

بررسی میکروسکوپیک تغییرات سلول‌های پوششی مخاط نرمال دهان متأثر از

رادیوتراپی و شیمی درمانی در مبتلایان به سرطان سر و گردن

دکتر فاطمه مشهدی عباس*، دکتر حمیدرضا میرزائی**، دکتر علیرضا اکبرزاده باغبان***، دکتر آیت‌اله رضوی****

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات محدودی در مورد تاثیرات رادیوتراپی و شیمی درمانی در سطح سلولی صورت گرفته‌اند. مطالعه حاضر با هدف تعیین تغییرات سلولی مخاط نرمال دهان متأثر از رادیوتراپی و شیمی درمانی در مبتلایان به سرطان سر و گردن انجام گرفت. **مواد و روشها:** این مطالعه نیمه تجربی، بر روی ۷۰ بیمار جهت ارزیابی اثرات رادیوتراپی و شیمی درمانی بر سلول‌های نرمال مخاط دهان آنها که در محدوده فیلد درمانی قرار داشت، انجام شد. دو لام یکی از مخاط کراتینیزه و دیگری از مخاط غیرکراتینیزه دهان در ابتدا و انتهای درمان تهیه و با استفاده از میکروسکوپ نوری به صورت *blind* بررسی و با یکدیگر مقایسه شدند. برای مقایسه‌های آماری از آزمون‌های *Marginal Homogeneity McNemar* و *Wilcoxon* استفاده شد.

یافته‌ها: مقایسه لام‌های سیتولوژی نشان دهنده تغییرات هسته، سیتوپلاسم، نسبت *N/C ratio*، پیدایش اشکال بیضار، انورمالیتی سلولی، واکنش شدن هسته و سیتوپلاسم در سلول‌های متأثر از درمان بود که تفاوت معنی‌داری با قبل از درمان داشت ($P < 0/001$). همچنین کراتین‌سازی در سلول‌های طبقات پایین مخاط دهان در لام‌های سیتولوژی بعد از درمان مشهود بود ($P < 0/001$). تعداد سلول‌های التهابی در زمینه این لام‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($P < 0/001$). ازدیاد آپوپتوز سلولی، سلول‌های گرانولر فراوان با گرانول‌های خیلی بزرگ، مشاهده سلول‌های چند هسته‌ای با هستک‌های واضح، رویت کلنی باکتری و کاندیدا در زمینه لام‌های مورد مطالعه بعد از درمان از دیگر یافته‌های بدست آمده بود.

نتیجه‌گیری: رادیوتراپی و شیمی درمانی موجب غیر نرمال شدن هسته و سیتوپلاسم، تغییر *N/C ratio*، انورمالیتی سلولی، واکنش‌های سلول، پیدایش سلول‌هایی با اشکال عصب می‌شود.

کلید واژگان: سرطان سروگردن، مخاط دهان، سیتولوژی، کمورادیوتراپی.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۶/۱/۲۱ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۸۷/۲/۱۶ تاریخ تأیید مقاله: ۱۳۸۷/۲/۲۸

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۲۶، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۷، ۳۳۳-۳۲۶

مقدمه

سرطان با رشد غیر قابل کنترل سلول‌های نئوپلاستیک ناهنجار و تهاجم سلول‌های سرطانی به سایر نواحی به صورت انتشار مستقیم یا دوردست از طریق خون و سطوح سروزی مشخص می‌شود. درمان آن عمدتاً جراحی، رادیوتراپی، شیمی درمانی و درمان‌های ترکیبی براساس نوع تومور، اندازه، *stage* و *grade* آن می‌باشد. اساس درمان انکولوژیست‌ها و رادیوتراپیست‌ها بر پایه حذف سلول‌های با

تکثیر سریع بدون از بین بردن سلول‌های میزبان صورت می‌گیرد که در عمل غیرممکن به نظر می‌رسد زیرا سلول‌های نئوپلاستیک که سرعت تقسیم بیشتری نسبت به سلول‌های بافت نرمال دارند نسبتاً به طور انتخابی کشته می‌شوند. همچنین بافت‌های نرمال که دارای تکثیر سریعی هستند نیز در عمل تا حدودی تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۱). رادیوتراپی با مداخله در مواد هسته‌ای لازم جهت تولید مثل و بقای

* نویسنده مسئول: استادیار گروه آسیب‌شناسی دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

E-mail: f_mashhadi_a@dent.sbm.ac.ir

** استادیار گروه انکولوژی، بیمارستان شهدای تجریش، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

*** استادیار گروه آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

**** دندانپزشک.

سلول‌های اپی‌تلیالی جلو گسترش آنها را گرفته، تکرار دوز روزانه اشعه موجب پاسخ سلولی قابل ردیابی می‌شود، این پاسخ‌ها در قبال حداقل دوز اشعه به میزان اضمحلال دیواره سلولی بستگی دارد که به از بین رفتن پوشش سلولی، چند هسته‌ای شدن، تشکیل سلول‌های غول‌آسا، انباشته شدن واکوئل‌ها در هسته و سیتوپلاسم و فرم‌های زئوزیس پری‌سیکلوزیس منجر می‌شود (۷،۸). از طرف دیگر در مطالعه‌ای که بر روی یک بیمار ۲۷ ساله انجام گرفت، مشاهده شد اثر شیمی درمانی و رادیوتراپی بر سلول‌های تمایز یافته اثری گذرا بوده، روی سلول‌های غیرتمایز ادامه دار می‌باشد. همچنین رادیوتراپی اثر کیفی و کمی بر دوره تشکیل دندان دارد (۹).

