقش دارند عبارتند از p53، Rb و Apc^(۵،۶).

هر سلول ۲۳ جفت کروموزوم دارد و کروموزوم توسط سانترومر به یک بازوی کوچک (P) و یک بازوی بزرگ (q) تقسیم می‌شود.

TsG با ناهنجاری کروموزومی در ارتباط می‌باشد. نقص بازوی 3P و 9P حوادث اولیه در سرطان دهان می‌باشد. تغییر در کروموزوم ۱۳ و ۱۷ با پیشرفت بدخیمی ارتباط دارد. جهش در 13q در بیش از ۵۰٪ SCC‌های سر و گردن مشاهده شده است^(۶،۷).

Neglor (Sep 2002) LOH (نوعی اختلال ژنی) را مهمترین راه ارزیابی ریسک ایجاد سرطان دهان عنوان نمود^(۷). Jouren دو گروه بیمار مبتلا به کارسینوم مجرای هوایی که یک گروه دارای اختلال کروموزومی بودند و گروه دیگر فاقد آن بودند را با یکدیگر مقایسه نمود. وی به این نتیجه رسید که بیماران بدون اختلال کروموزومی (جابجایی 13,15) پاسخدهی مناسبی نسبت به درمان نشان می‌دهند و طول عمر بیشتری در مقایسه با گروه دیگر دارند^(۷).

Suzuki (2003) در مطالعه‌اش روی بیماران مبتلا به سرطان دهان پی برد که شکست بازوی کروموزومی 3q و 9p در اکثر هیپرپلازی‌ها و دیسپلازی‌ها وجود دارد. LOH روی بازوی 3q و 9p در تمامی موارد پیشرونده مشاهده می‌شود و خطر SCC را ۳/۸ برابر افزایش می‌دهد^(۸).

در زمینه نقش اختلال کروموزومی در سرطان دهان مطالعه‌ای صورت نگرفته است.

1 پاره شدن سلولهای کشت در محیط هیپوتونیک و خروج کروموزومهای آن

جدول ۳: توزیع بیماران مبتلا به سرطان دهان بر حسب مصرف سیگار و مواد مخدر

جنس	گروه	تعداد	درصد
سیگار		۸	۲۶/۶
سیگار و مواد مخدر		۵	۱۶/۶
تباکو (قلیان)		۱	۳/۳
عدم مصرف مواد مخدر		۱۶	۵۳/۵
کل		۳۰	۱۰۰

۳۶/۶٪ افراد کشاورز بودند و اکثر آنها بی سواد بودند. در

مجموع بیماران از سطح اجتماعی - اقتصادی پائینی برخوردار بودند.

در نمونه کاربوتایپ و بندینگ GTG این بیماران اختلال کروموزومی مشاهده نشد و کشت نمونه بافتی به دلیل آلودگی با فلور میکروبی طبیعی دهان حتی با استفاده از تکنیک‌های ضد عفونی کننده با شکست مواجه شد.

۹ بیمار سابقه ابتلا به سرطان را در سایر اعضای خانواده ذکر نمودند که از این تعداد ۲ نفر سابقه ابتلا به سرطان دهان در فامیل را گزارش کردند (جدول ۴).

جدول ۴: فراوانی بیماران مبتلا به سرطان دهان بر حسب سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان

جنس	گروه	تعداد	درصد
دارند		۹	۳۰
ندارند		۲۱	۷۰
کل		۳۰	۱۰۰

۲۳ بیمار به SCC مبتلا بودند. جایگاه آن در دهان به ترتیب شیوع عبارت بود از: زبان (۸ مورد)، کف دهان (۷ مورد)، وستیبول (۳ مورد)، لته (۲ مورد) و لب (۳ مورد).

بحث:

SCC شایعترین بدخیمی حفره دهان بویژه در افراد مسن می باشد. در مطالعه‌ای که توسط Silverman (۱۹۹۸) و Landis (۱۹۹۹) در آمریکا انجام گرفت، SCC، ۹۵٪ بدخیمی‌های

آنالیز کروموزومی و بندینگ GTG^۱ صورت گرفت و اطلاعات آماری بروش آماری Chi-square آنالیز و با استفاده از نرم افزار SPSS نمودارها رسم گردید

یافته‌ها:

کشت سلول خون محیطی ۳۰ بیمار با موفقیت انجام شد و ۱۵ بیمار دیگر از مطالعه خارج شدند.

از این ۳۰ بیمار ۱۶ بیمار زن و ۱۴ بیمار مرد بودند. میانگین سنی آنان ۵۲/۵ سال (متغیر از ۷۶-۳۰ سال) بود (جدول ۱ و ۲).

