

بررسی مقایسه ای رنگ پذیری پروتئین p53 و آنتی ژن Ki67 در لکوپلاکیای

هموزن و غیرهموزن

دکتر فهیمه بقایی^۱ - دکتر شهرزاد ادهمی^۲ - دکتر شهلا کاکویی^۳ - دکتر محمدرضا زارعی^۴

۱- استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان.

۲- استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان.

۳- استادیار گروه آموزشی بیماریهای دهان و تشخیص دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان.

۴- دانشیار گروه آموزشی بیماریهای دهان و تشخیص دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان.

چکیده

زمینه و هدف: لکوپلاکیا شایعترین ضایعه پیش بدخیم مخاط دهان است و توان تغییر بدخیمی آن غیرقابل پیش بینی می باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی رنگ پذیری پروتئین p53 در ارتباط با وضعیت پرولیفراسیون (آنتی ژن Ki67) در مخاط دهانی نرمال، لکوپلاکیای هموزن و لکوپلاکیای غیرهموزن می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی، از رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی با روش استاندارد Biotin Streptavidin peroxidase/ استفاده شد تا رنگ پذیری پروتئین p53 و آنتی ژن Ki67 روی بلوک های پارافینی هفت مورد لکوپلاکیای هموزن، ده مورد لکوپلاکیای غیرهموزن و نه مورد مخاط نرمال دهان مورد بررسی قرار گیرد. اطلاعات به دست آمده توسط آزمونهای ANOVA, Fisher exact test و McNemar تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها: هیچ ارتباطی بین میزان و شدت رنگ پذیری پروتئین p53 و آنتی ژن Ki67 با نمای بالینی لکوپلاکیا دیده نشد. اما الگوی انتشار آنها در لکوپلاکیا عمدتاً در لایه های بازال و سوپربازال و در اپی تلیوم نرمال عمدتاً بازال بود. میانگین سلول های مثبت برای Ki67 در ضایعات دیسپلاستیک نسبت به غیر دیسپلاستیک بالاتر بود. همچنین رابطه معنی داری بین میزان و شدت رنگ پذیری p53 و Ki67 در ضایعات تحت بررسی مشاهده شد.

نتیجه گیری: این یافته ها نشان می دهند که افزایش سوپر بازال p53 و Ki67 در اپی تلیوم لکوپلاکیا می تواند نشان دهنده پروگنوز بالینی ضعیف باشد و افزایش بروز p53 ممکن است شروع کننده پرولیفراسیون سلولی باشد.

کلید واژه ها: لکوپلاکیای دهانی - ایمنوهیستوشیمی - پروتئین p53 - آنتی ژن Ki67 - رنگ پذیری.

پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۲/۱۴

اصلاح نهایی: ۱۳۸۶/۱۱/۱۱

وصول مقاله: ۱۳۸۶/۶/۱۴

نویسنده مسئول: گروه آموزشی آسیب شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان e.mail:sh_adhami@kmu.ac.ir

مقدمه

ممکن است پیشرفت کرده، پلاک های ضخیم تر و شیارداری را ایجاد کنند که لکوپلاکیای هموزن نامیده می شود. (۱) با گذشت زمان، بعضی از ضایعات، نمای نامنظمتری پیدا کرده و دارای برجستگیهای سطحی می شوند و با پیشرفت بیماری، نواحی قرمز رنگی در سطح ضایعه ظاهر می شود که نمایانگر الگوی از لکوپلاکیاست که سلول های اپی تلیالی آن به قدری نابالغ هستند که دیگر قادر به ساختن کراتین نمی باشند. به این نوع لکوپلاکیا، لکوپلاکیای غیرهموزن گفته

لکوپلاکیا شایعترین ضایعه پیش سرطانی مخاط دهان است و بر اساس تعریف WHO به پلاک یا لکه های سفید رنگی اطلاق می شود که از نظر هیستوپاتولوژیک و بالینی نتوان آنرا به هیچ بیماری دیگری که منجر به ضایعات سفید در دهان شود، نسبت داد. (۱)

لکوپلاکیا نمایانگر بالینی متنوعی دارد و ممکن است با گذشت زمان دستخوش تغییراتی گردد. ضایعات اولیه به صورت پلاک های برجسته سفید خاکستری با سطح صاف هستند که

در مطالعه دیگری که توسط Santos در سال ۲۰۰۵ انجام شد، با افزایش شدت دیسپلازی و کاهش تمایز سلول‌ها، افزایش تظاهر p53 نیز مشاهده گردید. (۵)

