ارزیابی اپی تلیوم مخاط دهان در مردان مبتلا به دیابت نوع I و II به روش سیتولوژی اکسفولیاتیو

***دکتر صفورا سیفی:** استادیار آسیب شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران (*نویسنده مسئول). sf_seify@yahoo.com
دکتر فریده فیضی: استادیار بافت شناسی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران. faridehfeizi@yahoo.com
دکتر زلیخا معززی: استادیار داخلی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران. zmoazzezi@yahoo.com
دکتر محمد مهدی زاده: استادیار جراحی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران. mmehdizadeh@yahoo.com
دکتر بابک زمانی: دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران. babakzamani@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۲

چکیده

زمینه و هدف: دیابت شیرین از شایع‌ترین بیماری‌های اندوکرین متابولیک بوده که با اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین همراه است. کاربرد روش سیتومورفومتری در ارزیابی تغییرات کمی و کیفی اپی تلیوم مخاط دهان ناشناخته مانده و در این زمینه در دیابتی ها مطالعه اندکی صورت گرفته است. لذا هدف مطالعه حاضر بررسی مقایسه ای اپی تلیوم مخاط دهان در افراد مبتلا به دیابت نوع I و II و افراد سالم می باشد.

روش کار: در این مطالعه مورد –شاهدی، اسمیر سیتولوژیازاپیتلیوم مخاط دهان (طرفی زبان و مخاط با کالسمتر است) در ۲۴ فرد مبتلا به دیابت (۹ مورد نوع I و ۱۵ مورد نوع II) و ۳۰ فرد سالم (۱۵ نفر کنترل I و ۱۵ نفر کنترل II) تهیه شده و به روش پاپانیکولائو رنگ آمیزی گردید. متوسط اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در هر گروه با نرم افزار Motic plus2 اندازه گیری شد. همچنین ارزیابی کیفی اسلایدهای سیتولوژی در سه گروه، دیابتی نوع (II,I) و افراد سالم صورت گرفت.

یافته ها: کاهش اندازه هسته و سیتوپلاسم (p< ۰/۰۰۱) و افزایش نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در نواحی مخاط باکال (p=۰/۰۰۱) و زبان (p=۰/۰۱۱) دیابتی ها نسبت به افراد سالم وجود داشت. اختلاف آماری معنی داری از نظر ویژگی های کمی سیتومورفومتری در افراد دیابت نوع I و II در ناحیه مخاط باکال (p= ۰/۱۵) و زبان (p=۰/۸۶) مشاهده نشد. از نظر اندازه هسته، سیتوپلاسم اختلاف آماری معنی داری در افراد دیابت I و کنترل I و نیز دیابت نوع II و کنترل II در ناحیه مخاط باکال و زبان وجود داشت (p<۰/۰۰۱). هسته دو یا چند لوبه، کاریورکسی، واکوئولیزاسیون سیتوپلاسم در دیابتی ها نسبت به افراد سالم بیشتر بود (p<۰۰۱/).

نتیجه‌گیری: دیابت منجر به ایجاد تغییرات کمی و کیفی سیتومورفومتری مخاط دهان می شود، اما نوع دیابت بر این تغییرات مؤثر به نظر نمی رسد.

کلیدواژه‌ها: دیابت شیرین، سیتولوژی، مخاط دهان

مقدمه

دیابت شیرین یک بیماری متابولیک پیچیده بوده که با اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین همراه است (۱). شیوع آن در نواحی مختلف دنیا در حال افزایش بوده (۲) و مرگ و میر ناشی از این بیماری به دلیل ایجاد اختلال در عملکرد سیستم عروقی و نقص در فعالیت کلیه‌ها است (۳). دیابتدارای انواع I، II، دیابت بارداری و دیابت نوع ۱/۵ یا دوگانه می‌باشد. نوع II شایع ترین نوع دیابت بوده و ۹۵٪ افراد مبتلا به دیابت را شامل می شود، ولی نوع I شیوع کمی داشته و ۵-۳٪ افراد دیابتی را تشکیل می‌دهد. دیابت نوع I در افراد جوان (۳۰-۱۵ سالگی) مشاهده می گردد و دیابت نوع I دارای نوع IA و IB بوده که نوع IA یک بیماری خود ایمنی بوده که در آن به علل نامشخص، تخریب جزایر β پانکراس و فقدان تولید انسولین وجود داشته و متعاقباً افزایش قند خون رخ می دهد. اما نوع II در سنین بالا (۶۰-۴۰ سالگی) ایجاد شده و در افراد مبتلا، مقاومت نسبت به گیرنده انسولین دیده می شود. درمان آن معمولاً غیر مرتبط با انسولین است و بیشتر نیازمند تنظیم رژیم غذایی فرد می باشد (۵ و ۴). دیابت نوع ۱/۵ در بزرگسالان مبتلا به دیابت رخ داده که دارای ویژگی های دیابت نوع I و II می‌باشند (۶). هیپرگلیسمی (افزایش قند خون) از علائم اصلی دیابت است که منجر به ایجاد عوارض سیستمیک به ویژه میکروآنژیوپاتی می گردد. (۶ و ۳) اختلال