جدول ۱: توزیع فراوانی بیماران مبتلا به سرطان دهان بر حسب جنس

جنس	گروه	تعداد	درصد
مرد		۱۴	۴۶/۶
زن		۱۶	۵۳/۴
کل		۳۰	۱۰۰

جدول ۲: توزیع فراوانی بیماران مبتلا به سرطان دهان بر حسب سن

جنس	گروه	تعداد	درصد
۳۰-۳۹		۶	۲۰
۴۰-۵۹		۴	۱۳/۳
۵۰-۵۹		۱۳	۴۳/۳
۶۰-۶۹		۵	۱۶/۶
۷۰-۷۹		۲	۶/۶
کل		۳۰	۱۰۰

۴۶/۶٪ بیماران از سیگار و مواد مخدر استفاده می کردند.

تعدادی از آنها از سیگار و تریاک به صورت توأم استفاده می نمودند (جدول ۳).

۱ کروموزومها را قبل از رنگ آمیزی با ماده رنگی گیمسا بوسیله موادی از قبیل تریپسین، اوره آز که بتواند پروتئین را تجزیه نماید آماده می کنیم. بنابراین کروموزومها به صورت نوارهای تاریک و روشن رنگ می گیرند و می توان فتوگرافی تهیه نمود.

سن متوسط ابتلا به سرطان دهان به طور متوسط ۶۰ سال می‌باشد^(۲). در مطالعه‌ای که توسط دلاوریان در سال ۷۸ بر روی بیماران مراجعه کننده به دانشکده دندانپزشکی مشهد انجام شد، محدوده سنی افراد ۷۵-۶۱ سال بود^(۹). در این مطالعه میانگین سنی افراد ۵۲/۵ سال بود که نسبت به تحقیقات انجام شده در ایران و خارج از کشور کمتر می‌باشد.

در بررسی که توسط Kimura در سال ۲۰۰۳ بر روی ۱۸ بیمار مبتلا به SCC انجام شد، حذف بازوی کروموزومی Ip₃₆ در ۳ بیمار وجود داشت که می‌تواند عامل مهمی در تعیین پیش آگهی بیماری باشد^(۱۰).

در تحقیقی که توسط Yamamoto در سال ۲۰۰۱ بر روی ۱۶ بیمار مبتلا به SCC زبان انجام شد، ۷ بیمار LOH¹ روی بازوی کوتاه کروموزوم 3p را نشان دادند. ژن حذف کننده تومور روی 3p₂₄ و 3p₂₅ قرار داشت^(۱۱).

در این مطالعه اختلال کروموزومی در نمونه خون محیطی بیماران مورد مطالعه مشاهده نگردید.

بعضی از اختلالات کروموزومی ممکن است فقط در نمونه کشت بافت مشاهده شود ولی فلور نرمال دهان که حاوی میکروارگانسیم‌های فراوانی می‌باشد، مانع بررسی بافت شد.

نتیجه گیری:

وجود اختلالات جزئی کروموزومی با روشهای شایع فعلی در ایران قابل مطالعه نیست و سیستم FISH امکان بیشتری برای بررسی کروموزومی فراهم می‌سازد که هنوز در ایران راه اندازی نشده است.

گرچه اختلال کروموزومی در این مطالعه مشاهده نشد، ولی به نتایج دیگری دست یافتیم که به قرار زیر بود:

مطالعه شجره نامه بیماران نشان داد که اکثر بیماران مبتلا (۹ بیمار) سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان دارند و همچنین ۹ بیمار سابقه بیماری ژنتیکی در خانواده دارند.

SCC شایعترین بدخیمی حفره دهان بود و ارتباط زیادی با مصرف سیگار و مواد مخدر داشت.

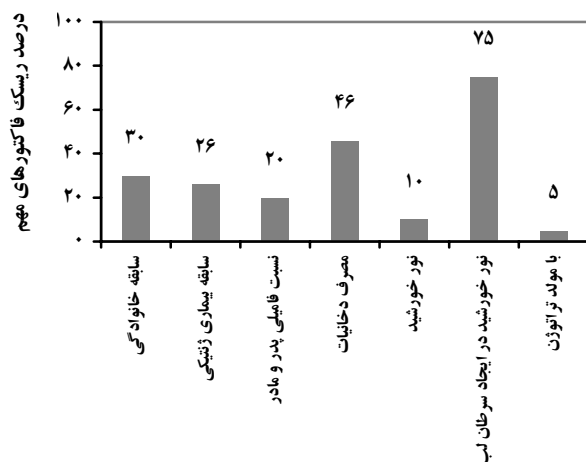
دهان را تشکیل داد^(۲). در این مطالعه SCC، ۷۱.۶٪ موارد را شامل شد.