همچنین در مطالعه‌ای که Kurokawa در سال ۲۰۰۳ در زمینه تظاهر P53, Ki67 در لکوپلاکیا انجام داد مشاهده کرد که رنگ‌پذیری p53 و Ki67 در لکوپلاکیا به میزان قابل توجهی از مخاط نرمال بیشتر است، اما تفاوت معنی‌داری بین میزان رنگ‌پذیری و محل یا نوع لکوپلاکیا دیده نشد. (۲)

با توجه به اینکه مطالعات انجام شده بر روی ارتباط رنگ‌پذیری پروتئین‌های p53 و Ki67 و نمای بالینی لکوپلاکیا بسیار اندک بوده و نتایج متفاوتی را به همراه داشته است، هدف از این مطالعه استفاده از تکنیک ایمنوهیستوشیمی (رنگ‌پذیری مارکرهای p53 و Ki67) جهت مطالعه لکوپلاکیای هموزن و غیرهموزن و همچنین بررسی رابطه بین مارکرهای فوق (افزایش بروز p53 و مهار آپوپتوز با افزایش قابلیت تکثیر سلولی) در این ضایعات می‌باشد.

روش بررسی

این مطالعه از نوع توصیفی بوده و بر روی بلوک‌های پارافینی کلیه نمونه‌های لکوپلاکیای هموزن و غیرهموزن موجود در بخش پاتولوژی دانشکده دندانپزشکی انجام گرفت که معادل هفت لکوپلاکیای هموزن و ده لکوپلاکیای غیرهموزن و نه کنترل می‌باشد که این تعداد بر اساس نمونه‌های قابل استفاده موجود در بخش بوده و از نظر تعداد نمونه‌ها تقریباً مشابه سایر مطالعات انجام شده در این رابطه می‌باشد. نمونه‌هایی وارد مطالعه شدند که بافت اپی‌تلیالی کافی و مناسبی داشتند و بلوک سالم آنها در فایل موجود بود و در صورت عدم مشاهده بافت اپی‌تلیالی یا بلوک بافتی نامناسب از مطالعه خارج می‌شدند. برای گروه کنترل نیز، مشابه سایر مطالعات از اپی‌تلیوم سالم سطح ضایعاتی از قبیل فیبروم تحریکی استفاده گردید.

برای تشخیص وجود پروتئین Ki67 و p53 در بافتها از تکنیک ایمنوهیستوشیمی با روش Biotin Streptavidin peroxidase استفاده شد.

از آنتی بادی منوکلونال p53 کلون DO7 با شماره سریال ۸۰۳۱۱۵ با منشا موش برای رنگ آمیزی p53 و از

می‌شود. (۱)

اگرچه لکوپلاکیا دارای نمای هیستوپاتولوژیک اختصاصی نیست ولی به عنوان یک ضایعه پیش بدخیم در نظر گرفته می‌شود که عمدتاً مردان بالای چهل سال را مبتلا می‌کند و شیوع آن با بالا رفتن سن، افزایش می‌یابد. (۱)

نمای بالینی راهنمای دقیقی برای پیشگویی احتمال تغییرات بدخیمی در لکوپلاکیا محسوب نمی‌شود. به عبارت دیگر، لکوپلاکیا ممکن است بدون اینکه دچار تغییرات کلینیکی شود، دیسپلاستیک و یا حتی دچار تغییرات کارسینوماتو گردد. (۱)

تجمع تغییرات ملکولی و ژنتیکی می‌توانند تغییرات فنوتیپیکی را آغاز کنند که از نظر هیستولوژیک در بافتها مشاهده می‌شود. (۲)، این تغییرات ممکن است با اختلال در تنظیم پرولیفراسیون و تمایز سلولی همراه باشند و p53 و Ki67 ملکول‌های پروتئینی مهمی در این رابطه می‌باشند. ملکول p53 در هسته قرار دارد و ژن مولد آن بر روی بازوی کوتاه کروموزم ۱۷ قرار دارد. این ژن یک فسفو پروتئین هسته‌ای را کد می‌کند که نقش مهمی در تنظیم پرولیفراسیون سلولی از طریق فعال کردن آپوپتوز بر عهده دارد. پروتئین p53 در بافتهای طبیعی عمر کوتاهی داشته و نمی‌توان با تکنیک ایمنوهیستوشیمی آن را نشان داد اما این پروتئین به دلایل مختلفی نظیر موتاسیون به مدت طولانی در بافت باقی می‌ماند. بنابراین افزایش تظاهر p53 می‌تواند نشانه غیرفعال بودن فرایند آپوپتوز باشد. (۳)

موتاسیون در ژن p53 در بیش از ۷۰٪ از سرطانهای انسانی، مبین اهمیت این ژن در سرطان زایی است. (۳)

