

بررسی بیان COX2 در لیکن دهانی به روش ایمونوهیستوشیمی

شادی تقفی خادم^۱، مجید میرهاشمی^{۲*}، معصومه سعیدی رباط^۳

^۱ دانشیار گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

^۲ استادیار گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

^۳ دندانپزشک، مشهد، ایران

تاریخ ارائه مقاله: ۹۹/۱/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۹/۱۸

Evaluation of Cyclooxygenase-2 in Oral Lichen Planus Using Immunohistochemistry

Shadi Saghafi Khadem¹, Majid Mirhashemi^{2*}, Masoomeh Saeidi Robot³

¹ Associate Professor, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Dental School, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

² Assistant Professor, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Dental School, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

³ Dentist, Mashhad, Iran

Received: 13 April 2020; Accepted: 8 December 2020

Introduction: Lichen planus is a relatively common chronic inflammatory autoimmune disease of unknown etiology. The World Health Organization has identified lichen planus as a potential precancerous lesion. Cyclooxygenase-2 (COX-2) is a key enzyme for inflammatory processes and cell proliferation. The increased expression of COX-2 in some chronic precancerous inflammatory diseases and malignant neoplasms of the upper aerodigestive tract suggests its role in the early stages of carcinogenesis of the head and neck and can show its potential as a prognostic factor and marker of altered behavior. The aim of this study was to analyze the COX-2 marker in the pathogenesis and biological behavior of oral lichen planus and oral lichen planus with dysplasia.

Materials and Methods: The incidence rate of the COX-2 marker in the 50 samples of the pathology archive of Mashhad Dental School, Mashhad, Iran, including 25 samples of oral lichen planus and 25 samples of oral lichen planus with dysplasia, was evaluated using immunohistochemistry in 2017. In this cross-sectional descriptive-analytical study, the Kruskal-Wallis and Chi-square statistical tests were used to compare the incidence of the COX-2 marker in the study groups.

Results: Based on the results of this study, there was no significant difference between the two groups of oral lichen planus and oral lichen planus with dysplasia in COX-2 staining pattern in the basal layer and connective tissue; however, it was significantly higher in the suprabasal layer of the lichen planus group with dysplasia than that of the oral lichen planus group. In terms of location, lichen planus lesions with dysplasia were more commonly observed in the buccal mucosa, and oral lichen planus lesions (without dysplasia) were more frequently noticed in lips.

Conclusion: Based on the findings of the present study, it can be concluded that increased COX-2 expression is observed in oral lichen planus lesions, especially those with dysplasia. The presence of lesions in some areas of the mouth, such as the buccal mucosa, tongue, and border of the tongue, is also more associated with dysplasia.

Key words: Lichen planus, COX-2, Dysplasia, Immunohistochemistry

Corresponding Author: mirhashemim@mums.ac.ir

J Mash Dent Sch 2021; 45(1): 12-21.

چکیده

مقدمه: لیکن پلان یک بیماری اتوایمیون مزمن التهابی نسبتاً شایع با اتیولوژی نامشخص است. سازمان بهداشت جهانی (WHO) آن را به عنوان یک ضایعه پیش سرطانی بالقوه تعریف کرده است. COX-2 یک آنزیم کلیدی برای فرآیند های التهابی و پرولیفراسیون سلولی است. افزایش بیان آن در برخی بیماری های التهابی مزمن بدخیم و نئوپلاسم های بدخیم دستگاه تنفسی گوارشی فوقانی پیشنهادکننده ی نقش آن در مراحل اولیه کارسینوژنز سر و گردن می باشد و می تواند به پتانسیل آن به عنوان یک فاکتور پروگنوستیک و مارکر رفتار تغییر یافته، اشاره نماید. هدف از این مطالعه آنالیز نشانگر COX-2 در پاتوژنز و رفتار بیولوژیک لیکن پلان دهانی و لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی بود.

مواد و روش ها: میزان بروز نشانگر COX-2 در ۵۰ نمونه از آرشیو بخش آسیب شناسی دانشکده دندانپزشکی مشهد، شامل ۲۵ نمونه لیکن پلان دهانی و ۲۵ نمونه لیکن پلان دهانی دارای دیسپلازی به روش ایمونوهیستوشیمی ارزیابی شد. در این مطالعه توصیفی-تحلیلی مقطعی از آزمون های آماری Kruskal-Wallis و Chi-Square به منظور مقایسه میزان بروز مارکر COX-2 در گروه های مورد مطالعه استفاده شد.

* مولف مسؤول، نشانی: مشهد، میدان پارک، دانشکده دندانپزشکی، گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت، تلفن ۰۹۱۵۵۱۶۷۶۵۶

E-mail: mirhashemim@mums.ac.ir

یافته‌ها: بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، بین دو گروه لیکن پلان دهانی و لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی الگوی رنگ پذیری با مارکر COX-2 در لایه ی بازال و همبند تفاوت معنی داری نداشت؛ در حالیکه در لایه ی سوپرابازال در گروه لیکن پلان با دیسپلازی به طور معنی داری بیشتر از گروه لیکن پلان دهانی بود. از لحاظ جایگاه، ضایعات لیکن پلان با دیسپلازی، بیشتر در مخاط باکال و ضایعات لیکن پلان دهانی (بدون دیسپلازی) بیشتر در لب دیده شد.