در عملکرد مخاط دهان به دلیل جایگزینی و تغییر در میزان بزاق و تغییر در نوع تغذیه و کاهش فعالیت سیستم ایمنی باعث تغییر در فلور نرمال دهان و تمایل بیشتر جهت ایجاد عفونت می‌گردد. مشکلات دهانی افراد مبتلا به دیابت شامل خشکی دهان، کاندیدیازیس، افزایش پوسیدگی دندان‌ها، التهاب لثه، پریودنتیت و آبسه پری آپیکال و سندرم سوزش دهان است (۸ و ۷). جهت ارزیابی مخاط دهان افراد مبتلا به دیابت چندین روش وجود دارد که یکی از شایع ترین روش ها کاربرد بیوپسی به صورت اینسیژنال یا اکسیژنال است ولی استفاده از بیوپسی به دلیل تهاجمی بودن و ایجاد مشکلات سایکولوژیک برای بیمار معمولاً کاربرد ندارد (۹). به نظر می رسد بهترین شیوه با هزینه پایین و خاصیت تهاجمی کمتر و عدم آسیب به بافت های دهانی فرد بیمار، استفاده از سیتولوژی اکسفولیاتیو می باشد که در ابتدا جهت تشخیص سریع ضایعات پیش سرطانی و پیش آگهی آن‌ها کاربرد داشته و امروزه در تشخیص برخی از بیماری ها استفاده می شود (۱۱ و ۱۰). اما کاربرد این روش برای ارزیابی تغییرات کمی و کیفی در سلول های اپی تلیوم مخاط دهان مورد شک و تردید است. در مجموع مطالعات اندکی تا به امروز تغییرات مخاط دهان را در افراد دیابتی بررسی کرده و تغییر جایگزینی را در سلول های اپی تلیوم مخاط دهان با روش سیتولوژی گزارش کرده اند. (۳ و ۱) تنها در یک مطالعه مقایسه تغییرات سیتومورفومتریک مخاط دهان افراد مبتلا به دیابت نوع I و II گزارش شده است (۱۲). لذا هدف مطالعه حاضر بررسی ویژگی های کمی و کیفی اپی تلیوم مخاط دهان (مخاط باکال و نیز طرفی زبان) با روش سیتولوژی اکسفولیاتیو در افراد مبتلا به دیابت نوع I و II و مقایسه آن ها با یکدیگر و افراد سالم می باشد.

روش کار

در این مطالعه مورد-شاهدی، تعداد ۲۴ فرد دیابتی (۹ نفر دیابت نوع I و ۱۵ نفر دیابت نوع II) مورد مطالعه قرار گرفتند. سن، جنس، مدت زمان ابتلا، نوع دیابت، و تاریخچه پزشکی آن ها در جداول از پیش تهیه شده ثبت گردید همچنین ۳۰ فرد سالم که هیچ گونه فاکتوری جهت ابتلا به دیابت نداشته و قند خون آن ها کمتر از ۱۲۰mg/dl بود به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. افراد سالم از خوابگاه دانشجویی پسران و کارکنان دانشکده دندانپزشکی انتخاب شدند. افراد سیگاری، الکلی، مبتلا به کم خونی و بدخیمی و هرگونه مشکل سیستمیک، ضایعات دهانی و ناراحتی لثه و پریودنتال در هر گروه با توجه به امکان تأثیرپذیری آن ها در شکل و مورفولوژی سلولی خارج شدند. گروه شاهد در افراد سالم با گروه مورد (دیابتی) از نظر سن و جنس همسان سازی شدند. جهت افزایش دقت مطالعه، دو گروه کنترل برای دیابت نوع I و II به صورت جداگانه در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که تعیین وجود نوع دیابت با نظر فوق تخصص غدد و بر اساس معیارهای انجمن دیابت ژاپن در تشخیص و طبقه بندی دیابت صورت گرفت (۴) به طوری که افراد با سابقه ۱۰-۸ سال ابتلا به دیابت و تحت کنترل و حداقل داشتن یکی از مشخصات زیر در مطالعه وارد شدند:

