

بررسی گیرنده های استروژن و پروژسترون در ژانت سل گرانولومای محیطی حفره دهان

صفورا سیفی^{۱*}، شیلا قاسمی مریدانی^۲

۱-استادیار گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت دانشگاه علوم پزشکی بابل ۲- استادیار گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت دانشکده دندانپزشکی قزوین

سابقه و هدف: ضایعات ژانت سل گرانولومای محیطی، ضایعاتی واکنشی در حفره دهان به شمار می آید که در جنس مونث شیوع بیشتری دارد. همین مساله امکان نقش هورمونهای جنسی استروئیدی (استروژن و پروژسترون) را در پاتوژنز، شکل گیری و رشد ضایعه مطرح می کند. هدف از انجام این مطالعه تعیین وجود گیرنده های استروژن و پروژسترون در ژانت سل گرانولومای محیطی حفره دهان بوده است.

مواد و روشها: در این مطالعه توصیفی - مقطعی ۱۵ بلوک پارافینه ژانت سل گرانولومای محیطی انتخاب شدند و مقاطع تهیه شده از آنها به روش هماتوکسیلین و انوزین و سپس با روش رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی با آنتی بادی های استروژن و پروژسترون رنگ آمیزی شدند. سپس تعداد سلولهای رنگ گرفته شده با شمارش توسط لنز مندرج چشمی تشخیص داده شد. کنترل مثبت آدنوکارسینومای پستان و کنترل منفی حذف آنتی بادی اولیه بود.

یافته ها: در ۱۵ نمونه ژانت سل گرانولومای محیطی، سلولهای ژانت چند هسته ای، سلولهای استرومایی، آماسی و آندوتلیال عروق خونی و اپی تلیوم مخاط دهان هیچ گونه رنگ پذیری با نشانگرهای استروژن و پروژسترون نشان ندادند.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه حاکی از عدم وجود گیرنده استروژن و پروژسترون در ژانت سل گرانولومای محیطی حفره دهان است. بنابراین ممکن است عواملی موثر تر از هورمونهای جنسی، در رشد و شکل گیری این ضایعات نقش داشته باشند.

واژه های کلیدی: ژانت سل گرانولوم، استروژن، پروژسترون، ایمونوهیستوشیمی، هورمونهای جنسی، بیماریهای دهان.

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره هشتم، شماره ۶، آذر - دی ۱۳۸۵، صفحه ۳۵-۴۰

مقدمه

سلولهای فیبروبلاست و یا ترکیبی از بافت فیبرو و بافت عروقی تشکیل می شوند و در اثر تحریکاتی مزمن مثل جویدن گونه، پروتوهای نامناسب و فشار منفی حاصل از دست دندان ها ایجاد می گردند. در داخل دهان اکثر تحریکات فیزیکی بوده و بافت همبند زیر مخاط، پریوست و یا (Periodontal ligament) را تحریک

در حفره دهان اکثر ضایعاتی که تومور نامیده می شوند در حقیقت نئوپلاسم واقعی نبوده و واکنش های هیپر پلاستیک بافت همبند به آسیب و یا تحریک مزمن می باشند. ضایعات هیپرپلاستیک، پرولیفراسیونهای واکنشی (Reactive) محسوب می گردند. بدلیل آنکه دارای پتانسیل رشدی محدود بوده و از تکثیر