نتیجه‌گیری: بر اساس مطالعه حاضر می توان نتیجه گرفت که افزایش بیان COX-2 در ضایعات لیکن پلان دهانی بویژه انواع دارای دیسپلازی دیده می شود. همچنین حضور ضایعه در بعضی از نواحی دهان مانند مخاط باکال، زبان و بوردر زبان با دیسپلازی ارتباط بیشتری دارد.

کلمات کلیدی: لیکن پلان، COX-2، دیسپلازی، ایمونوهیستوشیمی
مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۴۰۰ دوره ۴۵ / شماره ۱: ۲۱-۱۲.

مقدمه

فعالیت های آنزیمی تا ۶۰ درصد به هم شباهت دارند.^(۸) COX-1 یک ژن House-keeping است و در بیشتر بافت های نرمال بیان می شود. پروستاگلانندین ها که از طریق مسیر COX-1 ساخته می شوند، بسیاری از عملکردهای همئوستاتیک بدن مانند هموستاز، محافظت سلولی از مخاط معده، وازودیلاتاسیون در عروق کلیوی و تجمع پلاکتی را تنظیم می کنند. در مقابل COX-2 یک ژن اولیه فوری القا شونده است و بیان آن با محرک های متنوعی از جمله فاکتورهای رشد و سایتوکاین ها القا می شود. نقش پاتوفیزیولوژیک آن مشتمل بر تنظیم التهاب، اوولاسیون و کارسینوژنز می باشد.^(۹) COX-2 یک آنزیم کلیدی در فرایندهای التهابی و پرولیفراسیون سلولی است. افزایش بیان آن در برخی بیماریهای التهابی مزمن پیش بدخیم و نئوپلاسم های بدخیم دستگاه گوارش فوقانی و تنفسی، پیشنهادکننده نقش آن در مراحل اولیه کارسینوژنز سر و گردن می باشد و می تواند به پتانسیل آن به عنوان یک فاکتور پروگنوستیک و مارکر رفتار تغییر یافته، اشاره نماید. COX-2 به طور ویژه در موقعیت های پاتولوژیک مثل التهاب مزمن وجود دارد، اما در عملکردهای فیزیولوژیک مثل عملکرد کاردیو واسکولار نیز مشارکت دارد.^(۸) افزایش بیان COX-2 در فرایندهای التهابی مزمن مرتبط با ایجاد کانسر شامل پولیپویزس آدنوماتوز، بیماری التهابی روده، ازوفازیت مزمن و کوله سیستیت مزمن نقش دارد و با

لیکن پلان یک بیماری التهابی مزمن و شایع پوستی مخاطی است که منشا ایمونولوژیک داشته و به شکل های گوناگون تظاهر می باید.^(۱) لیکن پلان یک بیماری خودایمنی به واسطه لنفوسیت های T است که اپی تلیوم سنگفرشی مطبق پوست، دهان، نواحی ژنتیال و ناخن را درگیر می کند.^(۲،۳) لیکن پلان دهانی Oral lichen planus (OLP) یک بیماری التهابی نسبتا متداول در مخاط دهان است که بیش از ۲ درصد بزرگسالان بویژه میانسالان و پیران را مبتلا کرده است و تمایل بروز آن در خانم ها بیشتر از آقایان است.^(۴) در رابطه با پتانسیل بدخیمی آن اختلاف نظر وجود دارد.^(۵،۶) سازمان بهداشت جهانی (WHO) آن را به عنوان یک ضایعه پیش سرطانی بالقوه تعریف کرده است.^(۷) میزان تغییر بدخیمی آن کم است و معادل ۵ درصد از موارد در نظر گرفته می شود. بطور کلی التهاب مزمن که یکی از ویژگی های اصلی OLP است با ایجاد سایتوکاین ها و فاکتورهای رشد سبب پرولیفراسیون سلولی و آسیب سلولی اکسیداتیو می شود و نقش مهمی در کارسینوژنز انسانی ایفا می نماید.^(۸)

سیکلوآکسیژناز در بافت نرمال و ملتهب آنزیم مسئول سنتز چندین پروستاگلاندین و ترمبوکسان از اسید آراشیدونیک می باشد. سیکلوآکسیژناز دارای دو ژن می باشد. COX-1 و COX-2 که از لحاظ اسید آمینه و

مواد و روش ها

تعداد ۵۰ نمونه شامل لیکن پلان دهانی و لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی و اطلاعات بالینی بیماران شامل سن، جنس و محل ضایعه در دهان از آرشیو بخش آسیب شناسی دانشکده دندانپزشکی مشهد استخراج شدند و در آزمایشگاه آسیب شناسی بیمارستان قائم مراحل رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی آن انجام پذیرفت. از بلوک های پارافینی نمونه های مورد مطالعه در این تحقیق پس از بازبینی توسط پاتولوژیست و نشانه گذاری کانون مناسب در لام، برش های بافتی به ضخامت ۵-۴ میکرون تهیه شد. طبق مطالعه Sanketh و همکاران^(۱۰) معیارهای زیر برای تشخیص و دسته بندی ضایعات در دو گروه لیکن پلان دهانی و لیکن پلان دهانی دارای دیسپلازی استفاده شد:

لیکن پلان دهانی: وجود نوار مشخص از التهاب زیر اپی تلیوم که غالباً متشکل از لنفوسیت ها است، نشانه های دژنراسیون هیدروپیک سلول های بازال و فقدان دیسپلازی اپی تلیال همراه با تشخیص کلینیکی لیکن پلان دهانی (طرح رتیکولار دوطرفه، بدون تاریخچه عادات و بدون مصرف دارو)

لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی: وجود نوار مشخص از التهاب زیر اپی تلیوم که غالباً متشکل از لنفوسیت ها است، نشانه های دژنراسیون هیدروپیک سلول های بازال و وجود دیسپلازی اپی تلیال همراه با تشخیص کلینیکی لیکن پلان دهانی (طرح رتیکولار دو طرفه، بدون تاریخچه عادات و بدون مصرف دارو)

دیسپلازی اپی تلیال دهانی (OED): نماهای دیسپلاستیک با استفاده از معیارهای WHO 2005^(۱۱) در مواردی که به طور بالینی لکوپلاکیا یا اریتروپلاکیا تشخیص داده شده بودند.

پروگنوز ضعیف کانسره های کولورکتال، سینه، دهان، کلیه، غده آدرنال و کبد مرتبط است.^(۹) گزارش های اندکی از بیان COX-2 در کارسینوژنز دهانی انسانی و آزمایشگاهی وجود دارد.^(۹) مطالعات مختلفی نشان داده اند افزایش بیان COX-2 در ضایعات پیش بدخیم و بدخیم دهانی مرتبط با درجه اپی تلیال دیسپلازی می باشد.^(۸،۹) با این وجود مطالعات کمی بیان COX-2 را در لیکن پلان دهانی مورد تجزیه و تحلیل قرار داده اند.^(۸) بسیار مهم است که پاتولوژیست لیکن پلان دهانی (OLP) را از لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی، دیسپلازی اپی تلیال دهانی (OED) و دیسپلازی اپی تلیال دهانی با نمای لیکنوئید (OLD) تمایز دهد. چراکه پیامد های قابل توجهی در رابطه با تشخیص، تحقیقات و پتانسیل بدخیمی آن ها وجود دارد.^(۱۰)

در این مطالعه نقش COX-2 در ضایعات لیکن پلان دهانی که همراه و فاقد تغییرات دیسپلازی هستند مورد بررسی قرار می گیرند تا با فراهم آمدن زمینه برای طراحی مطالعات بیشتر بتوان شناخت بیشتری از ارتباط این مارکر و تغییرات دیسپلازی در ضایعات دهانی بدست آورد. ضایعات لیکن پلان دهانی بخش مهمی از ضایعات دهانی را تشکیل می دهند و از لحاظ پیش بدخیم بودن از اهمیت بالایی برخوردار هستند. از طرفی COX-2 با درجات بالاتر دیسپلازی اپی تلیال دهان مرتبط است و می تواند یک واقعه زود هنگام در کارسینوژنز دهانی باشد،^(۹،۱۰) و همچنین پتانسیل عملکرد به عنوان یک فاکتور پروگنوستیک و مارکر رفتار تغییر یافته را دارد^(۸)، لذا نتایج مطالعه فوق می تواند زمینه ساز مطالعات گسترده تر جهت شناخت سریعتر ضایعات بدخیم و روش های درمانی در این ضایعات باشد.

بررسی شد و سلول های با رنگ پذیری مثبت با توجه به SCORE زیر برای COX-2 ثبت شدند:

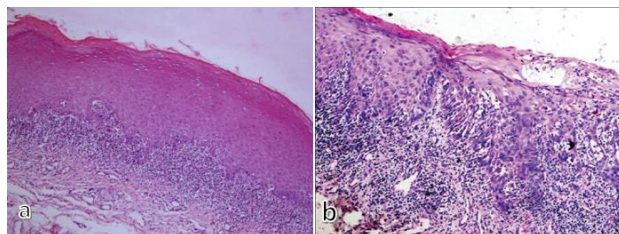
- تعداد سلول های مثبت کمتر از یک درصد: منفی
- تعداد سلول های مثبت کمتر از ۳۰ درصد: +۱
- تعداد سلول های مثبت بین ۳۰ تا ۷۰ درصد: +۲
- تعداد سلول های مثبت بیشتر از ۷۰ درصد: +۳

سلول ها از لحاظ شدت بروز مارکر هم بر اساس شدت رنگ پذیری به صورت خفیف، متوسط و شدید تقسیم شدند. از لحاظ جایگاه بروز مارکر هم سلول ها در سه ناحیه لایه بازال و سوپرابازال اپی تلیوم و بافت همبند مورد بررسی قرار گرفتند.^(۵)

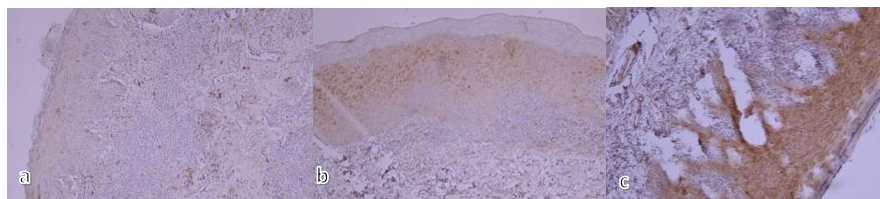
در این مطالعه گذشته نگر توصیفی- تحلیلی مقطعی، از نرم افزار SPSS و آزمون آماری Chi-Square و Kruskal-Wallis به منظور مقایسه میزان بروز مارکر COX-2 در اپی تلیوم گروه های مورد مطالعه استفاده شد.