Lee و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی اینکه آیا گاما رادیوتراپی و داروی Doxorubicin موجب توقف سیکل سلولی در سلول‌های نرمال انسان می‌شود یا خیر؟ دریافته‌اند که رادیوتراپی ترکیب ژن‌های 23,68 را به طور آشکاری دگرگون ساخته، ۱۲ ساعت بعد از درمان سلول‌ها در فاز G2 متوقف شده، ۲۴ ساعت بعد تعداد سلول‌های موجود در فاز G1 افزایش می‌یابند. ولی در درمان با Doxorubicin درصد سلول‌ها در فاز G2 ثابت می‌ماند. بنابراین سلول‌ها پاسخ‌های متفاوتی با مکانیسم‌های داخلی متمایز به درمان با گاما Irradiation و Doxorubicin داده و موجب آسیب به DNA می‌شوند (۱۰). بالاخره اینکه در سال ۲۰۰۴، Pawlik و همکاران نتیجه‌گیری کردند که سلول‌ها در مرحله انتقالی G2 به M بیشترین حساسیت را نسبت به اشعه نشان داده، این حساسیت در G1 کمتر از G2-M بود. کمترین حساسیت نسبت به اشعه در قسمت آخر فاز S دیده شده است (۱۱).

Jones و همکاران (۱۹۹۴) نیز در بررسی برآش بیوپسی (سیتوبراش) به عنوان روشی برتر در جمع کردن سلول‌ها در سیتولوژی دهان به مقایسه روش cytobrush و exfoliative cytology با استفاده از آسپلانگ چوبی به این نتیجه رسیدند که سیتوبراش وسیله‌ای قابل اعتماد، موثر و معتبر جهت مطالعه سلول‌های اپی‌تلیالی دهان است (۱۲).

این مطالعه با هدف تعیین تغییرات سلولی مخاط نرمال دهان متأثر از رادیوتراپی و شیمی درمانی در مبتلایان به سرطان

سلول موجب تخریب سلول‌های نئوپلاستیک و سالم می‌شود. از آنجا که سلول‌های با تکثیر سریعتر نسبت به اثرات مخرب اشعه حساسترند بیشتر تحت تأثیر قرار می‌گیرند. در روش شیمی‌درمانی نیز اساس درمان بر پایه تخریب یا تضعیف غیراختصاصی توانایی تقسیم سلول‌هایی است که به سرعت پرولیفره می‌شوند (مانند سلول‌های تومورال). در این روش سلول‌های میزبان مانند سلول‌های مغز استخوان و سلول‌های اپی‌تلیالی (مخاط دهان) که شاخص میتوزی بالایی دارند تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۱-۲). بیشتر داروهای شیمی‌درمانی سرعت تکثیر نرمال اپی‌تلیوم دهان را کاهش و موجب آتروفیک شدن مخاط دهان می‌شوند. از لحاظ کلینیکی مخاط زخمی، اریتماتوز و دردناک نیز دیده می‌شوند که بیشتر در مخاط غیرکراتینیزه (مخاط باکال، زیر زبان، کام نرم و کف دهان) شایع است، در صورتی که در درمان با اشعه عمدتاً سطوح مخاطی در معرض اشعه تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۳-۵).

بنابراین، دهان محل شایع بروز عوارض درمان سرطان محسوب می‌شود. علیرغم اینکه اثرات این درمان‌ها که به صورت کلینیکی بروز می‌کنند (از جمله التهاب، زخم، درد و خشکی دهان در اثر کاهش ترشحات بزاق، از بین رفتن درک مزه، پوسیدگی دندان، استئورادیونکروز، موکوزیتیس، تغییر فلور میکروبی، کاهش دفاع میزبان در برابر عفونت‌ها، کلونیزاسیون میکروبی و قارچی در دهان و راه‌های مقابله با این عوارض موضوع تحقیقات مختلفی بوده‌اند اما در مورد اثرات اشعه بر روی سلول‌ها با روش سیتولوژی مطالعات اندکی وجود دارد. تغییرات سلولی درمان‌های ضدسرطان به صورت متفاوتی بررسی شده‌اند (۱،۲).