۱- سطح گلوکز سرم به طور انتخابی ≥ ۲۰۰ mg/dl یا (11.1 mM)

۲- سطح گلوکز سرم ناشتا (FBS)mg/dl ۱۲۶ ≥ یا (7.0 mM)

۳- گلوکز دو ساعته پلاسما(2hPP)mg/dl ۲۰۰ ≥ یا (11.1 mM)

قبل از تهیه اسمیر برای افراد، هدف از مطالعه و فواید آن توضیح داده شد و نیز رضایت کتبی اخذ گردید.، سپس شست و شوی دهان با آب معمولی، کشیدن یک قطعه گاز به آرامی روی نواحی مورد نظر و بررسی و اطمینان از عدم وجود ذرات غذایی انجام شد.در ادامه توسط ۲ عدد سیتوبراش یک بار مصرف (Cytobrush, padtanteb, Iran) از هر یک از نواحی مخاط گونه و زبان سمت راست به طور جداگانه و مجزا اسمیر تهیه شد. سیتوبراش در هر محل ۱۷-۱۰ بار چرخش داده شد و سپس هر براش مربوط به ناحیه آناتومیکی خود، بر روی اسلاید شیشه ای خشک و تمیز که از قبل دارای برچسب و شماره بود، گسترده گردید و بلافاصله

سلول های موجود در سطح اسلاید توسط اسپری pathofix حاوی اتانول ۹۵٪ (تهران-ایران) (padtanteb) به فاصله ۲۵ سانتی متری با حداکثر ۲ بار فشار اسپری ثابت شدند. بر روی هر اسلاید کد مربوط به هر بیمار نوشته شد و به منظور جلوگیری از خطای احتمالی، تمامی نمونه‌ها توسط یک فرد جمع آوری شد. پس از ثبوت نمونه‌ها، کلیه اسلایدها به آزمایشگاه آسیب شناسی دانشکده دندانپزشکی بابل منتقل شد و طی ۳-۱ روز بعد با روش پاپانیکولائو رنگ آمیزی شدند.

نمونه های سیتولوژی به ترتیب در درجات مختلف الکل (غلیظ به رقیقشامل ۹۰ درجه، ۷۰درجه، و ۵۰ درجه) قرار گرفته و سپس در آب مقطر غوطه ور شدند. بعد از آن در رنگ هماتوکسیلین به مدت ۱۰-۵ دقیقه قرار داده شدند. سپس در آب مقطر و اسید الکل ۵٪ و بعد در معرض آب مقطر و کربنات لیتیم قرار گرفته و دوباره در آب مقطر و الکل ۵۰، ۷۰، و ۹۰ درجه شسته شدند.در ادامه به مدت یک دقیقه در محلول اورانژ، الکل ۹۵ درجه و ۲ دقیقه در رنگ پاپانیکولائو قرار گرفته و دوباره به مدت ۵ دقیقه در الکل ۹۵، الکل مطلق و گزیلل قرار داده شده و با چسب و لامل پوشیده شدند. جهت ارزیابی سیتومورفومتری از کامپیوتر متصل به دوربین و نرم افزار فتوشاپ و از نوع سیستم آنالیز (Micro – Motic (optic industrial group co LTD1 Image Plus 2 استفاده شد. عکسبرداری از اسلایدها با بزرگنمایی ۴۰ برابر با میکروسکوپ نوری انجام شد. در هر اسلاید به طور متوسط ۵۰ سلول با رنگ پذیری شدید و حدود مشخص سلولی انتخاب شدند. در صورت مشاهده روی هم افتادگی سلول ها و مشخص نبودن غشاء، آن نمونه‌ها در مطالعه وارد نشدند.

جهت جلوگیری از خطای اندازه گیری و شمارش نمونه‌های سلولی به صورت مجدد، حرکت میکروسکوپ از چپ به راست سپس به بالا و پایین صورت گرفت. بعد از آن تعیین متوسط اندازه هسته و سیتوپلاسم هر سلول (بر حسب μm^2) و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم صورت گرفت و نتایج به صورت Mean±SD گزارش گردید.