دیسپلازی لیکنوئید دهانی (OLD): تشخیص هیستوپاتولوژیک (OED) با استفاده از معیارهای WHO 2005 همراه با تشخیص کلینیکی لکوپلاکیا یا اریتروپلاکیا. علاوه بر این هیستوپاتولوژی ممکن است یک نوار مشخص زیر، اپی تلیالی با اکثریت لنفوسیت ها یا التهاب منتشر با اکثریت لنفوسیت یا لنفوسیت همراه با پلاسماسل ها را نشان دهد.

برش های مذکور از نظر کمیت و کیفیت کانون تشخیصی تایید شده، نمونه ها بر اساس واکنش آنتی ژن - آنتی بادی توسط نشانگر Anti-COX2, Clone spz1 (ready-to-use) COX-2 (ساخت شرکت Bioene) با استفاده از روش ارائه شده توسط شرکت سازنده کیت رنگ آمیزی شدند. ایمونوراکتیویته سلول های مورد بررسی پس از ارزیابی ۱۰۰ سلول با درشت نمائی ۴۰۰ در ۵ فیلد میکروسکوپی در Hot spot (بیشترین محل تراکم سلول ها) توسط میکروسکوپ نوری (LABOMED, ساخت آمریکا)



تصویر ۱: در قسمت a، نمای میکروسکوپی لیکن پلان دهانی و در قسمت b تغییرات دیسپلاستیک درجه متوسط در لیکن پلان دهانی با رنگ آمیزی H&E دیده می شود.



تصویر ۲: بروز نشانگر COX2 در لیکن پلان دهانی بدون تغییرات دیسپلاستیک به صورت خفیف (a)، متوسط (b) و شدید همراه با تغییرات دیسپلاستیک (c).

یافته ها

در این مطالعه، تعداد ۵۰ بیمار شامل ۲۷ زن (۵۴ درصد) و ۲۳ مرد (۴۶ درصد) با میانگین سن ۴۷/۷ سال و دامنه سنی ۱۲ تا ۸۱ سال در قالب دو گروه لیکن پلان دهانی و لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی، از نظر مقدار درصد رنگ پذیری نمونه ها توسط مارکر COX-2 مورد بررسی قرار گرفتند. توزیع جنس در گروه های مورد مطالعه دارای تفاوت معنی داری با هم نبودند ($P=0/395$). دامنه سنی برای گروه دارای دیسپلازی بیشتر و برای گروه لیکن پلان دهانی کمتر بود. میانگین سنی دو گروه دارای تفاوت معنی داری با هم نبود ($P=0/704$).

از ۵۰ مورد نمونه مورد مطالعه، ۱۴ نمونه محل نامشخص داشتند و از ۳۶ موردی که دارای محل مشخص بودند، بیشترین مقدار مربوط به گونه با ۱۵ (۴۱/۷ درصد) و کمترین مقدار مربوط به کف دهان و کام سخت هر یک به مقدار ۱ عدد (۲/۸ درصد) بوده است (جدول ۱). محل ضایعه در دو گروه مورد مطالعه دارای تفاوت معنی داری بود. ($P=0/032$)

در این مطالعه از ۵۰ نمونه مورد بررسی ۵ نمونه هیچ گونه رنگ پذیری نشان ندادند و منفی شدند که ۳ مورد

آن ها مربوط به گروه لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی و ۲ مورد دیگر مربوط به لیکن پلان دهانی بود و از بین ۴۵ نمونه باقی مانده ۴ مورد که مربوط به لیکن پلان همراه با دیسپلازی بود فقط در اپی تلیوم دارای رنگ پذیری بود و در لایه همبند خود فاقد رنگ پذیری بوده اند. بنابراین با در نظر گرفتن تعداد کل نمونه ها، ۴۱ نمونه در بافت همبند رنگ پذیری داشته اند (جدول ۲).

نمونه های مورد مطالعه با توجه به شاخص های تعیین شده خفیف، متوسط و شدید جهت شدت رنگ پذیری و جایگاه بروز مارکر در لایه بازال، سوپرابازال و ناحیه همبند مورد بررسی قرار گرفت. مطابق با جدول ۲ شدت رنگ پذیری در لایه های بازال، سوپرابازال و همبند در دو گروه لیکن پلان دهانی و لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی ارتباط معنی داری نداشت ($P=0/099$ ، $P=0/123$ و $P=0/188$ به ترتیب).

مطابق با جدول ۳ الگوی رنگ پذیری سلول های مثبت در لایه سوپرابازال دارای رابطه معنی داری بین دو گروه لیکن پلان دهانی و لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی بود ($P=0/036$) اما در لایه بازال و همبند چنین ارتباطی مشاهده نشد ($P=0/413$ و $P=0/084$ به ترتیب).