می کنند(۱). ژانت سل گرانولومای محیطی ضایعه ای نسبتا شایع با رشد تومور مانند در حفره دهان است و ضایعه ای پرولیفراتیو می باشد که توسط تروما یا عوامل محرک ایجاد می شود(۲). این تروما از طریق کشیدن دندان عارض می شود گرچه ممکن است عوامل دیگری مانند تحریک ناشی از دست دندان مصنوعی، جرم و بهداشت ضعیف دهان در ایجاد آن نقش داشته باشند. این ضایعه از PDL یا پروبیستوم منشا می گیرد(۱) و تقریبا در ۶۰ درصد موارد در خانم ها بروز می یابد(۲). وجود گیرنده های استروژن، پروژسترون و آندروژن طی مطالعات متعددی در برخی بافت های طبیعی مخاط دهان، نمونه های حیوانی و انسانی از قبیل لثه، غدد بزاقی سبابه مخاط دهان و نیز برخی بافت های پاتولوژیک و ضایعات تحریکی و همچنین بافت های نئوپلاستیک مورد بررسی قرار گرفته است ولی در این زمینه همواره نتایج ضد و نقیضی وجود داشته است(۳-۶). هورمونهای استروئیدی و جنسی شامل استروژن و پروژسترون مولکولهای هیدروفوبیک هستند و به گیرنده های منحصر به فرد داخل سلولی درون هسته و سیتوپلاسم متصل می شوند و رونویسی از ژن های ویژه را بر حسب وضعیت متابولیک سلول تنظیم می کنند(۷). اتصال هورمون به گیرنده ها منجر به تغییر شکل آنها شده و سپس انتقال کمپلکس هورمون - گیرنده به هسته صورت می گیرد درهسته این کمپلکس به سکانس های خاص از نوکلئوتید متصل شده که این امر منجر به تنظیم نسخه برداری از ژن های هدف می شود. این ژنها شامل ژن های مرتبط با مولکولهای چسبندگی، سایتوکاین ها، فاکتورهای رشد، آنزیم های تجزیه کننده و اجزاء ماتریکس خارج سلولی است(۳-۸). بنابراین هدف از انجام این مطالعه تعیین وجود گیرنده های استروژن و پروژسترون در ژانت سل گرانولومای محیطی حفره دهان بوده است.

مواد و روشها

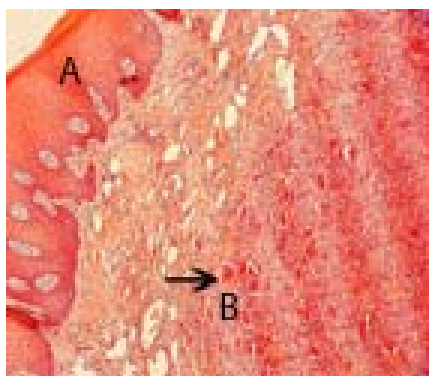
تمام نمونه هایی که در طی سالهای ۸۲-۷۹ در آزمایشگاه رازی شهرستان رشت از نظر بافت شناختی با عنوان Peripheral giant cell granuloma تشخیص داده شده بودند، مورد بررسی و بازمینی میکروسکوپی قرار گرفتند. اطلاعات مربوط به پرونده بیماران

از نظر سن، جنس و محل جمع آوری ضایعات استخراج شده و در مجموع ۱۵ نمونه انتخاب شد که در آن ۱- پرونده ها دارای اطلاعات کامل و کافی از متغیر مورد مطالعه بودند ۲- بلوکها دارای فیکساسیون کامل و Material کافی بودند ۳- طبق تعریف Neville خصوصیات میکروسکوپی ژانت سل گرانولومای محیطی را داشتند(۲). مطلوب ترین بلوک پارافینه نمونه ها انتخاب و از آن برش ۴ میکرومتری برای رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین (H&E) و ۳ میکرومتری برای رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی تهیه شد. تمام مقاطع در ابتدا با Xylene پارافین زدایی و با درجات مختلف الکل رطوبت گیری شدند و سپس جهت پدیدار شدن آنتی ژنهای بافتی (Antigen retrieval) بنا به توصیه کارخانه سازنده (DAKO) در 10mmol/L citrate buffer با PH=6 به مدت ۱۰ دقیقه در (Microwave, 650 watts) قرار داده شدند و سپس ظروف حاوی اسلاید به مدت ۲۰ دقیقه کنار گذاشته شد تا سرد شود. بعد از شستن اسلاید ها با آب مقطر، همه آنها با آنتی بادی های مونوکلونال (DAKO, Denmark) جهت آشکار سازی گیرنده های استروژن (شماره کد: ID5) و پروژسترون (شماره کد: R636) با رقت ۱/۱۰۰ رنگ آمیزی شدند همچنین بافت آدنوکارسینومای پستان به عنوان گروه شاهد مثبت با همین روش رنگ آمیزی شد. آنتی بادیهای اولیه، مورد استفاده قرار گرفتند و از آنها به مدت ۱۶ ساعت در یخچال نگهداری شد. از روش Avidin-biotin peroxidase با بافر TRIS استفاده گردید.