Stokman و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه‌ای نشان دادند که تغییرات سلول‌های اپی‌تلیالی می‌تواند جهت درجه‌بندی موکوزیت به عنوان مقیاس اندازه‌گیری به کار گرفته شوند (۶). همچنین در مطالعه دیگری نیز که با هدف تعیین اثر اشعه X بر مخاط جنین rat بر روی سه گروه کنترل، گروهی که بلافاصله بعد از کشت تحت تابش اشعه قرار گرفته و گروهی که ۷۲-۲۴ ساعت بعد از اینکه اولین علامت از فعالیت سلولی دیده شد تحت تابش قرار گرفتند انجام شد، نتیجه گرفتند که حداقل دوز اشعه در زمان کشت

درمان تحت تابش قرار گرفته بودند، تهیه شد. اندازه محدود شده تحت درمان، دوز روزانه، تکنیک درمانی، دوز کلی، نوع دستگاه رادیوتراپی، نوع اشعه و انرژی آن برای همه بیماران از قبل مشخص شده بود. با توجه به مزایای روش Brush Biopsy (دقت، غیرتهاجمی بودن، بدون عوارض جانبی) در این مطالعه از این روش برای تهیه نمونه‌ها به روش معمول آن استفاده گردید (۱۷-۲). لازم به یادآوری است قسمتی از حفره دهان که در محدوده واقع شده و Brush Biopsy بر روی آن انجام می‌شد دارای پوشش مخاطی نرمال بود.

- برآش دهانی مرطوب بوده، روی مخاط مورد نظر با فشار ثابت ۱۰-۵ بار چرخانده شد.
- شماره مربوط به بیمار روی لام ثبت و سلول‌ها توسط برآش به روی لام انتقال داده شدند.
- لام‌ها با الکل ۹۶٪ ثابت شدند.
- رنگ‌آمیزی به روش پاپانیکولاو و H&E انجام شد.
- لام‌ها شستشو داده شده، پس از خشک شدن زیر میکروسکوپ نوری توسط سیتولوژیست به صورت blind خوانده شدند.
- در نهایت لام‌های قبل از شروع درمان و بعد از اتمام درمان با یکدیگر مقایسه شدند.

کلیه لام‌های تهیه شده قبل از شروع درمان (دو عدد لام از مخاط کراتینیزه و غیرکراتینیزه هر بیمار) و کلیه لام‌های تهیه شده بعد از درمان (دو عدد لام از مخاط کراتینیزه و غیرکراتینیزه) که تحت تابش قرار گرفته بودند توسط سیتولوژیست به صورت blind توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند (از دید پاتولوژی تغییرات سلولی و شناخت آنها در تعریف روندهای کلینیکی Gold Standard قرار دارد و این خود یک روش است). در فرم اطلاعاتی مشخصاتی چون اندازه هسته، سیتوپلاسم، نسبت هسته به سیتوپلاسم، اشکال غیرطبیعی و بدشکل، آپوپتوزیس، کراتینیزاسیون انفرادی، واکوئلیزاسیون هسته و سیتوپلاسم، حضور سلول‌های التهابی و نوع آن با درشتنمایی ۴۰ و درجه‌بندی زیر ۲۵٪، ۵۰-۲۵٪، ۷۵-۵۰٪ و بالای ۷۵٪ درج گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های McNemar، Marginal homogeneity و Wilcoxon و برنامه

سر و گردن و با هدف ثانویه سنجش ارزش اعتباری برآش مدل ایرانی انجام گرفت.

مواد و روشها

مطالعه به روش نیمه تجربی بر روی ۷۰ بیمار مبتلا به سرطان سر و گردن تحت درمان رادیوتراپی و شیمی درمانی که مخاط نرمال دهان آنها در محدوده رادیوتراپی تحت تاثیر اشعه قرار گرفته بود انجام گرفت. ۱۰ نفر از بیماران به دلایلی از قبیل فوت، عدم ادامه درمان، غیبت بین جلسات درمانی و غیره از مطالعه خارج شدند. بیماران به صورت داوطلبانه پس از توجیه مطالعه و در صورتی که شرایط زیر را داشتند وارد تحقیق می‌شدند:

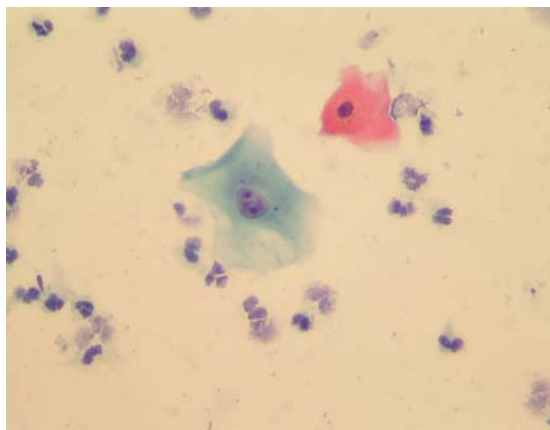
- عدم ابتلا بیمار به بیماری‌های پوستی مخاطی مثل وژیکولوبولوز، دیابت کنترل نشده، بیماری‌های تضعیف کننده سیستم ایمنی، بیماری‌های سیستمیک با تظاهرات در مخاط دهان، داروهای سداتیو یا پروتکتیو در قبال اشعه در طول درمان

- عدم انجام شیمی درمانی یا رادیوتراپی قبلی
- عدم دریافت داروی ایمنوساپرسیو (جز شیمی درمانی)
- ابتلا به سرطان سر و گردن و قرار گرفتن در رادیوتراپی در محدوده ۷۰۰۰-۵۰۰۰ CGy