جدول ۱: توزیع فراوانی محل ضایعه در حفره دهان

نتیجه آزمون	کل	محل ضایعه							
		لب	کام سخت	بورد زبان	ونترال زبان	کف دهان	گونه	زبان	
	۲۴(۱۰۰/۰)	۱(۴/۲)	۱(۴/۲)	۴(۱۶/۷)	۱(۴/۲)	۱(۴/۲)	۱۱(۴۵/۸)	۵(۲۰/۸)	گروه دهانی همراه با دیسپلازی
$P=0/032$	۱۲(۱۰۰/۰)	۵(۴۱/۷)	۰(۰/۰)	۱(۸/۳)	۲(۱۶/۷)	۰(۰/۰)	۴(۳۳/۳)	۰(۰/۰)	لیکن دهانی
	۳۶(۱۰۰/۰)	۶(۱۶/۷)	۱(۲/۸)	۵(۱۳/۹)	۳(۸/۳)	۱(۲/۸)	۱۵(۴۱/۷)	۵(۱۳/۹)	پلان کل

جدول ۲: توزیع فراوانی شدت رنگ پذیری در لایه های بازال، سوپرابازال و همبند در انواع دیسپلاستیک و غیر دیسپلاستیک لیکن پلان

نتیجه آزمون	کل	شدت رنگ پذیری			لیکن پلان	لایه
		شدید	متوسط	خفیف		
$P=0/099$	۲۳ (۱۰۰/۰)	۰ (۰/۰)	۸ (۳۴/۸)	۱۵ (۶۵/۲)	دهانی	بازال
	۲۲ (۱۰۰/۰)	۰ (۰/۰)	۳ (۱۳/۶)	۱۹ (۸۶/۴)	دهانی با دیسپلازی	
	۴۵ (۱۰۰/۰)	۰ (۰/۰)	۱۱ (۲۴/۴)	۳۴ (۷۵/۶)	کل	
$P=0/123$	۲۳ (۱۰۰/۰)	۹ (۳۹/۱)	۶ (۲۶/۱)	۸ (۳۴/۸)	دهانی	سوپرابازال
	۲۲ (۱۰۰/۰)	۴ (۱۸/۲)	۱۲ (۵۴/۵)	۶ (۲۷/۳)	دهانی با دیسپلازی	
	۴۵ (۱۰۰/۰)	۱۳ (۲۸/۹)	۱۸ (۴۰/۰)	۱۴ (۳۱/۱)	کل	
$P=0/188$	۲۳ (۱۰۰/۰)	۹ (۳۹/۱)	۷ (۱۱/۱)	۷ (۳۰/۴)	دهانی	همبند
	۱۸ (۱۰۰/۰)	۶ (۳۳/۳)	۲ (۳۰/۴)	۱۰ (۵۵/۶)	دهانی با دیسپلازی	
	۴۱ (۱۰۰/۰)	۱۵ (۳۶/۶)	۹ (۲۲/۰)	۱۷ (۴۱/۵)	کل	

جدول ۳: توزیع فراوانی الگوی رنگ پذیری در لایه های بازال، سوپرابازال و همبند لیکن پلان دیسپلاستیک و غیر دیسپلاستیک

نتیجه آزمون	کل	الگوی رنگ پذیری				لیکن پلان	لایه
		۳+	۲+	۱+	منفی		
$P=0/413$	۲۵ (۱۰۰/۰)	۴ (۱۶/۰)	۷ (۲۸/۰)	۱۲ (۴۸/۰)	۲ (۸/۰)	دهانی	بازال
	۲۵ (۱۰۰/۰)	۶ (۲۴/۰)	۹ (۳۶/۰)	۷ (۲۸/۰)	۳ (۱۲/۰)	دهانی با دیسپلازی	
	۵۰ (۱۰۰/۰)	۱۰ (۲۰/۰)	۱۶ (۳۲/۰)	۱۹ (۳۸/۰)	۵ (۱۰/۰)	کل	
$P=0/036$	۲۵ (۱۰۰/۰)	۱۳ (۵۲/۰)	۱۰ (۴۰/۰)	۰ (۰/۰)	۲ (۸/۰)	دهانی	سوپرابازال
	۲۵ (۱۰۰/۰)	۱۷ (۶۸/۰)	۴ (۱۶/۰)	۱ (۴/۰)	۳ (۱۲/۰)	دهانی با دیسپلازی	
	۵۰ (۱۰۰/۰)	۳۰ (۶۰/۰)	۱۴ (۲۸/۰)	۱ (۲/۰)	۵ (۱۰/۰)	کل	
$P=0/084$	۲۵ (۱۰۰/۰)	۵ (۲۰/۰)	۸ (۳۲/۰)	۱۰ (۴۰/۰)	۲ (۸/۰)	دهانی	همبند
	۲۵ (۱۰۰/۰)	۱ (۴/۰)	۵ (۲۰/۰)	۱۲ (۴۸/۰)	۷ (۲۸/۰)	دهانی با دیسپلازی	
	۵۰ (۱۰۰/۰)	۶ (۱۲/۰)	۱۳ (۲۶/۰)	۲۲ (۴۴/۰)	۹ (۱۸/۰)	کل	

بحث

معنی داری وجود نداشت و گونه شایع ترین جایگاه بروز ضایعه بود که از این جهات مطالعه حاضر با کتاب مرجع و مقالات مطابقت دارد و توسط عمده نویسندگان گزارش شده است.^(۱۲ و ۱۵) از نظر جایگاه ضایعه در دهان بین دو گروه ارتباط معنی داری وجود داشت ($P=0/032$) بدین

در مطالعه حاضر که بر روی لیکن پلان دهانی انجام شد ضایعات لیکن پلان دهانی با لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی مورد مقایسه قرار گرفتند. از لحاظ جنس ($P=0/395$) و سن ($P=0/704$) بین دو گروه ارتباط