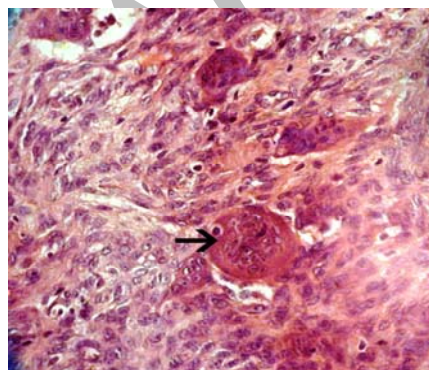
ماده کروموزن Diamino benzidine (3,3' DAB) hydrochloride بود که منجر به بروز محصول قهوه ای رنگ شد. همه مقاطع با هماتوکسیلین مایرز (Mayers) به عنوان رنگ زمینه (Counter stain) شدند. همچنین در هر مورد برای بدست آوردن شاهد منفی از سرم موش به جای آنتی بادی اولیه استفاده شد. رنگ آمیزی هسته و سیتوپلاسم برای گیرنده استروژن و رنگ پذیری فقط هسته جهت گیرنده پروژسترون مثبت در نظر گرفته شد. شمارش هسته و سیتوپلاسم سلولها رنگ گرفته توسط دو پاتولوژیست به صورت چشمی صورت گرفت. طبقه عمل به این صورت بود که در 10HPF منتخب از بخش های رنگ گرفته، تعداد

مندبیل	۱۸	مذکر	۱۲
ماگزایلا	۶۰	مونث	۱۳
مندبیل	۱۸	مونث	۱۴
قدام مندبیل	۵۸	مونث	۱۵

یافته های بافت شناختی: در تمامی ضایعات پرولیفراسیون سلولهای مزانشیمی بیضی تا دوکی شکل تک هسته به همراه تعداد زیادی سلول ژانت استئوکلاستیک چند مشاهده شد. بعضی ضایعات پر عروق بوده و استخوانهای واکنشی در حاشیه به چشم می خورد. اپی تلیوم سطحی، سنگفرشی مطبق کراتوتیک و در برخی نواحی زخمی شده و با غشاء فیبرین چرکی پوشیده شده بود (تصویر ۱ و ۲).



تصویر ۱. رنگ آمیزی H&E (×۱۰) ژانت سل گرانولومای محیطی (A) اپی تلیوم سنگفرشی مطبق مخاط دهان (B) سلول ژانت چند هسته ای استئوکلاستیک



۱۰۰۰ عدد سلول شمارش و تعداد هسته و سیتوپلاسم سلولهای رنگ گرفته تعیین و به صورت Labeling Index مطرح شد. همچنین برای کیفی شدن نتایج، با مقیاس زیر مورد بررسی قرار گرفت.

0: نشانه عدم رنگ پذیری (No staining)

1+: رنگ پذیری ضعیف (Weak) (<5% هسته یا سیتوپلاسم

سلولها رنگ پذیری نشان دهند)

2+: رنگ پذیری متوسط (Moderate) (5-50% هسته و یا

سیتوپلاسم سلولها رنگ پذیری نشان دهند)

3+: رنگ پذیری شدید (Severe) (>50% هسته و یا

سیتوپلاسم سلولها رنگ پذیری نشان دهند)

سلولهای مورد بررسی در هر نمونه شامل سلولهای اپی تلیالی، ژانت سل استئوکلاستیک، آماسی و آندوتلیالی بود.