از تمام بیماران از ناحیه SAD (sourco Access Distance) SAD خط میانی فاصله دو فیلد درمانی متقابل است که در این نقطه دوز اشعه تجویز شده برای بیمار به طور کامل دریافت و نمونه‌گیری توسط cytobrush از مخاط همین ناحیه صورت می‌گیرد) نمونه‌برداری شده، تغییرات سلول‌های پوششی مخاط نرمال دهان در دو گروهی که همزمان تحت شیمی درمانی و رادیوتراپی قرار داشتند و آنهایی که صرفاً رادیوتراپی می‌شدند بررسی شد. کلیه بیماران در طول درمان از دهان‌شویه یکسان کلرهگزیدین استفاده می‌کردند.

از هر کدام از بیماران واجد شرایط، قبل از شروع درمان دو عدد لام یکی از مخاط نرمال کراتینیزه و دیگری از مخاط نرمال غیرکراتینیزه تهیه شد. همچنین ۲ ساعت بعد از آخرین جلسه رادیوتراپی دو عدد لام یکی از مخاط نرمال کراتینیزه و دیگری از مخاط نرمال غیرکراتینیزه که در طول

سلول‌های طبقات پایین مشاهده نشده بود، بعد از درمان کراتین‌سازی مشاهده شد ($P < 0/01$) (شکل ۱). سایر نمونه‌ها هیچ نشانه‌ای از کراتین‌سازی در طبقات پایین در دو مرحله درمانی نداشتند.



شکل ۱- سلول Immature دو هسته‌ای

وضعیت هسته و سیتوپلاسم از نظر اندازه و شکل در سلول‌های مخاط غیرکراتینیزه در تمامی بیماران تحت درمان قبل از درمان نرمال بوده، بعد از درمان حالت غیرنرمال پیدا کرده بودند که تفاوت هر دو از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/001$). در ۱۲ بیمار باعث ظاهر شدن اشکال بیزار بعد از درمان در سلول‌های مخاط غیرکراتینیزه شده بود که تأثیر معنی‌دار در ظاهر شدن اشکال بیزار را نشان می‌دهد ($P < 0/001$).

بررسی لام‌های تهیه شده بعد از درمان نشان داد آپوپتوزیس سلولی بیشتر از حالت نرمال بوده است. همچنین وضعیت‌هایی مانند دیده شدن هسته‌های چند لبه، سلول‌های گرانولر در طبقات مختلف و در سلول‌های بازال، کروماتین خشن در هسته، هسته شکاف‌دار، هسته لوبیایی (در کل هسته‌های بدشکل)، وجود هسته‌های واضح (گاهی دو هسته در داخل هسته سلول) مشاهده شدند. پیدایش واکوئل قبل و بعد از درمان در سلول‌های مخاط کراتینیزه و غیرکراتینیزه بیماران مورد بررسی به صورت جدول ۱ نشان داده شده است.

در لام‌هایی که سلول‌های التهابی زیادی در آنها دیده می‌شد هسته‌ها واضح‌تر و دوتایی، همچنین هسته‌ها خیلی بزرگتر

آماري SPSS نسخه ۱۳ استفاده شد. به علت کم بودن تعداد نمونه‌هایی که رادیوتراپی محض می‌شدند آنالیز آماری در مورد آنها صورت نگرفت ولی در قسمت بحث مقایسه‌ای بین این بیماران و سایرین انجام و گزارش شد. برای اندازه‌گیری اعتبار داده‌ها با استفاده از روش Intra observer agreement، ۲۰ لام در دو زمان مختلف و به صورت مستقل و blind ارزیابی مجدد شده و میانگین ضریب توافق کاپا در مورد متغیرهای مختلف برابر ۰/۹۱۳ به دست آمد که خیلی خوب می‌باشد (۲۲).

یافته‌ها

مطالعه بر روی ۶۰ بیمار (۲۶/۷٪ مرد و ۷۳/۳٪ زن) مبتلا به سرطان سر و گردن انجام شد. از نظر اندازه و شکل وضعیت هسته سلول‌های بافت کراتینیزه، تمامی نمونه‌ها قبل از درمان نرمال و بعد از درمان وضعیت غیرنرمال داشتند. آزمون McNemar نشان داد که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار است ($P < 0/001$). به عبارت دیگر، درمان باعث غیرنرمال شدن اندازه و شکل هسته سلول شده بود. وضعیت سیتوپلاسم سلول‌های مخاط کراتینیزه از نظر شکل و اندازه قبل و بعد از درمان در ۲ نمونه نرمال بود، در حالی که ۵۸ نمونه قبل از درمان دارای وضعیت نرمال بودند که بعد از درمان وضعیت آنها به غیرنرمال تبدیل شده بود ($P < 0/001$). این یافته‌ها نشان‌دهنده تأثیر درمان در غیرطبیعی شدن سیتوپلاسم سلول می‌باشند. در بررسی وضعیت N/C ratio سلول‌های مخاط کراتینیزه، ۶ نمونه قبل و بعد از درمان نرمال و ۵۴ نمونه قبل از درمان نرمال و بعد از درمان غیرنرمال بودند که تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P < 0/001$). در سلول‌های مخاط غیرکراتینیزه نیز، وضعیت N/C ratio در ۵۹ بیمار قبل از درمان نرمال بوده، در ۴۷ بیمار موجب غیرنرمال شدن آنها شده بود ($P < 0/001$). در بررسی پیدایش اشکال بیزار سلول‌های مخاط کراتینیزه، در ۴۷ نمونه قبل و بعد از درمان اشکال بیزار سلولی دیده نشدند ولی در ۱۳ نمونه بعد از درمان سلول‌هایی با اشکال بیزار مشاهده شدند ($P < 0/001$). در بررسی کراتین‌سازی در سلول‌های طبقات پایین مخاط کراتینیزه در ۸ نمونه از ۲۰ نمونه بررسی شده که قبل از درمان کراتین‌سازی در