ارزیابی کیفی سیتومورفومتری

در هر اسلاید سیتولوژی، تعداد ۵۰ سلول در ۵ فیلد میکروسکوپی با بزرگنمایی ۴۰ برابر از نظر ویژگی‌های هسته (وجود هسته دو یا چند لوبه)، کاریورکسی، واکوئولیزاسیون سیتوپلاسم، وجود التهاب و کاندیدا در نواحی مخاط باکال (سمت راست) و طرفی زبان (سمت راست) در افراد دیابت نوع I و II و سالم بررسی گردید و میانگین نتایج به صورت درصد مطرح شد.

آنالیز آماری

نتایج وارد SPSS نسخه ۱۷شده و مقایسه بین سه گروه با آنالیزهای آماری انجام شد. p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار تلقی شد. برای مقایسه اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در دو ناحیه زبان و مخاط باکال در دو گروه دیابتی و سالم از T- test و برای مقایسه متغیرهای فوق در سه گروه دیابت I و II و سالم از Kruskal–Wallis و Mann-Whitney استفاده شد. از آنالیز chi-square برای مقایسه ویژگی های کیفی سیتومورفومتری در سه گروه دیابت I و II و سالم استفاده گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه مجموعاً ۵۴ نفر شرکت کردند که شامل ۲۴ فرد دیابتی (۹ نفر دارای دیابت نوع I و ۱۵ نفر دارای دیابت نوع II) و ۳۰ فرد سالم (۱۵ نفر کنترل I و ۱۵ نفر کنترل II) بودند . اختلاف معنی داری از نظر سنی در افراد دیابت نوع I و کنترل I و دیابت نوع II و کنترل II وجود نداشت (p= ۰/۱) (جدول۱). اطلاعات در خصوص میانگین اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در افراد دیابتی و سالم در نواحی مخاط باکال و دهان در جداول ۲، ۳ و ۴ خلاصه شده است.

ارزیابی کیفی اسمیرهای سیتولوژی

اختلاف آماری معنی داری از نظر کاندیدا

جدول ۱- اطلاعات دموگرافیک (سن و جنس) افراد مبتلا به دیابت نوع I و II و گروه کنترل I و II

خصوصیات دموگرافیک		دیابت نوع I	کنترل I	دیابت نوع II	کنترل II
سن		۲۴/۳۳± ۲/۵	۲۵± ۲/۹۳	۳۴/۰۷± ۸/۲۳	۳۳/۶۷± ۳/۴۴
جنس	مذکر	۹ (۱۰۰٪)	۱۵ (۱۰۰٪)	۱۵ (۱۰۰٪)	۱۵ (۱۰۰٪)
	مؤنث	۰	۰	۰	۰

جدول ۲- میانگین اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در افراد دیابتی و سالم در نواحی مخاط باکال و زبان

سالم/بیمار	تعداد	محل تهیه اسمیر	اندازه هسته (μm^2)	اندازه سیتوپلاسم (μm^2)	نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم ($\frac{N}{C}$)
دیابت	۲۴	مخاط باکال	۱۷۵۲/۹۲±۴۲۲/۸۵***	۵۸۱۴۹/۰۱۵±۲۰۳۶۷/۷۷***	۰/۰۴۹±۰/۰۲۳ ***
سالم	۳۰		۳۱۲۴/۳۷±۷۴۴/۹۷	۱۱۵۶۶۹/۱۶±۴۵۶۳۰/۳۲	۰/۰۳±۰/۰۰۰۴
p value			p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	p=۰/۰۰۱
دیابت	۲۴	زبان	۱۷۴۶/۲۹±۵۷۷/۹۵***	۵۶۲۳۶/۳۴±۱۶۹۶۳/۸۵***	۰/۰۵۳±۰/۰۳۲ **
سالم	۳۰		۴۲۶۳/۲۳±۱۳۳۶/۳۳	۱۷۸۹۲۲/۹۲±۵۰۰۹۳/۰۵	۰/۰۳۵۹±۰/۰۰۲
p value			p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	p=۰/۰۰۱

در جداول ۵-۲سطح معنی دار به صورت زیر تعریف شده است: * اختلاف معنی دار با گروه کنترل در سطح α= 0.05، ** اختلاف معنی دار با گروه کنترل در سطح α= 0.01، *** اختلاف معنی دار با گروه کنترل در سطح α= 0.001

جدول ۳- میانگین اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در افراد مبتلا به دیابت نوع I و II و گروه کنترل (I , II) در ناحیه مخاط باکال