یافته ها

یافته های بالینی: از ۱۵ نمونه ژانت سل گرانولومای محیطی، ۹ بیمار زن و ۶ بیمار مرد بودند. طیف سنی بیماران ۶۰-۹ سال با میانگین سنی ۳۵ سال بود. از نظر محل آناتومیکی ۱۲ نمونه در لته قدامی مندبیل و ۳ نمونه در ناحیه لته قدامی ماگزایلا قرار داشتند (جدول ۱).

جدول ۱. محل آناتومیکی توزیع سنی و جنسی نمونه های ژانت سل گرانولومای محیطی در افراد مورد بررسی

شماره	جنس	سن	مکان
۱	مذکر	۴۰	مندبیل
۲	مونث	۶۰	قدام مندبیل
۳	مونث	۱۸	مندبیل
۴	مذکر	۶۰	مندبیل
۵	مونث	۹	قدام مندبیل
۶	مذکر	۱۵	مندبیل
۷	مونث	۴۸	مندبیل
۸	مونث	۲۶	مندبیل
۹	مذکر	۱۴	قدام ماگزایلا
۱۰	مذکر	۳۰	ماگزایلا
۱۱	مونث	۴۸	قدام مندبیل

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاضر از نظر وجود گیرنده های استروژن و پروژسترون در سلولهای ژانت چند هسته ای استئوکلاستیک در ۱۵ نمونه انتخاب شده، عدم رنگ پذیری را نشان داد. در مطالعه Gunhan و همکاران (۷) بر روی ۲۶ مورد ژانت سل گرانولومای محیطی از نظر وجود گیرنده های هورمونهای جنسی، در ۱۴ نمونه، گیرنده استروژن در سلولهای استرومایی مثبت شد ولی در ۱۰ مورد ژانت سلهای استئوکلاستیک گیرنده استروژن را مثبت نشان دادند در حالیکه گیرنده پروژسترون در هیچ نمونه ای دیده نشد سلولهای ژانت سل گرانولومای محیطی دارای پتانسیل هدف برای استروژن هستند و ممکن است تحت تاثیر هورمونهای جنسی قرار گیرند. از طرف دیگر تحریکات هورمونی بر روی رشد ژانت سل گرانولوم محیطی دارای اثر ثانویه می باشد و علت اصلی ایجاد ضایعه وابسته به تروما و صدمات مزمن است.

در مطالعه حاضر گیرنده های استروژن و پروژسترون در سلولهای اپی تلیالی هیچ کدام از نمونه ها یافت نشد که نتیجه مطالعه حاضر موافق با Whitaker و همکارانش (۶) می باشد که هیچ واکنش مثبتی برای گیرنده ها در سلولهای اپی تلیالی پیدا نکردند ولی مطالعات دیگر بدلیل Embryonic affinity سلولهای اپی تلیالی حفره دهان، پوست و پستان که همگی مشتق از اکتودرم هستند حضور گیرنده های استروژن و یا پروژسترون را در این بافتها توجیه کردند(۹).

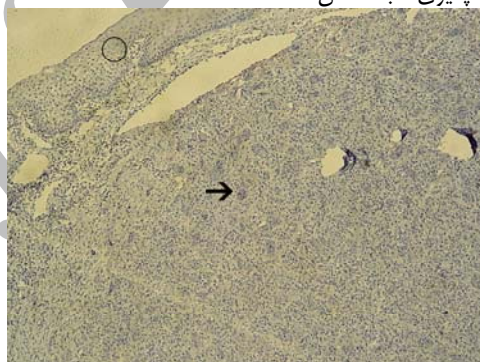
در این مطالعه سلولهای مزانشیمی (استرومایی) در هیچ نمونه ای رنگ پذیری برای نشانگرهای استروژن و پروژسترون را نشان ندادند. Ojanotoko و همکارانش (۱۰) گزارش کردند که استروژن می تواند باعث تحریک پروليفراسیون فیروبلاست های لته شود و منجر به بلوغ بافت همبندی آن هم به طور عمده از طریق اثر روی Turnover کلاژن گردند(۱۰). Pires و همکاران در مورد اثر هورمونهای استروئیدی روی مخاط دهانی خانم های یائسه ای که احساس سوزش و خشکی دهان بودند، تحقیق کردند. کاربرد مکرر قرص های استروژن و پروژسترون تغییرات پروليفراتیو را در مخاط