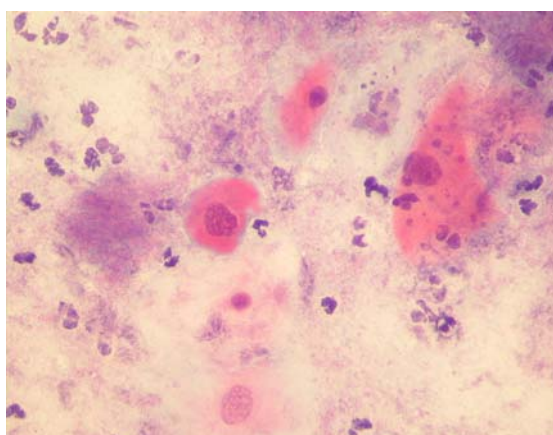
گرانول‌های تیپیک، گرانول‌هایی به اندازه‌های در حد هسته سلول نیز داشتند. همچنین در تعدادی از سلول‌های immature کراتین‌سازی دور هسته نیز مشاهده شد (شکل ۵).

از حالت نرمال بودند. در برخی سلول‌ها بعد از درمان Inclusion body مشهود بود. در لام‌هایی که از مخاط کراتینیزه تهیه شده بودند علاوه بر بیشتر شدن تعداد سلول‌های گرانولر، سلول‌های شاخی نیز زیاد شده بودند. در اکثر لام‌های بعد از درمان سلول‌های گرانولر علاوه بر

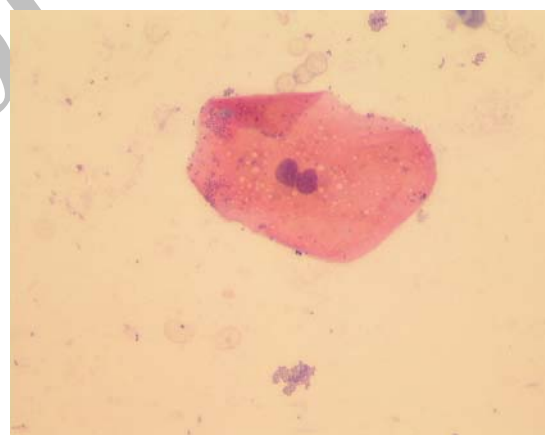
جدول ۱- وضعیت پیدایش و اکوئل قبل و بعد از درمان در سلول‌های مخاط غیرکراتینیزه بیماران

جمع	عدم وجود	هسته و سیتوپلاسم	بعد		قبل
			هسته	سیتوپلاسم	
۰	۰	۰	۰	۰	هسته
۰	۰	۰	۰	۰	سیتوپلاسم
۰	۰	۰	۰	۰	هسته و سیتوپلاسم
۶۰	۲۱	۶	۵	۲۸	عدم وجود
۶۰	۲۱	۶	۵	۲۸	جمع

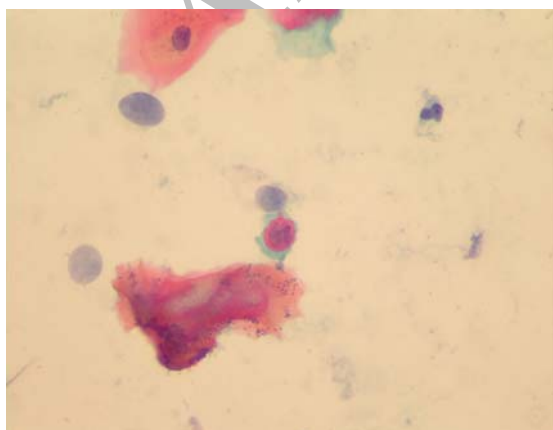
نتیجه آزمون Marginal Homogeneity: $P < 0.001$