آنتی‌ژن Ki67 یک مارکر اختصاصی سلول‌های در حال تزیاید است که در مراحل G₁, S, G₂, M تظاهر می‌یابد و به عنوان یک عامل دلتا پلیمرز در طول فاز سنتز DNA سیکل سلولی عمل می‌کند. اما در سلول‌های در حال استراحت بروز نمی‌کند. بنابراین، Ki67 یک مارکر پرولیفراسیون سلولی است. (۲)

Tokman و همکارانش در تحقیقی که در سال ۲۰۰۴ بر روی اسکواموس سل کارسینوماهای (SCC) دهانی انجام دادند، مشاهده کردند که مثبت بودن p53 نقش پیش‌بینی کننده مهمی در پیش آگهی SCC دارد. (۴)

تمامی ناحیه رنگ گرفته در سه تا چهار میدان امکان پذیر بود که برای نمونه‌های بزرگتر میانگین چهار میدان محاسبه شد. پس از جمع‌آوری اطلاعات و ورود آنها به برنامه SPSS (با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵٪ و $\alpha=0/05$) با استفاده از آزمون Fisher exact test ارتباطات بررسی و از تست آماری ANOVA یک راهه برای ارزیابی تفاوت میانگین سلول‌های رنگ گرفته (در لکوپلاکیای هموزن، غیرهموزن و کنترل و همچنین نمونه‌های دیسپلاستیک و غیردیسپلاستیک) و برای تعیین ارتباط بین دو مارکر از تست Mc Nemar استفاده شد.

یافته‌ها

از ۲۶ نمونه مورد مطالعه، ده مورد لکوپلاکیای غیرهموزن و هفت مورد لکوپلاکیای هموزن بودند و نه مورد در گروه کنترل قرار داشتند. میانگین سن در گروه غیرهموزن $4/14 \pm 4/8$ ، در گروه هموزن $9/10 \pm 4/4$ و در گروه کنترل $4/12 \pm 9/23$ بود که در این سه گروه تفاوت آماری معنی‌داری از نظر سن دیده نشد. در گروه غیرهموزن (هفت نفر)، گروه هموزن $9/42$ ٪ معادل سه نفر و در گروه کنترل $4/44$ برابر چهار نفر مرد و بقیه زن بودند. محل نمونه‌ها در ۱۹ مورد گونه، چهار مورد لثه، یک مورد ریج بی‌دندانی، یک مورد کف دهان و یک مورد در زبان بود. در گروه غیرهموزن 50 ٪ معادل پنج نفر و در گروه هموزن $85/7$ برابر شش نفر عاداتی از قبیل کشیدن سیگار و قلیان داشتند. از ده نمونه لکوپلاکیای غیرهموزن، هفت مورد دیسپلاستیک و از هفت مورد لکوپلاکیای هموزن فقط دو مورد دیسپلاستیک بودند. تقریباً تمامی نمونه‌ها (به جز یک مورد) رنگ پذیری p53 و Ki67 را نشان دادند.

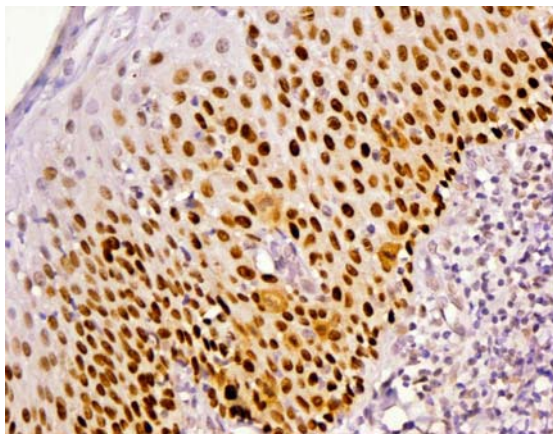
رنگ پذیری سوپرابازال برای پروتئین p53 و آنتی‌ژن Ki67 در گروه هموزن بیش از گروه کنترل بود، اما فقط در مورد Ki67 این تفاوت معنی‌دار بود. ($p=0/01$) همچنین در این مقایسه (رنگ‌پذیری سوپرابازال p53 و Ki67)، بین گروه غیرهموزن و کنترل تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده گردید. ($p=0/05$ و $p=0/03$) اما میزان رنگ‌پذیری سوپرابازال در نمونه‌های هموزن و غیرهموزن تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. نهایتاً میزان رنگ‌پذیری سوپرابازال p53 (شکل ۱) و Ki67 (شکل ۲) در کلیه نمونه‌های