سالم / بیمار	اندازه هسته (μm^2)	اندازه سیتوپلاسم (μm^2)	نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم ($\frac{N}{C}$)
دیابت I	۱۸۳۱/۳۷± ۳۴۰/۸۲ ***	۶۱۶۰۴/۳۲±۲۲۲۶۴/۶۴ ***	۰/۰۶±۰/۰۳***
کنترل I	۳۰۴۸/۵۵±۶۶۶/۳۴	۱۲۶۲۲۰/۶۵±۴۹۰۶۹/۶	۰/۰۳۰۷±۰/۰۰۰۴۷
p value	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	p=۰/۰۲
دیابت II	۱۷۰۵/۸۶±۴۷۰/۱۵	۵۶۰۷۵/۸۳±۱۹/۶۴۶ ***	۰/۰۴۲ ± ۰/۰۱۳ *
کنترل II	۱۳۸۴/۱± ۸۷۷/۷۴ ***	۹۹۳۹۱/۹۳±۳۵۸۶۵/۴۸	۰/۰۳۰۶±۰/۰۰۰۵۲
p value	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	p=۰/۰۱۶

(p=۰/۰۰۱) و التهاب (p< ۰/۰۰۱) بین افراد دیابتی و سالم در ناحیه مخاط باکال وجود داشت. اما در ناحیه زبان این اختلاف معنی دار نبود (p=۱). در مقایسه افراد دیابت نوع I و II از نظر آماری اختلاف معنی داری از نظر التهاب (p=۰/۳۲) و کاندیدا (p=۱) در نواحی مخاط باکال مشاهده نشد. در ناحیه زبان نیز این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود (P=۱).

اختلاف آماری معنی داری از نظر هسته دو یا چند لوبه، کاریورکسی و واکوئولیزاسیون سیتوپلاسم در افراد دیابتی و سالم در نواحی مخاط باکال و زبان وجود داشت (p<۰/۰۰۱) (جدول۵). تصاویر ۱ و ۲ اسمیر سیتولوژی مخاط باکال را به تصویر میکشاند.

بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر تفاوت معنی دار در اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در دیابتی ها نسبت به افراد سالم مشاهده شد. اینگونه به نظر می رسد که دیابت منجر به ایجاد تغییرات کمی سیتومورفومتریک مخاط دهان می شود که از این نظر نتایج مطالعه ما مشابه با نتایج مطالعات Jajarm (۱)، Survarna (۱۳)، Shareef (۳)، Prasad (۱۴) و Alberti (۱۱) است. اما این که بیماری سیستمیک دیابت چه تغییراتی در ویژگی های کمی سیتومورفومتری مخاط دهان ایجاد می کند، در مطالعات مختلف متفاوت به نظر می رسد.

در این مطالعه اندازه هسته و سیتوپلاسم در دیابتی‌ها نسبت به افراد سالم کوچکتر بوده ولی نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم بزرگتر بود. اینگونه حدس زده می شود که اندازه سلول در افراد دیابتیک کوچکتر از افراد سالم باشد. به عبارتی سلول‌های پوششی مخاط دهان در افراد

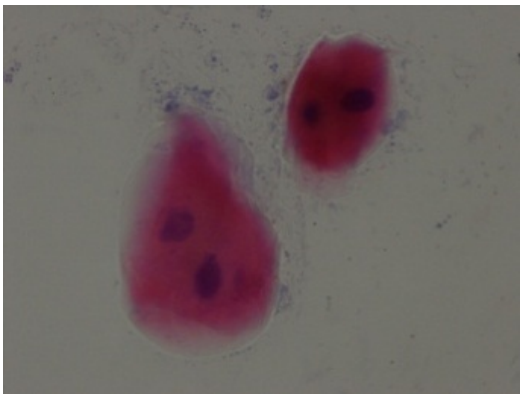
جدول ۴- میانگین اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در افراد مبتلا به دیابت نوع I و II و گروه کنترل I و II در ناحیه زبان