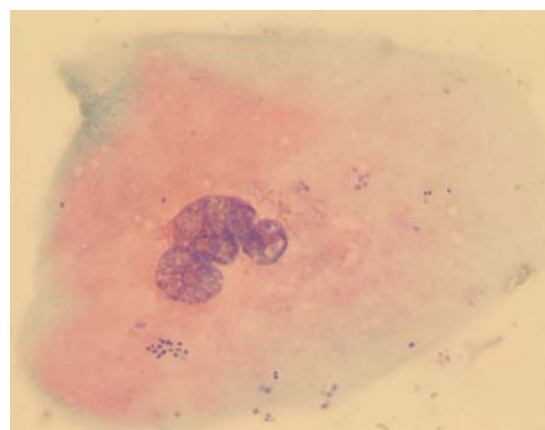
شکل ۴- هسته بزرگ چند لبه



شکل ۲- سلول دوهسته‌ای با واکوئولیزاسیون سیتوپلاسم



شکل ۵- سلول دوهسته‌ای با کراتین‌سازی دور هسته



شکل ۳- سلول immature دوهسته‌ای

بحث

مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات سیتولوژیک متعاقب شیمی درمانی و رادیوتراپی در بیماران مبتلا به سرطان سر و گردن انجام شد. اکثر بیماران به squamous cell carcinoma مبتلا بوده، موارد دیگر نیز شامل آدنوسیستیک کارسینوما، اینورتنوپاپیلوما و BCC با تهاجم عمقی و لنفو اپی‌تلیوما بودند. شیمی درمانی بیماران با Cisplatin و 5-fluorouracil (5-Fu) انجام شده بود. نتایج مطالعه تغییرات هسته‌ای با استفاده از میکروسکوپ نوری نشان داد شیمی درمانی و رادیوتراپی موجب تغییر هسته به صورت افزایش اندازه، پلی‌مورفیسم هسته، واکوئله شدن و هستک‌های واضح و چندتایی، چند هسته‌ای شدن، خشن شدن کروماتین، افزایش آپوپتوزیس سلولی و کراتین‌سازی دور هسته‌ای در سلول‌های immature می‌شوند. مطالعاتی که با استفاده از وسایل پیشرفته و با بررسی صدمات DNA انجام شده‌اند، تغییرات فازهای مختلف سیکل سلولی، صدمات کروموزومی و دیواره هسته ناشی از رادیوتراپی و شیمی درمانی انجام شده هسته را به عنوان محل اصلی تخریب حاصل از رادیوتراپی معرفی کرده‌اند (۱۱،۱۲،۱۸،۱۹). همچنین برخی از این پژوهش‌ها نشان داده‌اند پرتوهای در حد ۱۰۰۰ CGy برای ایجاد ضایعه در غشا و پرتوهای در حد ۱۰۰۰۰۰ CGy برای غیر فعال کردن فعالیت‌های آنزیمی سلول لازم هستند (۱۸،۱۹).

اشعه با دوز کم موجب تغییرات کروموزومی، موتاسیون، تورم هسته و کروماتین لخته شده می‌شود. همچنین دوزهای بالای اشعه موجب پیکنوتی شدن هسته، تورم سیتوپلاسم، واکوئلیزاسیون سیتوپلاسم، تغییر شکل و بزرگ شدن میتوکندری‌ها و تغییرات غشاء پلاسمایی می‌شود. تمامی بیماران مورد مطالعه در حدود ۷۰۰ CGy - ۵۰۰ اشعه دریافت کرده بودند، بنابراین همه تغییرات حاد اشعه در منابع مختلف، در این مطالعه نیز مشاهده گردید. این تغییرات در نمونه‌های تحت درمان همزمان رادیوتراپی و شیمی درمانی به دلیل استفاده از داروهای Cisplatin و 5-fluorouracil شدیدتر بود (۱۹،۲۰).

در داخل سیتوپلاسم مشاهده شد. دوز کلی رادیوتراپی (بیش از ۵۰۰۰ CGy) موجب اضمحلال غشاء سلولی، از بین رفتن خاصیت تراوایی غشاء و تورم سیتوپلاسم و ارگان‌های داخلی آن شده بود. این موضوع دلیل افزایش حجم سیتوپلاسم سلول‌های متأثر از درمان بود (۲۰-۱۸). با توجه به تغییرات هسته و سیتوپلاسم، نسبت N/C Ratio هم تغییر یافته بود. این تغییرات در تمام سلول‌ها یکسان نبوده، نشان می‌داد که سیتوپلاسم نسبت به هسته از افزایش حجم بیشتری برخوردار است. البته برخی مطالعات به این موضوع اشاره نکرده‌اند (۸-۶).

نتایج بررسی نشان دهنده سلول‌هایی با اشکال Bizarre و غیرطبیعی از قبیل هسته‌های شکافدار (cleaved)، چندهسته‌ای، کراتین فشرده دور هسته در سلول‌های نارس، هسته پیکنوتی و گرانول‌های خیلی بزرگ سیتوپلاسمی در اثر درمان بود. تغییرات هسته نشان دهنده اثرات رادیوتراپی و شیمی‌درمانی روی آن و مشاهده گرانول‌های بزرگ و گرانول در سلول‌های نارس حاکی از تسریع در روند maturation در اثر درمان‌های تجویز شده بود. در این راستا مشخص شده است که تشعشع سبب تاخیر در تقسیم سلولی شده، به دوز پرتو و مرحله سیکل سلولی بستگی دارد (۲۰).