آنتی بادی منوکلونال Ki67 کلون MM1 با شماره سریال ۸۰۱۷۰۹ با منشأ موش ساخت شرکت Novocastra و آنتی بادی ثانویه Novocastra post primary block RE7111 به عنوان یک پل رابط استفاده گردید و Novolink RE7112 به عنوان یک پل رابط بین ماده کروموژن DAB و آنتی بادی به کارگرفته شد. مراحل اصلی تکنیک به شرح زیر انجام شد:

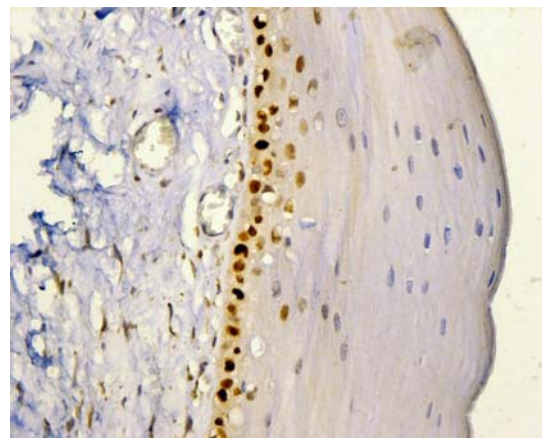
ابتدا از هرکدام از بلوک‌های پارافینی برشهایی به ضخامت چهار میکرون تهیه گردید و سپس در دمای شصت درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شدند و سه تغییر گزینول به منظور پارافین زدایی و پنج تغییر الکل به منظور دهیدراتاسیون تا آب مقطر را طی کردند. در مرحله بعد نمونه‌ها در محلول بافر سیترات قرار گرفتند، سپس به مدت بیست دقیقه در دمای اتاق سرد شدند. بعد از این مرحله نمونه‌ها به محلول PBS منتقل شده و به مدت پنج دقیقه در هیدروژن پراکساید ۳٪ جهت بلوک شدن فعالیت پراکساید از اندوزن انکوبه گردیدند. به منظور جلوگیری از رنگ‌آمیزی کاذب در زمینه از محلول سوپر بلاک به مدت پنج دقیقه استفاده شد. پس از آن به مدت ده دقیقه توسط تریپسین در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند و به مدت ده دقیقه در محلول آنتی بادی منوکلونال (p53 یا Ki67) قرار گرفتند و سپس در محلول Link که یک آنتی بادی بر علیه آنتی بادی اولیه است، در مدت ده دقیقه انکوبه گردیدند و پس از آن در محلول Avidinbiotin (به مدت ده دقیقه) قرار گرفتند. در مرحله بعد نمونه‌ها در کروموژن DAB انکوبه شدند. در این مرحله آنتی‌ژن مورد نظر در صورتی که در بافت وجود داشته باشد، به رنگ قهوه‌ای مشاهده خواهد شد. در فواصل تمام مراحل فوق از محلول PBS جهت شستشوی لام‌ها استفاده گردید.

بعد از انجام مراحل ایمنوهیستوشیمی، نمونه‌ها توسط همتوکسیلین مایر رنگ‌آمیزی و لام‌ها طبق معیارهای تعیین شده بررسی شدند.

شدت رنگ‌پذیری (ضعیف، متوسط و شدید)، محل انتشار (بازال و سوپرابازال) و همچنین میانگین سلول‌های مثبت در سه میدان میکروسکوپی ($\times 400$) در ضایعات مذکور مورد ارزیابی قرار گرفت. علت انتخاب متوسط سه میدان میکروسکوپی این بود که به دلیل کوچک بودن مقاطع اپی‌تلیالی بیوپسی‌ها که عمدتاً آنسینال بودند، بررسی تقریباً