سالم / بیمار	اندازه هسته (μm^2)	اندازه سیتوپلاسم (μm^2)	نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم ($\frac{N}{C}$)
دیابت i	۱۷۴۳/۸±۴۰۸/۸۲ ***	۵۸۲۹۷/۸۴±۱۶۴۱۲/۶۸ ***	۰/۰۵±۰/۰۲۴
کنترل i	۴۲۱۹/۷۸±۱۴۲۱/۶۳	۱۷۱۰۱۴/۲۳±۴۸۱۸۶/۰۹	۰/۰۳۵۲±۰/۰۰۲۵۷
p value	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	p=۰/۲۱
دیابت ii	۱۷۴۷/۷۵±۶۷۳/۲۳ ***	۵۴۹۹۹/۴۳±۱۷۷۳۳/۲۰ ***	۰/۰۵±۰/۰۳۷
کنترل ii	۴۳۲۸/۴±۱۲۵۵/۷۲	۱۹۰۷۸۵/۹۴±۵۲۶۴۳/۴۳	۰/۰۳۴۷±۰/۰۰۰۴۹
p value	p<۰/۰۰۱	p<۰/۰۰۱	p=۰/۳۹

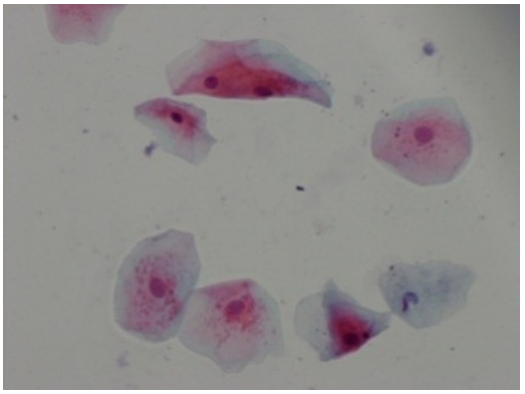
جدول ۵- مقایسه وضعیت هسته (دو یا چند لوبه، کاریورکسی) و واکوئولیزاسیون سیتوپلاسم در افراد دیابتی و سالم در نواحی مخاط باکال و زبان

دیابت/سالم	محل تهیه اسمیر	هسته دو یا چند لوبه	کاریورکسی	واکوئولیزاسیون سیتوپلاسم
مخاط باکال	دیابت	۷۶٪***	۹۲٪***	۹۶٪***
	سالم	۲۱/۴ ٪***	۳۱/۶ ***	۲۶/۹٪***
زبان	دیابت	۷۶٪***	۸۴٪***	۱۰۰٪***
	سالم	۲۰٪***	۲۷/۳٪***	۲۰٪***

دیابتی دچار آتروفی شده و اندازه هسته و سیتوپلاسم کاهش می‌یابد، به طوری که تشکیل



تصویر ۱- اسمیرسیتولوژی از ناحیه مخاط باکال در دیابت II ، هسته دولوبه رنگ آمیزی پاپانیکولائو (x۱۰۰)



تصویر ۲- اسمیرسیتولوژی از ناحیه مخاط باکال فرد مبتلا به دیابت I، کاریورکسی، واکوئولیزاسیون سیتوپلاسم، هسته دولوبه رنگ آمیزی پاپانیکولائو (x۴۰)

زخم های متعدد و عفونت‌های دهانی حاکی از آتروفی مخاط دهان در دیابتی‌هاا ست (۱) و این آتروفی به دلیل کاهش حجم و تعداد سلول ها می باشد. البته جهت تایید قطعی این مورد انجام مطالعه با میکروسکوپ الکترونی بر روی مخاط دهان افراد دیابتی ضروری به نظر می‌رسد. نتایج مطالعه Calderia و همکاران بر روی موش آزمایشگاهی و دیابتی گویای آتروفی اپی تلیوم مخاط دهان با پلئومورفیسم سلولی و کاهش تعداد لایه های سلولی قابل تشخیص و کاهش تعداد ارگان های سلولی است (۱۵) .

اکثر مطالعات انجام شده در افراد مبتلا به دیابت II بوده و اغلب مطالعات افزایش اندازه هسته در دیابتی ها را گزارش کرده اند (۱۴، ۱۱، ۳، ۱) که در تضاد با نتیجه مطالعه مذکور است. این محققین عقیده داشته اند به دلیل ایسکمی و آترواسکلروز ناشی از دیابت، سلول های اپی تلیالی مخاط دهان سریع تر به مرحله پیری رسیده و به دلیل تجمع پروتئین های ناقص درون هسته و کاهش Turnover سلولی، اندازه هسته افزایش می یابد (۱۶)، اما ایجاد و شدت آترو اسکلروز بر حسب مرحله بالینی دیابت متفاوت است.