تصویر ۲. رنگ آمیزی H&E (۴۰×) فلش: ژانت سل

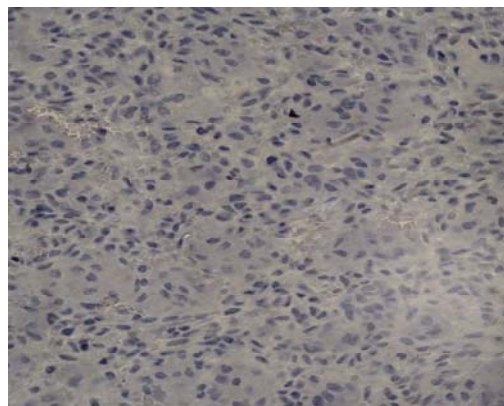
استئوکلاستیک چند هسته ای

* جنبه های ایمونوهیستوشیمیایی:

در ۱۵ نمونه ژانت سل گرانولومای محیطی، سلولهای اپی تلیال مخاط دهان، ژانت چند هسته ای استئوکلاستیک، سلولهای مزانشیمی استروما، هیچ کدام رنگ پذیری با نشانگرهای استروژن و پروژسترون را نشان ندادند (تصویر ۳ و ۴) در حالیکه ایمونوراکتیویته با این نشانگرها در سلولهای اپی تلیالی آدنوکارسینومای پستان رنگ پذیری مثبت نشان داد.



تصویر ۳. رنگ آمیزی IHC (۴۰×) عدم رنگ پذیری اپی تلیوم، سلولهای ژانت چند هسته ای و سلولهای استرومایی و آماسی و آدنوتلیالی با نشانگر استروژن



تصویر ۴. رنگ آمیزی IHC (۴۰×) عدم رنگ پذیری سلولهای ژانت استئوکلاستیک آماسی، استرومایی با نشانگر پروژسترون

ایمونوهیستوشیمی (۱۴) و زمان اولیه فیکساسیون بافتی در بررسی وجود مارکرهای فوق از عوامل موثر روی نتایج تحقیق است (۱۵). در هر صورت نتایج تحقیق حاضر بر روی ژانت سل گرانولومای محیطی، حاکی از عدم وجود گیرنده های استروژن و پروژسترون در این ضایعه است و بنابراین ممکن است عواملی موثر تر از هورمونهای جنسی در پاتوژنز این ضایعه نقش داشته باشند. با آگاهی و شناخت کامل در مورد حضور و نحوه توزیع گیرنده های هورمونی علاوه بر کمک به درک پاتوژنز ضایعات میتوان به دیدگاههای نوین در مورد پیشگیری و درمان (هورمون درمانی) دست یافت (۱۶) همچنین دستیابی به گیرنده های هورمونی در مخاط دهان می تواند جهت درمانهای جایگزین برای رفع سوزش دهان در خانم های یائسه مفید باشد (۱۷). امید است در آینده مطالعات بیشتر با تعداد نمونه زیادتر انجام گیرد که در آن وجود گیرنده های استروژن و پروژسترون در سطح اندک پروتئینی و ژنی مورد ارزیابی قرار گرفته و بتوانیم از آن به عنوان نتایج کاربردی در درمان ضایعات دهان استفاده کنیم.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از همکاری کارکنان آزمایشگاه رازی رشت تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