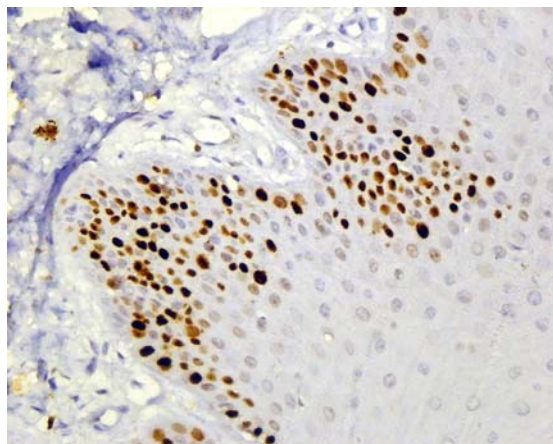


شکل ۱: ب

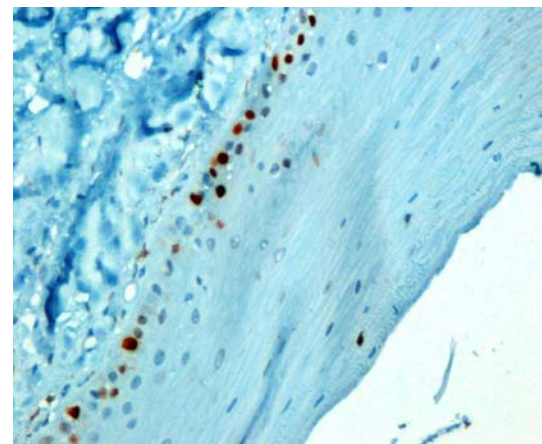


شکل ۱: الف

الف: رنگ‌پذیری ناحیه بازال پروتئین p53 در گروه کنترل
ب: رنگ‌پذیری سوپرا بازال پروتئین p53 در لکوپلاکیای غیرهموژن



شکل ۲: ب



شکل ۲: الف

الف: رنگ‌پذیری ناحیه بازال آنتی‌ژن Ki67 در گروه کنترل
ب: رنگ‌پذیری سوپرا بازال پروتئین Ki67 در لکوپلاکیای هموژن

تعداد سلول‌های مثبت برای آنتی‌ژن Ki67 در لکوپلاکیای دیسپلاستیک ($14/3 \pm 74$) به طور معنی‌داری از غیر دیسپلاستیک ($15/5 \pm 34/6$) بالاتر بود. ($p=0/002$)
سطح زیر سطح منحنی ROC در مورد p53 از نظر تعداد سلول‌های رنگ گرفته در لکوپلاکیا نسبت به بافت سالم در نمودار ۱ نشان داده شده است. میزان توافق بین محل رنگ‌پذیری سوپرا بازال برای پروتئین p53 و Ki67 در کلیه نمونه‌ها با استفاده از ضریب کاپا، توافق $0/71$ را نشان داد. ضریب همبستگی شدت رنگ‌پذیری در دو مارکر با استفاده از ضرایب همبستگی Spearman، $0/39$ و ضریب همبستگی Pearson بین تعداد سلول‌های مثبت در دو روش $0/42$ بود.

لکوپلاکیا (اعم از هموژن و غیرهموژن) با گروه کنترل مقایسه گردید که در هر دو مورد تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد به گونه‌ای که درصد رنگ‌پذیری سوپرا بازال در لکوپلاکیا از گروه کنترل بالاتر بود. (جدول ۱)
شدت‌پذیری p53 و Ki67 در لکوپلاکیای هموژن و غیرهموژن و گروه کنترل یکسان بود.
میانگین تعداد سلول‌های رنگ گرفته برای پروتئین p53 و Ki67 در سه گروه (هموژن، غیرهموژن و کنترل) اختلاف آماری معنی‌داری را نشان نداد که برای p53 و Ki67 به ترتیب در گروه غیرهموژن $77/4$ و $46/2$ در گروه هموژن $53/9$ و $64/7$ و در گروه کنترل $49/9$ و 53 بود.

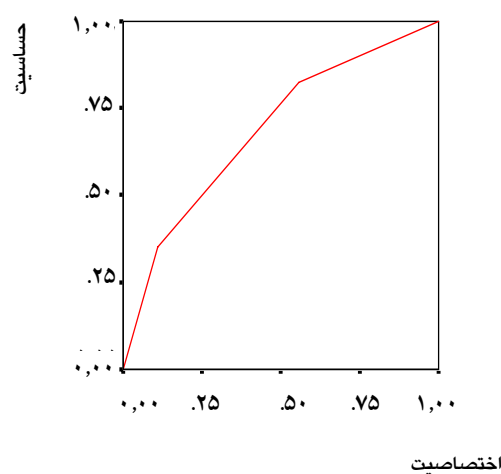
جدول ۱: مقایسه محل رنگ پذیری p53 و Ki67 در نمونه های لکوپلاکیا و مخاط دهانی نرمال

نتیجه آزمون Fisher exact	نرمال		لکوپلاکیا		گروه	متغیرها
	درصد	تعداد	درصد	تعداد		
$P = 0.01$	۶۶/۷	۶	۱۲/۵	۲	رنگ پذیری بازال	P53
	۳۳/۳	۳	۸۷/۵	۱۴	رنگ پذیری سوپرابازال	
$P = 0.003$	۶۶/۷	۶	۶/۳	۱	رنگ پذیری بازال	Ki67
	۳۳/۳	۳	۹۳/۸	۱۵	رنگ پذیری سوپرابازال	