سرطان دهان در ۶۰٪ موارد در مردان رخ می‌دهد و بروز آن در مردان ۴ برابر زنان می‌باشد. در مطالعه انجام شده توسط دلاوریان در سال ۷۸ در شهر مشهد، تمامی بیماران مبتلا به سرطان دهان مرد بودند^(۹). در این مطالعه ۱۴ بیمار مرد و ۱۶ بیمار زن بودند.

مصرف سیگار و مواد مخدر یکی از مهمترین عوامل خطری است که در ایجاد سرطان دهان نقش دارد. در مطالعه‌ای که توسط Greenberg (2003) انجام شد ۸۰٪ بیماران سیگاری بودند^(۲).

در بررسی حاضر ۴۶/۶٪ بیماران از دخانیات استفاده می‌کردند.

از ۳۰ بیمار مبتلا به سرطان دهان ۱۱ نفر کشاورز بودند و ۱۷ نفر بی‌سواد بودند. سطح اقتصادی - اجتماعی در زمان مراجعه بیمار به پزشک مؤثر می‌باشد و اکثر بیماران وقتی که ضایعه بسیار پیشرفت کرده بود، به پزشک مراجعه کرده بودند (نمودار ۱).



نمودار ۱: ارتباط ریسک فاکتورهای مهم در نظر گرفته شده با سرطان دهان

مطالعه ژنتیک مولکولی و ایزوله نمودن ژن می‌تواند در درک، نقش ژنتیک در سرطان دهان مؤثر باشد. بدین منظور DNA خون بیماران استخراج و جهت مطالعه بیشتر به دانشگاه منچستر انگلستان ارسال گردید.

بیمارانی که سرطان لب داشتند کشاورز بودند که به نظر می‌رسد نور خورشید عامل مهمی در ایجاد سرطان لب باشد. جهت مشاهده اختلالات کروموزومی بهتر است از کشت نمونه بافت علاوه بر کشت سلولی استفاده شود. هر چند تهیه نمونه بافتی از حفره دهان بسیار مشکل می‌باشد.

منابع :

1. Cotran R, Kummar V, Robbins S, Robbins Martin S, Greenberg J. Burket's oral medicine. 10th ed. Philadelphia: J B Lippincott Co; 2003. P. 195.
2. Nevile B, Douglas D, CARL M, Jerry E. Oral & maxillofacial pathology. 2nd ed. W B South Carolina Saunders Co; 2002. P. 356.
3. Little J, Falace D, Miller C, Rhodus N. Dental management of the Medical compromised patient. 6th ed. Florida Mosby Co. 2002. P. 398.
4. Eissa S, Shoman S. Tumor markers. 2nd ed. Chapman & Hall CO; 1998. P. 4.
5. Rooney De (Editor), human cytogenetics: constitutional analysis. 3rd ed. London: Oxford 2001. P. 11-28.
6. Neglar R, Lam Ky, Ng M, kwong DL, Sham Js. Expression of P – glycoprotein, a multi drug – resistance gene product, is induced by radiotherapy in patients with oral squamous cell carcinoma. Cancer 2002; 83: 851-57.
7. Jouren K, Mironova N, Voho A, Bouchardy C, wikman H. Glutation S. Trans ferasse GSTM 1, GSTM 3, GST pianK GSTT 1 genotypes and therish of smoking related oral and pharyngeal cancers. Int J Cancer 1999; 81: 44, 449.
8. Mineta H, Miura K, Suzuki I, Takebayashi S, Amano H. Low P27 expression correlates with Poor Prognosis for patients with oral tongue squamous cell carcinoma. Cancer 2003; 85: 1011-7.
9. بلندی، اشرف. استاد راهنما: زهرا دلاوریان. بررسی یکساله میزان بروز بدخیمی‌های مشاهده شده در حفره دهان از نظر بالینی و میکروسکوپی، مقطع دکتری، شماره پایان‌نامه ۱۲۹۲، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی، مشهد ۷۸-۱۳۷۷.
10. Kimura T, Ohki K. Deletion of 1P 36 in oral squamous cell carcinoma. Nippon Jibinkoka Gakkai kaiho 2002; 18-22.
11. Yamamoto N, Noma H, Shibahara T. Allelic imbalance on the long arm of chromosome 21 in human oral squamous cell carcinoma: relationship between allelic imbalances and clinico pathologic features. Bull Tokyo Dent Coll 2001; 42: 211-23.