دژنراسیون هیدروپیک لایه بازال، ارتشاح سلولی هتروژن، شکل سلولی آتیپیک، بزرگی هسته ها، فعالیت میتوتیک شدید، رت ریج های صاف، فقدان Civatte bodies و کراتینیزاسیون غیرطبیعی. اگر این معیارها در تشخیص قرار گیرند، دیسپلازی یک یافته معمول در لیکن پلان دهانی خواهد بود. در مطالعه Cortes-Ramirez و همکاران^(۸) مطابق با معیارهای van der Meij و van der Waal^(۹) نمونه ها به صورت معمولی از نظر بافت شناسی (HT) و منطبق از نظر بافت شناسی (HC) تقسیم شدند؛ به این صورت که وجود ناحیه نواری شکل مشخص از التهاب سلولی محدود به بخش سطحی بافت همبندی و اساسا مشتمل بر لنفوسیت ها، Liquefaction degeneration در سلول های لایه بازال و غیاب دیسپلازی اپی تلیال نمونه ها را در گروه HT قرار می داد و در صورت عدم وجود یکی یا بیشتر از معیار های فوق در گروه HC قرار می گرفت.^(۸) با توجه به این معیارها و وجود یا عدم وجود شاخص های مربوط به دیسپلازی، نیمی از نمونه های مورد مطالعه ما در گروه لیک پلان دهانی (HT) و نیمی دیگر در گروه لیکن پلان همراه با دیسپلازی قرار می گرفت. از آنجا که بسیاری از ضایعاتی که بطور کلینیکی و یا هیستولوژیک لیکن پلان دهانی تشخیص داده شده اند، ممکن است در واقع لکوپلاکیهای دیسپلاستیک با نمای لیکنوئید و ارتشاح التهابی لیکنوئید ثانویه مشابه با لیکن پلان (لیکنوئید دیسپلازی) باشند^(۷) و حداقل برخی از موارد که بطور کلینیکی و یا هیستولوژیک لیکن پلان دهانی تشخیص داده شده اند، احتمالا دیسپلازی اپی تلیال بوده اند که متعاقبا پیشرفت کرده و به SCC تبدیل شده اند^(۳)، تشخیص صحیح لیکن پلان دهانی از نوع همراه با دیسپلازی بسیار حائز اهمیت است. البته بایستی تاکید شود که خصوصیات هیستولوژیک منحصرأ پیش بدخیم نیست. تغییراتی در

صورت که لیکن پلان با دیسپلازی بیشتر در گونه، زبان و بوردر زبان دیده شده در حالیکه لیکن پلان دهانی بیشتر در لب، گونه و ونترال زبان حضور داشت.

در مطالعه حاضر شدت رنگ پذیری COX-2 در لایه های بازال، سوپرابازال و همبند در دو گروه لیکن پلان دهانی و لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی ارتباط معنی داری با هم نداشت. البته در الگوی رنگ پذیری سلول های مثبت در لایه سوپرابازال رابطه بین دو گروه لیکن پلان دهانی و لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی معنی دار بود. اما در لایه بازال و همبند چنین ارتباطی مشاهده نشد. مطالعاتی نیز همچون مطالعه ما وجود دارد که در بیان COX-2 در انواع مختلف بالینی OLP با درجات مختلف فعالیت، زمان های ایجاد و پروگنوزهای متفاوت، یا در مقایسه با ضایعات دیسپلاستیک و SCC تفاوتی پیدا نکرده اند. دلیل این امر می تواند به علت هتروژنیته نمونه ها، معیارهای تشخیصی بالینی، هیستوپاتولوژی متفاوت و کمبود اطلاعات بالینی باشد که اجازه تفکیک ساب تایپ های مختلف OLP را نداده است.^(۸)

تعداد کمی از هر دو گروه لیکن پلان دیسپلاستیک و معمول، از نظر رنگ پذیری منفی بودند که از این لحاظ با مطالعه Merza^(۷) و Cortes-Ramirez و همکاران^(۸) که تمام نمونه ها نشانگر را بروز داده بودند و مطالعه Danielson و همکاران^(۴) که COX-2 در همه بجز یکی از نمونه های OLP بیان شده بود، مغایرت داشت.

خصوصیات کلاسیک لیکن پلان دهانی برای تشخیص قطعی آن عبارتند از دژنراسیون Liquefactive (هیدروپیک) لایه بازال، ارتشاح متراکم نواری شکل لنفوسیت های T، بلوغ اپی تلیال نرمال، رت ریج های دنداناره ای، Civatte bodies (کلوئید) و هایپرکراتوزیس (ارتو یا پارا). شاخص های رد کردن لیکن پلان دهانی عبارتند از فقدان

پلی مورفیسم در سطح COX-2 promoter می باشد ارتباط دارد.^(۱۰) همچنین برخی نویسندگان این نکته را مورد بحث قرار می دهند که پلی مورفیسم ژن COX-2 می تواند ریسک تغییر بدخیمی ضایعات پیش بدخیم دهانی را به شکل مثبتی تغییر دهد و منجر به کاهش بیان ژن COX-2 شود. اگرچه این تقابلات ملکولی می توانند تاحدودی بعضی از فواید مرتبط با مهار COX-2 را در برخی از بدخیمی ها توضیح دهد، سایر نویسندگان نتوانسته اند چنین ارتباطی را پیدا کنند و بیان می دارند که برخی پلیمورفیسم های ژنی COX-2 بیان این آنزیم را به شکل مثبت یا منفی تغییر نمی دهد.^(۸)