دادند. (۶)، اما در مطالعه حاضر، میزان رنگ پذیری p53 در لکوپلاکیای هموژن و غیرهموژن یکسان بود. Zhao XY در سال ۲۰۰۵ طی مطالعه‌ای دریافت که رنگ پذیری p53 در ۳۱/۷٪ از نمونه‌های لکوپلاکیا و ۶۰٪ از نمونه‌های SCC مخاط دهان مثبت است. p53 در هیچ یک از نمونه‌های مخاط سالم دهان که به عنوان گروه شاهد در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند، مشاهده نشد. براساس نتایج این مطالعه p53 می‌تواند به عنوان یک مارکر ملکولی در کارسینوم‌های اپی‌تلیوم دهان استفاده شود. (۷) اما نتایج حاصله از مطالعه متفاوت بود و رنگ پذیری p53 در مخاط سالم دهان نیز مشاهده گردید و شدت و میزان آن با اپی‌تلیوم لکوپلاکیا تفاوت معنی‌داری نداشت. علت این وضعیت ممکن است حجم کم نمونه‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر باشد.

در مطالعه Takeda در سال ۲۰۰۶، افزایش سوپرابازال Ki67 نسبت به اپی‌تلیوم نرمال و همچنین افزایش میانگین تعداد سلول‌های مثبت در اپی‌تلیوم لکوپلاکیا نسبت به مخاط نرمال مشاهده گردید. (۸)، همچنین نتایج تحقیق Kurokawa در سال ۲۰۰۳ نشان داد که رنگ‌پذیری P53 و Ki67 در لکوپلاکیا به میزان قابل توجهی از مخاط نرمال بیشتر است اما تفاوت معنی‌داری بین میزان بروز و محل یا نوع لکوپلاکیا در این مطالعه دیده نشد. (۲)

در این مطالعه نیز افزایش رنگ‌پذیری سوپرابازال p53 و Ki67 در اپی‌تلیوم لکوپلاکیا مشاهده شد. همچنین ملاحظه گردید که رنگ‌پذیری Ki67 به موازات شدت دیسپلازی افزایش می‌یابد. باوجود این، بین میزان رنگ‌پذیری و نوع لکوپلاکیا ارتباط آماری معنی‌داری دیده نشد که این نتایج



نمودار ۱: سطح زیر منحنی ROC برای تشخیص لکوپلاکیا در مقابل بافت سالم با استفاده از تعداد سلول‌های مثبت در رنگ آمیزی p53

بحث

تا کنون مطالعات کمی ارتباط بین نمای بالینی لکوپلاکیا با پروتئین p53 و آنتی‌ژن Ki67 را بررسی کرده‌اند. در این مطالعه رابطه آماری معنی‌داری بین شدت و میزان رنگ پذیری p53 و Ki67 با نمای کلینیکی لکوپلاکیا مشاهده نگردید، اما ارتباط مثبتی بین میزان و شدت رنگ پذیری p53 و Ki67 مشاهده شد.

در مطالعه‌ای که توسط Kikegawa در سال ۲۰۰۱ در ژاپن برای بررسی ارتباط p53 با پیش‌آگهی لکوپلاکیا انجام گرفت، ارتباط مستقیمی بین بروز p53 و ویژگی‌های بالینی لکوپلاکیا از نظر آماری دیده شد و تغییرات بدخیمی بیشتر در لکوپلاکیاهایی مشاهده شد که رنگ پذیری p53 را نشان

موتاسیون ژن تومورسپرسور p53 متداولترین اختلال ژنتیکی است که در سرطانهای انسانی مشاهده شده است. (۳)، پروتئین p53 جهش یافته پایداری از شکل طبیعی آن است و بنابراین می‌تواند به وسیله ایمنو هیستوشیمی نشان داده شود و تجمع پروتئین p53 در سلول عمدتاً در نتیجه موتاسیون ژن p53 می‌باشد. در این مطالعه الگوی رنگ پذیری p53 و Ki67 در مخاط نرمال عمدتاً بازال بود در حالی که در لکوپلاکیا علاوه بر لایه بازال به لایه‌های سوپر بازال نیز گسترش یافته بود. مطالعات قبلی (ذکر شده) نیز نتایج مشابهی را نشان داده بودند که می‌تواند پیشنهاد کننده این مسئله باشد که افزایش سوپر بازال در اپی‌تلیوم لکوپلاکیا می‌تواند در ارتباط با پروگنوز بالینی ضعیف باشد. (۹)

اخیراً بروز Ki67 در محل Invasive Tumor Front کارسینوم سلول سنگفرشی دهان گزارش شده است که می‌تواند نشان دهنده ارتباط قوی با میزان تمایز سلول‌های سرطان دهان باشد. همچنین در مطالعه فوق Ki67 به عنوان یک مارکر ارزشمند پروگنوستیک در SCC دهانی معرفی شده است، در حالی که این مسئله در مورد p53 یا PCNA مصداق نداشته است (هیچ ارتباطی بین p53 و PCNA و پیش آگهی بیماری دیده نشد). (۱۲)، پس می‌توان بیان کرد که در بین این دو مارکر، آنتی ژن Ki67 همراهی قابل توجه تری با پیشرفت بیماری دارد و این تغییر بروز می‌تواند برای ضایعات پیش بدخیم اهمیت پروگنوستیک داشته باشد.