به نظر می رسد با افزایش محرک های آسیب رسان و پیشرفت پیری سلول در بیماران دیابتی به دلیل کاهش تولید پروتئین ها، اسیدهای نوکلئیک

و گیرنده های سلولی، تعداد ارگانل های سلولی و اندازه هسته و سیتوپلاسم کاهش یابد (۱۷). تنها در مطالعه Abdolsamadi و همکاران، کاهش اندازه هسته در دیابتی ها گزارش شده (۱۲) که مشابه مطالعه مذکور است. علت تفاوت نتایج مطالعه حاضر با دیگر محققان از نظر اندازه هسته، به طول مدت ابتلاء به دیابت و کنترل شده یا نشده بودن دیابت و این که در چه مرحله ای از دیابت اسمیرسیتولوژی از مخاط دهان گرفته شده است، بستگی دارد. در این مطالعه افراد به مدت ۱۰- ۸ سال سابقه ابتلاء به دیابت داشته اند و کاهش اندازه هسته نشانگر پیشرفت فرایند پیری در سلول های اپی تلیوم مخاط دهان است.

در دیابتی ها به دلیل هیپرگلایسمی ایجاد شده، اختلال در ترمیم بافت های آسیب دیده، اختلال در ترشح بزاق و گزروستومی رخ می دهد. گزروستومی ناشی از دهیدراتاسیون سیستمیک، استفاده از دارو و ممبرانوپاتی مجرای بزاقی بوده (۳) و در نتیجه منجر به کاهش اندازه سیتوپلاسم سلولهای اپی تلیالی می‌گردد. در این مطالعه از آنجا که کاهش اندازه سیتوپلاسم سلول در دیابتی‌ها بیشتر از کاهش اندازه سیتوپلاسم سلول های سالم است، در نتیجه نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در دیابتی ها نسبت به افراد سالم بیشتر است. Abdolsamadi و همکاران اختلاف آماری معنی داری از نظر اندازه هسته و سیتوپلاسم نسبت هسته به سیتوپلاسم در افراد مبتلا به دیابت نوع I و II مشاهده کردند (۱۲). در مطالعه ما تفاوت معنی داری از نظر آماری در ویژگی های کمی سیتومورفومتری در افراد مبتلا به دیابت نوع I و II دیده نشد.

به نظر می رسد مهمترین علت تفاوت نتایج مطالعه ما با تحقیق Abdolsamadi و همکاران (۱۲) به دلیل روش اندازه گیری باشد. در مطالعه ما از نرم افزار Motic Plus2 و بزرگنمایی میکروسکوپی ۴۰ برابر استفاده شد اما آن ها در مطالعه شان روش Counting Point و بزرگنمایی ۱۰۰ برابر به کار بردند. همچنین در آن مطالعه هر دو جنس مونث و مذکر شرکت داشته اما در مطالعه ما تنها مردان دیابتی وارد شدند. Abdolsamadi و همکاران (۱۲) علت کاهش اندازه هسته و ستیوپلاسم در دیابتی‌ها نسبت به افراد سالم را ناشی از آتروفی مخاط دهان دانستند که در توافق با نتایج مطالعه مذکور است.

در ارتباط با اندازه سیتوپلاسم در دیابتی ها در مطالعات مختلف نتایج متناقصی مشهود است. برخی از محققین افزایش (۱)، برخی دیگر کاهش اندازه (۱۳و۱۲) و بعضی عدم تغییر در اندازه سیتوپلاسم را در دیابتی ها نسبت به افراد سالم گزارش کرده اند (۱۷و۱۱و۳). این مطالعه از نظر کاهش اندازه سیتوپلاسم در دیابتی ها مشابه مطالعه Tozoglu و همکاران (۱۸) و Abdolsamadi و همکاران (۱۲) است اما با نتایج مطالعه Jajarm (۱)، Shareef (۳)، وAlberti (۱۱) متفاوت می باشد.

برخی از محققان افزایش نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم را به عنوان علامت پیش بدخیمی و بدخیمی اطلاق کرده اند (۱۹) و بعضی عقیده دارند که ارتباطی بین افزایش نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و سرطان وجود دارد (۲۰). اما در مطالعاتی گزارش شده که بدلیل عدم ارتباط دیابت و سرطان، بهتر است از نسبت اندازه سیتوپلاسم به هسته استفاده کرد و توضیحی در مورد علت عدم ارتباط دیابت و سرطان نمی‌دهند (۳).