مطالعات اندکی بیان COX-2 در ضایعات OLP را مورد تجزیه و تحلیل قرار داده اند. بیشتر مطالعات در مورد ضایعات دیسپلاستیک و یا کارسینوم های سر و گردن انجام شده اند که کار مقایسه با نتایج مربوط به OLP را دشوار می سازد.^(۸) اما وجود دیسپلازی در برخی نمونه های لیکن پلان در مطالعه ما تا حدودی مقایسه با نتایج عمده مطالعات را تسهیل می نماید. از میان همه اختلالات بالقوه بدخیم حفره دهان، تغییر بدخیمی OLP مبهم تر است، گزارش شده که COX-2 در دیسپلازی نسبت به بافت نرمال بیشتر بیان می شود. علاوه بر این بیان COX-2 با درجات بالاتر دیسپلازی اپی تلیال دهان مرتبط است و می تواند یک واقعه زودهنگام در کارسینوژنیز دهانی باشد.^(۱۰) Arreaza و همکاران^(۵) افزایش بیان COX-2 در OLP را در مقایسه با OLL - مانند لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی - نشان دادند، در حالیکه Cortes-Ramirez و همکاران^(۸) نتیجه عکس آن را مشاهده کردند. این یافته ممکن است پیشنهاد کند که تمایز بین این دو گروه ضایعات، به طور بالقوه می تواند در پروگنوز اهمیت داشته باشد. همچنین آنها نتیجه گرفتند که یافته های آنها اتیولوژی و مسیرهای

الگوی هیستولوژیک ممکن است در پاسخ به محرک مزمن خفیف رخ دهد؛ به عنوان مثال در هایپرپلازی واکنشی دارای دیسپلازی اپی تلیال که در پاسخ به پروتز ایجاد شده است.^(۷)

در ضایعات غیر دیسپلاستیک کاهش فراوانی Heterozygous loss (از دست رفتن یکی از آلل های غیرمشابه یک ژن) (مکان های اصلی سرکوب تومور) در مقایسه با دیسپلازی اپی تلیال و هایپرپلازی دیده می شود. هنگامیکه دیسپلازی اپی تلیال پیشرفت می کند و کارسینوما ایجاد می شود فراوانی Heterozygous loss افزایش می یابد. این یافته ها پیشنهاد می کند که لیکن پلان دهانی (غیردیسپلاستیک) یک بیماری با پروفایل و اتیوپاتولوژی مشخص است. در مقابل لیکن پلان دهانی همراه با دیسپلازی فراوانی بالایی از Heterozygous loss مشابه با آنچه که در دیسپلازی دهانی دیده می شود، نشان می دهد.^(۷) بنابراین لیکن پلان دهانی (غیر دیسپلاستیک) و ضایعات لیکنوئید دیسپلاستیک مقوله های کاملاً جداگانه ای هستند.^(۷) به نظر می رسد دیسپلازی از لیکن پلان مستقل بوده و خطری برای پیشرفت به SCC است.^(۷)

آنزیم COX-2 مستقیماً به التهاب مرتبط است و در تشکیل کنسر دخالت دارد.^(۵) افزایش بیان COX-2 نه تنها در انواعی از کنسرها از جمله SCC ناحیه سر و گردن بلکه در بیماری های اتوایمیون و ضایعات OLP نیز دیده شده است.^(۴) این آنزیم اغلب در زمان التهاب بیان می شود و به ترمیم بافتی، آنژیوژنیز، پرولیفراسیون سلولی و تمایز کمک می کند، اما التهاب مزمن و پایدار مانند آنچه در لیکن پلان دهانی (OLP) و ضایعات لیکنوئید دهانی (OLL) رخ می دهد می تواند منجر به آثار مخرب شود. التهاب با کارسینوژن دهانی نیز به شدت مرتبط است. استعداد ابتلا به کانسر در یک فرد با بیان افتراقی COX-2 که در نتیجه

اما در مطالعه Arreaza و همکاران^(۵) عمدتاً در گروه OLP بیان شد. همانند مطالعه Arreaza و همکاران^(۵)، Cortes-Ramirez و همکاران^(۸) نیز به افزایش بیان COX-2 در ارتشاح التهابی ضایعات لیکنوئید پی بردند، اگرچه در سطح اپی تلیال هم مشاهده گردید. این یافته ها پیشنهاد می کند که اتیولوژی و مسیرهای پاتوفیزیولوژی ملکولار این ضایعات متفاوت است.

نتیجه گیری

ضایعه لیکن پلان دهانی بخش مهمی از ضایعات دهانی را تشکیل می دهد و از لحاظ ایجاد تغییرات بدخیمی از اهمیت بالایی برخوردار است. باتوجه به یافته های حاصل از این مطالعه مبنی بر افزایش بیان COX-2 در ضایعات لیکن پلان دهانی بویژه انواع دارای دیسپلازی و نیز احتمال بیشتر ایجاد دیسپلازی در ضایعات نواحی خاصی از دهان از جمله مخاط باکال، زبان و بوردر زبان، پیشنهاد می شود با انجام مطالعات آینده نگر و پیگیری های دوره ای بیماران مبتلا به ضایعات لیکنوئید دهان و اهمیت وجود دیسپلازی در لیکن پلان دهانی، جایگاه بروز ضایعات و بیان COX-2 به عنوان یک مارکر بیولوژیک و فاکتور پروگنوستیک در لیکن پلان دهانی بیشتر مشخص شود. دستیابی به این مهم نیاز به مطالعات بیشتر و وسیع تری در این زمینه دارد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از پایان نامه شماره ۲۹۶۱ با حمایت معاونت پژوهشی و فناوری و بخش پاتولوژی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شده است که بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر پژوهشگران ابراز می گردد.