مثبت بودن ایمنو هیستوکمیکال برای پروتئین p53 در سلول پیشنهاد کننده موتاسیون این ژن می‌باشد. از طرفی تجمع پروتئین p53 در سلول‌های نرمال به دنبال فشارهایی از قبیل اشعه UV و قرار گرفتن در معرض کارسینوژن‌ها جمع می‌شود. (۳)، علاوه بر آن عواملی از قبیل سیتوکین‌های التهابی نیز می‌توانند نیمه عمر p53 طبیعی را افزایش دهند که در این حالات با متد IHC آنتی ژن نوع طبیعی را می‌توان شناسایی کرد. (۱۳)، بنابراین ممکن است رنگ پذیری p53 در اپی‌تلیوم نرمال دهان در نتیجه تجمع p53 نرمال باشد که توسط کارسینوژن‌ها یا عوامل التهابی ایجاد شده است. در مطالعه حاضر همراهی بروز p53 و Ki67 به وضوح مشاهده شده است و ارتباط معنی‌دار بین بروز p53 و Ki67 پیشنهاد کننده این مسئله است که تغییر p53 منجر به افزایش پرولیفراسیون سلولی می‌گردد.

موافق با یافته‌های مطالعات دیگر می‌باشد.

در بررسی Inmaroon و همکارانش در سال ۲۰۰۴ در تایلند میانگین تعداد سلول‌های مثبت از نظر وجود p53 و Ki67 در ضایعات پیش بدخیم عمدتاً در لایه‌های بازال و سوپرابازال ولی در اپی‌تلیوم نرمال عمدتاً بازال بود و بین میزان رنگ‌پذیری این دو مارکر ارتباط مستقیمی مشاهده گردید (۹) که محل انتشار سلول‌های مثبت در این مطالعه مشابه بررسی فوق بود و همچنین رابطه مثبتی بین p53 و Ki67 مشاهده شد اما میانگین سلول‌های مثبت برای p53 در مطالعه حاضر مشابه ضایعات پیش بدخیم بود.

بر اساس نتایج مطالعه Kovesi در سال ۲۰۰۳ که در آن شدت دیسپلازی، رنگ‌پذیری و همچنین محل و شدت رنگ‌پذیری p53 و Ki67 در ارتباط با نمای کلینیکی لکوپلاکیا بررسی شد. این مطالعه نشان داد که بروز Ki67 به میزان قابل توجهی به موازات شدت دیسپلازی افزایش می‌یابد. افزایش بروز Ki67 به موازات دیسپلازی با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد. (۱۰)

همچنین در مطالعه Kovesi مثبت بودن و محل داخل سلولی p53 بر طبق شکل کلینیکی لکوپلاکیا متغیر بود. رنگ‌پذیری در انواع هموزن و ندولار، سیتوپلاسمیک و اریتروپلاکیا و کارسینوما ازالگوی هسته‌ای تبعیت می‌کرد. (۱۰)

در مطالعه حاضر تنها رنگ‌پذیری هسته‌ای در نمونه‌های بافتی ضایعات مورد بررسی قرار گرفت و همین امر می‌تواند توجیه کننده علت اختلاف نتایج این مطالعه با مطالعه Kovesi باشد.

همچنین در مطالعه Merks و همکارانش در سال ۲۰۰۵ برای تعیین ارزش عوامل پروگنوستیک در بروز تغییرات بدخیمی مخاط دهان، یک مطالعه گذشته نگر انجام شد و ویژگیهای کلینیکی و هیستوپاتولوژیک ۱۰۴ بیمار مبتلا به لکوپلاکیا آنالیز شد. نتایج این مطالعه نشان داد که هیچ ارتباطی بین اندازه ضایعه، نمای کلینیکی، محل و نوع درمان اولیه ضایعه با ریسک ایجاد سرطان وجود ندارد و تنها شدت دیسپلازی با بروز تغییرات بدخیمی مرتبط بود. (۱۱)، گزارشات مطالعه Merks که فقدان ارتباط بین نمای کلینیکی و ریسک ایجاد بدخیمی را بیان کرده است، می‌تواند تأیید کننده این مطالعه باشد که در آن ارتباطی بین میزان و شدت رنگ‌پذیری p53 و Ki67 با نمای بالینی لکوپلاکیا مشاهده نشد.