در برخی از سلول‌ها individual cell keratinization که یک نوع تسریع در سیر تکاملی سلولی است حتی در سلول‌های نابالغ مشاهده می‌شد. همچنین پیدایش واکوئل در هسته یا سیتوپلاسم سلولی به صورت پراکنده و اندازه‌های مختلف مشاهده می‌شد که اشاره‌ای به آنها در مطالعات دیگر نشده است (۷،۸). تفاوتی در رنگ‌پذیری سلول‌ها قبل و بعد درمان مشاهده نشد که این امر می‌تواند حاکی از توقف سیکل سلولی در طول درمان باشد (۱۱،۱۸). سلول‌های التهابی حاد در لام‌های قبل و بعد از درمان بیشتر از جمعیت سلول‌های التهابی مزمن بوده، از نظر تعداد سلول‌های التهابی اکثر بیماران قبل از درمان زیر ۱۰ عدد سلول التهابی با درشت‌نمایی $40 \times$ داشتند که بعداً این تعداد در لام‌های بعد از درمان زیاد شده بود. علت این تفاوت، شروع شیمی درمانی قبل از رادیوتراپی بود که موجب کاهش جمعیت سلول‌های دفاعی موجود در گردش خون به دلیل اثر

پیدایش واکوئل در هسته و سیتوپلاسم مشاهده شده در مطالعه حاضر مطابقت دارد (۸). در مطالعه Stokman و همکاران (۲۰۰۲) بر روی موکوزیت دهانی ناشی از رادیوتراپی، افزایش میزان زنده بودن سلول‌ها، افزایش سلول‌های mature و کاهش سلول‌های حد واسط و نارس که نشان‌دهنده تاثیر رادیوتراپی در روند میتوز سلول‌ها بوده، مشاهده گردید که با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۶). ابتلا بیماران به موکوزیت طی دو هفته بعد از شروع درمان با نتیجه تغییرات سلولی مشاهده شده در مطالعه حاضر هماهنگ و قابل انطباق است. استفاده از روش برآش بیوپسی، میکروسکوپ نوری و رنگ آمیزی لام‌ها به روش پاپانیکولاو در هر دو مطالعه مشابه بوده است (۶). یافته‌های Blozis و همکاران (۱۹۶۸) در کاهش میتوز و توقف تکثیر سلول‌های شاخی و سفیدی مخاط (۲۱) و گزارش Dahllof و همکاران (۱۹۸۰) در حساسیت سلول‌ها به کمورادیوتراپی در دوره میتوز، بیشتر بودن مرگ سلولی در این مرحله و تحت تاثیر بودن بیشتر سلول‌های نارس در شیمی درمانی (۹) همگی با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارند.

Lee و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی اثر گامارادیوتراپی و داروی Doxorubicin بر سلول‌های نرمال انسان، پاسخ‌های متفاوت با مکانیسم‌های داخلی متمایز به این درمان و آسیب به DNA را نشان دادند که علیرغم بررسی بر روی سلول‌های نرمال انسانی و استفاده از ابزار و وسایل پیشرفته در این مطالعه نتایج آن به نوعی با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد (۱۰). برای تکمیل مطالعه حاضر رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی و مطالعه با میکروسکوپ الکترونی با روش برآش بیوپسی پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد رادیوتراپی و شیمی‌درمانی موجب تغییرات هسته و سیتوپلاسم سلول، افزایش آپوپتوزیس، اشکال بیزار و تغییر در فلور میکروبی نرمال دهان می‌شود که این تغییرات می‌توانند عوارض کلینیکی متعددی از قبیل موکوزیت، درد، سوزش، خشکی دهان و غیره را توجیه نمایند.

داروهای شیمیایی در مغز استخوان شده بود. همچنین رعایت بهداشت دهان و دندان نیز در این زمینه مؤثر بود به طوری که بیمارانی که از بهداشت دهان و دندان خوبی برخوردار بودند تعداد سلول‌های دفاعی در زمینه لام آنها زیر ۱۰ عدد بود که بعد از درمان تعداد این سلول‌ها افزایش یافته بود. همچنین اتمام شیمی درمانی قبل از اتمام رادیوتراپی، برگشت سلول‌های دفاعی موجود در گردش خون به حد نرمال، آزاد شدن واسطه‌های شیمیایی از سلول‌های دچار آپوپتوزیس، صدمه دیده و در حال مرگ، کشاندن سلول‌های التهابی به طرف مخاط آزوده و تغییر فلور میکروبی نرمال دهان در اثر رادیوتراپی می‌تواند در این زمینه مؤثر باشد.