۱. ساپ جی اف، اورسول آر، ویسوکی جی پی. پاتولوژی نوین دهان، فک و صورت. ترجمه اسلامی م، بقایی ف، گرجی ع. چاپ اول، تهران، انتشارات مرو ۱۳۷۹؛ ص: ۲۴۴.
2. Neville BW, Damm D, Allen CM, Bouguot JE. Oral and maxillofacial pathology, 2nd ed, USA, Philadelphia, W.B. Saunders 2002; pp: 440-2.
3. Parker MH, Newman HN, Olsen I. Polymerase chain reaction analysis of estrogen and androgen receptor expression in human gingival and periodontal tissue. Arch Oral Biol 1996; 41(10): 979-83.

4. Shick PC, Riordan PG, Foss RD. Estrogen and progesterone receptors in salivary gland adenoid cystic carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 80(4): 440-4.
5. Whitaker SB, Vigneswarn N, Singh BB. Androgen receptor status of the oral sebaceous glands. *Am J Dermatopathol* 1997; 19(4): 415-18.
6. Whitaker SB, Bouguot JE, Alimario AE, Whitaker TJ. Identification and semi-quantification of estrogen and progesterone receptors in pyogenic granulomas of pregnancy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 78(6): 755-60.
7. Gunhan M, Ganhun O, Celasun B, Mutlu M, Bostanci H. Estrogen and progesterone receptors in the peripheral giant cell granuloma of the oral cavity. *J Oral Sci* 1998; 40(2): 57-60.
8. Ojanotko Harri AO, Harri MP, Hurttia HM, Sewon LA. Altered tissue metabolism of progesterone in pregnancy gingivitis and granuloma. *J Clin Periodontol* 1991; 18(4): 262-6.
9. Molteni A, Warpeha RL, Brizio Molteni LB, Fors EM. Estradiol receptor-binding protein in head and neck neoplastic and normal tissue. *Arch Surg* 1981; 116(2): 207-10.
10. Ojanotko Harri A, Forssell H, Laine M, Hurttia H, Blauer M, Tuohimaa P. Immunohistochemical detection of androgen receptors in human oral mucosa. *Arch Oral Biol* 1992; 37(6): 511-14.
11. Pires S, Rafaely B, Polishuk WZ, Salem JY. The effect of steroid hormones on buccal mucosa of menopausal women. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1975; 4(3): 348-51.
12. Ojanotko Harri A. Metabolism of progesterone by healthy and inflamed human gingiva in-vitro. *J Steroid Biochem* 1985; 23(6A): 1031-5.
13. Dobbs DJ. *Diagnostic immunohistochemistry*, 1st ed, London, Churchill Livingstone 2002; pp: 141-3.
14. Nichols GE, Gaffey MJ, Mills SE, Weiss LM. Lobular capillary hemangioma, an immunohistochemical study including steroid hormone receptor status. *Am J Clin Pathol* 1992; 97(6): 770-5.
15. Flaggert JJ, Heldt LV, Gareis FJ. Recurrent giant cell granuloma occurring in the mandible of a patient on high dose estrogen therapy for the treatment of Sotos' syndrome. *J Oral Maxillofac Surg* 1987; 45(12): 1074-6.
16. Fuji LT, Yoslino A, Ebihara T. Estrogen receptors linked to tooth loss in women. *J Am Med Assoc* 2001, 286(4): 2234-35.
17. Forabosco A, Criscuolo M, Coukos G, et al. Efficacy of hormone replacement therapy in postmenopausal women with oral discomfort. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 73(5): 570-4.

* آدرس نویسنده مسئول: بابل، دانشکده دندانپزشکی، بخش آسیب شناسی دهان، فک و صورت، تلفن: ۹-۰۸-۲۲۹۱۴۰۸-۰۱۱۱.
Sf_seify@yahoo.com

Archive of SID