رنگ پذیری پروتئین p53 و آنتی ژن Ki67 با نمای بالینی لکوپلاکیا وجود ندارد. همچنین افزایش سوپر بازال p53 و Ki67 در اپی تلیوم لکوپلاکیا می تواند نشان دهنده پروگنوز بالینی ضعیف باشد و افزایش بروز p53 ممکن است شروع کننده پرولیفراسیون سلولی باشد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان به جهت تصویب و تأمین بودجه مورد نظر تشکر و قدردانی می گردد.

مطالعه بر روی بروز ایمنوهیستوکمیکال p53 و Ki67 در لکوپلاکیا نتایج متفاوتی را در پی داشته است. علت این امر مشخص نیست اما روشهای رنگ آمیزی و یا کلون آنتی بادی های مختلف می توانند توجیه کننده این ناهماهنگیها باشند. مطالعات آینده نگر با تعداد نمونه بیشتر و در صورت امکان بررسیهای ژنتیکی پیشنهاد می شود تا به اطلاعات ارزشمندتر و دقیقتری در مورد ماهیت ملکولی و ژنتیکی این ضایعات دست یافت.

نتیجه گیری

این یافته ها نشان می دهند که هیچ ارتباطی بین میزان و شدت

REFERENCES

1. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral and maxillofacial pathology. 2nded. Philadelphia: Saunders CO; 2002, 337, 340-341.
2. Kurokawa H, Matsumoto S, Murata T, Yamashita Y, Tomoyose T, Zhang M, Fukuyama H, Takahashi T. Immunohistochemical study of syndecan-1 down-regulation and the exoression of p53 protein or Ki67 antigen in oral leukoplakia with or without epithelial displasia. J Oral Pathol Med. 2003 Oct;32(9):513-21.
3. Cotran R, Kumar V, Collins T. Robins pathologic basis of disease. 6th ed. Philadelphia: Saunders Co; 1999, 290 , 291,292.
4. Tokman B, Gultekin SE, Sezer C, Alpar R. The expression of p53, p16 proteins and prevalence of apoptosis in oral squamous cell carcinoma. correlation with mode of invasion grading system. Saudi Med J. 2004 Dec;25(12):1922-30.
5. Santos-Garsia A, Abad-Hernandez MM, Fonseca-Sanchez E, Cruz-Hernandez JJ, Bullon-Sopelana A. Proteic expression of p53 and cellular proliferation in oral leukoplakia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 2005 Jan-Feb;10(1):5-8.
6. Kikegawa A. Immunohistochemical analysis of the p53 tumor suppressor gene product in oral leukoplakia. Kokubyo Gakkai Zasshi. 2001 Mar; 68(1):51-9.
7. Zhao XY, Liu HW, Wei MJ. Expression of PDCDS and p53 in oral leukoplakia and squamous cell carcinoma. Beijing Da Xue Xue Bao 2005 Aug; 37(4):429-32.
8. Takeda T, Sugihara K, Hirayama Y, Hirano M, Tanuma JI, Semba J I. Immunohistological evaluation of Ki67 , p63, CK19 and p53 expression in oral epithelial dysplasia. J Oral Pathol Med. 2006 Jul;35(6):369-75.
9. Iamaroon A, Khemaleelakul U, Pongsiriwet S, Pintong J. Coexpression of p53 and ki67 and lack of EBV expression in oral squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med. 2004 Jan;33(1):30-6.
10. Kovesi G, Szende B. Changes in apoptosis and mitotic index, p53 and Ki67 expression in various types of oral leukoplakia. Oncology 2003 Nov;65(4):331-6.

11. Merks MA, Hoeven J, Wild PC. Premalignant lesions of the oral mucosa, prognosis, treatment and follow up. Ned Tijdschr Tandheelkd. 2005 Feb; 112(2):51-5.
12. Sittel C, Ruiz S, Volling P, Kvasnicka HM, Jungehulsing M, Eckel HE. Prognostic significance of Ki67, PCNA and p53 in cancer of the oropharynx and oral cavity. Oral Oncol. 1999 Feb; 35(6):583-9.
13. Kaplan I, Vered M, Moskona D, Buchner A, Dayan D. An immunohistochemical study of p53 and PCNA in inflammatory papillary hyperplasia of the palate: A dilemma of interpretation. Oral Dis. 1998 Sep; 4(3):194-9.