تحقیق همچنین نشان داد در بیمارانی که به طور همزمان تحت درمان رادیوتراپی و شیمی درمانی بودند در زمینه لام‌های قبل از درمان آنها کلنی باکتری و کاندیدا مشاهده شد که نشان از عدم رعایت بهداشت دهان، تضعیف سیستم دفاعی و تغییر فلور میکروبی دهان این بیماران بود. البته در چند نفر از بیمارانی که تنها رادیوتراپی می‌شدند نیز به علت عدم رعایت بهداشت دهان و دندان میکروارگانیسم‌ها به صورت کم و پراکنده در لام قبل از درمان مشاهده شدند. با این حال در لام‌های بعد از درمان در هر دو گروه انواع کلنی‌های باسیل، کوکسی، دپیلوکوک، قارچ، اسپور کاندیدا و سایر قارچ‌ها به میزان بیشتری نسبت به قبل از درمان مشاهده شدند که این یافته با ازدیاد سلول‌های التهابی اعم از مزمن و حاد ارتباط مستقیم داشت. تغییر فلور میکروبی دهان، موکوزیت و تریسوموس ناشی از رادیوتراپی و همچنین بی‌حوصلگی و تضعیف روحیه بیماران عامل دیگری برای عدم رعایت بهداشت دهان و دندان و بوجود آمدن این وضعیت بود.

در مطالعه Bracho و همکاران (۱۹۷۰) بر روی مخاط دهان جنین rat مشخص گردید در محیط‌های کشتی که بلافاصله مورد تابش اشعه قرار می‌گیرند میتوز سلولی متوقف و مرگ سلولی رخ می‌دهد ولی در محیط‌هایی که ۷۲ ساعت بعد از کشت مورد تابش اشعه واقع می‌شوند سلول‌های چندهسته‌ای و واکوئلیزاسیون سلولی دیده می‌شود که تغییرات مزبور با تغییرات هسته و سیتوپلاسم، N/C Ratio،

References

1. Little JW, Falace DA, Miller CS, Rhodus NL: Dental management of medically compromised patient. 6th Ed. St. Louis: The CV Mosby Co. 2002;Chap21:387-417.
2. Greenberg MS, Burkets GM: Oral Medicine Diagnosis & Treatment. 10th Ed. Hamilton, BC Decker Inc Co. 2003; Chap8: 194-235.
3. Peterson LJ, Ellis E, Hupp JR, Tucker MR: Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery. 4th Ed. St. Louis: The CV Mosby Co. 2003;Chaps18,21:458-479,458-479.
4. Devita VT, Hellman JS, Rosenberg SA: Cancer Principle & Practice of Oncology. 7th Ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wikins Co. 2005;Chap54:2523- 2535.
5. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE: Oral and Maxillofacial Pathology. 2nd Ed. Philadelphia, WB Saunders Co. 2002;Chap8:253-285.
6. Stokman MA, Spijkervet FKL, Wymenga ANM, Burlage FR, Timens W: Quantification of oral mucositis due to radiotherapy by determining and maturation of epithelial cells. J Pathol Med 2002;31:153-157.
7. Liu HM., Waterhouse JP, Meyer J: An ultrastructural study of the effect of X irradiation on the oral epithelium of the rat. Quantitative Aspect Radiat Res 1677;69:459-474.
8. Bracho MA, Rose GG, Cattni M, Nikai H: Effect of radiation on rat fetal oral mucosa in tissue culture. J Dent Res 1970;49:852-863.
9. Dahllof G, Rozell B, Forsberg C. M, Borgstrom B: Histologic change in dental morphology induced by high dose chemotherapy and total body irradiation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1994;77:56-60.
10. Lee SM, Youn B, Kim CS, Kim CS, Kang C: Gamma-irradiation and doxorubicin treatment of normal human cells cause cell cycle arrest via different pathways. Mol Cells 2005;20:331-338.
11. Pawlik TM, Keyomarsi K: Role of cell cycle in mediating sensitivity to adiotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2004;59:928-942.
12. Jones AC, Pink FE, Sandow PL, Stewart CM, Migliorati CA: The Cytobrush Plus cell collector in oral cytology. J Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1994;77:101-104.
13. Silverman JR, Steeleir GD, Chabner BA: Oral Cancer. 5th Ed. Hamilton, BC Decker Inc Co. 2003;Chap7:113-129.
14. Sciubba JJ: Improving detection of precancerous and cancerous oral lesion. JADA 1999;130:1445-1457.
15. Christian DC: Computer-assisted analysis of oral brush biopsies at an oral cancer screening program. JADA 2002; 133:357-362.
16. Silverman S: American Cancer Society: Oral Cancer. Hamilton, Ontario: BC Decker;1998;Chap12:127-143.
17. Svirsky JA, Burns JA, Page DG, Abbey LM: Oral brush biopsy. Compendium 2001;22:99-106.
18. Marzdarani H: Radiology for Radiologist, Tehran, Tarbiat Modarress University Publishing Co. 1998;Chaps3,7: 45-86,147-177.
19. Hosseinpoor Feizi MA, Pirayesh Eslamian J: Radiation oncology. Tebriz University Publishing Co. 1998;Chaps7, 8,12:57-82,83-103,127-156.
20. Bouzarjmehri F: Radiation, Biology and Protection. Yazd University and Teb Gostar Publishing Co. 1991; Chap1:1-55.
21. Blozis GG, Robinson JE: Oral tissue changes caused by radiation therapy and their management. Dent Clin North Am 1968:643-55.
22. Byrt T: How good is that agreement? (Letter to editor). Epidemiology 1996;7:561.