پاتوفیزیولوژیک ملکولی متفاوتی برای OLP و OLL پیشنهاد می کند. بر پایه نتایج مطالعه Sanketh و همکاران^(۱۰)، شدت بیان COX-2 در دیسپلازی اپی تلیال و OLP در مقایسه با سایر ضایعات زیاد بود که بیانگر پرولیفراسیون سلولی زیاد در دیسپلازی و واکنش التهابی مزمن در OLP است. در سلول های اپی تلیال نرمال، بیان حداقلی از COX-2 وجود دارد^(۵) هرچند که در دو مطالعه بررسی ایمونوهیستوشیمی (IHC) توسط Merza^(۶) و Danielson و همکاران^(۴) در اپی تلیوم نرمال دهان هیچگونه بیان COX-2 مشاهده نشد. اما در مطالعه Danielson و همکاران^(۴) برخی سلول های التهابی موجود در بافت همبند زیرین، این پروتئین را بیان کردند. البته نتایج آنها نشان داد سطوح COX-2 mRNA در اپی تلیوم OLP به طور قابل توجهی در مقایسه با اپی تلیوم مخاط نرمال بیشتر است. هرچند که به بیان Nagatsuka و همکاران^(۹)، mRNA و پروتئین COX-2 در مخاط نرمال دهان قابل ردیابی نیست اما رنگ پذیری ضعیف آن را در مخاط نرمال مجاور ضایعات دیسپلازی اپی تلیال، کارسینوم In situ و SCC دهان نشان دادند و پیشنهاد کردند که عدم بیان یا بیان ضعیف در مخاط نرمال مجاور بیان می کند که این آنزیم ممکن است یک نقش فرعی در مکانیسم تنظیمی پاراکراین در کارسینوژنز دهانی داشته باشد.

آثار التهابی ارتشاح لنفوسیتیک با فعالیت آنتی آپاپتوتیک bcl2 در OLP و OLR منجر به القای بیان COX-2 نه تنها در ارتشاح نواری شکل موجود در بافت همبند بلکه در اپی تلیوم مجاور در لایه بازال و حتی در لایه های بالاتر اپی تلیوم می شود. به نظر می رسد که این مورد در هر دو گروه ضایعات OLP و OLR صادق باشد.

منابع

1. Carrozzo M, Thorpe R. Oral lichen planus: a review. *Minerva Stomatol* 2009; 58(10):519-37.
2. do Canto AM, Müller H, de Freitas RR, da Silva Santos PS. Oral lichen planus (OLP): clinical and complementary diagnosis. *An Bras Dermatol* 2010; 85(5):669-75.
3. Gupta S, Jawanda MK. Oral lichen planus: an update on etiology, pathogenesis, clinical presentation, diagnosis and management. *Indian J Dermatol* 2015; 60(3):222-9.
4. Danielsson K, Ebrahimi M, Wahlin YB, Nylander K, Boldrup L. Increased levels of COX-2 in oral lichen planus supports an autoimmune cause of the disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; 26(11):1415-9.
5. Arreaza AJ, Rivera H, Correnti M. Expression of COX-2 and bcl-2 in oral lichen planus lesions and lichenoid reactions. *Ecancermedicalsecience* 2014; 8:411.
6. Merza MS. Immunohistochemical expression of Cyclooxygenase 2 and Caspase 7 in oral lichen planus. *J Baghdad Coll Dent* 2012; 24(2):61-4.
7. Canto AM, Müller H, Freitas RR, Santos PS. Oral lichen planus (OLP): clinical and complementary diagnosis. *An Bras Dermatol* 2010; 85(5):669-75.
8. Cortés-Ramírez DA, Rodríguez-Tojo MJ, Gainza-Cirauqui ML, Martínez-Conde R, Aguirre-Urizar JM. Overexpression of cyclooxygenase-2 as a biomarker in different subtypes of the oral lichenoid disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 110(6):738-43.
9. Nagatsuka H, Siar CH, Tsujigiwa H, Naomoto Y, Han PP, Gunduz M, et al. Heparanase and cyclooxygenase-2 gene and protein expressions during progression of oral epithelial dysplasia to carcinoma. *Ann Diagn Pathol* 2012; 16(5):354-61.
10. Sanketh D, Kumari K, Rao RS, Haragannavar VC, Sarode SC, Sarode GS, et al. Expression of Ki-67, p53, α -SMA and COX-2 in lichen planus and related lesions: a pilot study. *J Oral Biol Craniofac Res* 2019; 9(2):230-5.
11. Barnes L, Eveson JW, Relchart P. Tumours of the oral cavity and oropharynx. World Health Organization classification of tumours: pathology & genetics head and neck tumours. Lyon, France: IARC Press; 2005. P. 168-75.
12. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Chi AC. Oral and maxillofacial pathology. Amsterdam, Netherlands: Elsevier Health Sciences; 2015.
13. Van der Meij E, Van der Waal I. Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria and suggestions for modifications. *J Oral Pathol Med* 2003; 32(9):507-12.