در مطالعه حاضر نسبت هسته به سیتوپلاسم در دیابتی‌ها افزایش یافته، اما اندازه هسته در دیابتی‌ها نسبت به افراد سالم کاهش نشان می‌دهد. در بدخیمی ها معمولاً افزایش اندازه هسته و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم همسو با یکدیگر است (۸). اگر چه اکثر مطالعات از نظر افزایش نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و به عبارتی کاهش نسبت سیتوپلاسم به هسته مشابه مطالعه مذکور هستند، اما در مطالعه ما افزایش نسبت هسته به سیتوپلاسم ناشی از افزایش اندازه هسته نبوده بلکه به دلیل کاهش وسعت سیتوپلاسم است. تنها در مطالعه Abdolsamadi و همکاران دیابت نوع I و II از نظر تغییرات کمی سیتومورفومتری مخاط دهان مقایسه شده اند (۱۲) و در هیچ مطالعه دیگر این بررسی صورت نگرفته است.در مطالعه مذکور در مقایسه اندازه

هسته، سیتوپلاسم و نسبت هسته به سیتوپلاسم، التهاب و کاندیدا اختلاف آماری معنی داری بین افراد مبتلا به دیابت نوع I و II مشاهده نشده است. این یافته مؤید نظر به عنوان شده است که تغییرات اندازه هسته و سیتوپلاسم ناشی از هیپرگلایسمی ایجاد شده در دیابت بوده و پاتوفیزیولوژی بیماری تأثیری در ایجاد این تغییرات ندارد. اما در مقایسه تغییرات کمی سیتومورفومتری در افراد مبتلا به دیابت I و کنترل I همچنین دیابت II و کنترل II اختلاف آماری معنی داری مشهود است که حاکی از تأثیر دیابت I و II بر تغییرات کمی سیتومورفومتری مخاط دهان است.

برخی از محققان معتقدند که سن و جنس بر ویژگی های کمی سیتومورفومتری دهان تأثیر گذارند (۲۱) و مطالعات دیگر این نتایج را رد می کنند (۱۴). در مطالعه ما سعی شد تا حد ممکن گروه ها یکسان سازی گردند و جهت افزایش دقت مطالعه، دو گروه کنترل جهت افراد مبتلا به دیابت نوع I و II در نظر گرفته شد.

در بررسی کیفی اسمیرهای سیتولوژی بدلیل گزروستومی و دهیدراتاسیون ایجاد شده در مخاط دهان دیابتی ها زمینه برای افزایش عفونت های فرصت طلب مانند کاندیدا و در نتیجه التهاب افزایش می یابد (۱۹)، که نتایج این مطالعه حاکی از افزایش التهاب و کاندیدا در مخاط دهان دیابتی‌ها نسبت به افراد سالم در ناحیه مخاط باکال است. اما در ناحیه زبان اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود که بیانگر عملکرد موضعی التهاب می باشد. نتایج مطالعه ما از نظر افزایش التهاب و کاندیدا در دیابتی ها نسبت به افراد سالم تا حدودی مشابه مطالعه jajarm و همکاران است (۱) که افزایش التهاب را در ناحیه زبان افراد دیابتی گزارش کردند.

عقیده بر این است که التهاب منجر به افزایش اندازه هسته و کاهش اندازه سیتوپلاسم سلول های مخاط دهان می گردد اما این نکته تنها در مورد سلول های جوان صادق است (۱۱). در دیابتی ها سلول های اپی تلیالی به دلیل نقص هورمونی و یا اختلالی در عملکرد آن، سریع تر وارد فرایند پیری می گردند. در این مطالعه در مجموع کاهش اندازه هسته و سیتوپلاسم رخ داده که به نوعی تأیید کننده این مطلب است. اگر فرض کنیم التهاب بر روی تغییرات کمی سیتومورفومتری مخاط دهان مؤثر باشد، جهت جلوگیری از تأثیر التهاب در مطالعه حاضر، اسمیرهای سیتولوژی از دو ناحیه مخاط باکال و زبان تهیه شده و برای بررسی سلول‌ها از هر سه لایه اپی تلیوم از سیتوبراش جهت تهیه اسمیر استفاده گردید.

در ارتباط با ویژگی های کیفی سیتومورفومتری (هسته دو یا چند لوبه، کاریورکسی و واکوئولیزاسیون سیتوپلاسم) در دیابتی ها و افراد سالم در مطالعات مختلف نتایج ضد و نقیضی مشهود است اما این علائم جزء فرایند پیری سلول بوده (۱۷) و در مطالعه حاضر پارامترهای مذکور در دیابتی ها بیشتر از افراد سالم گزارش شده است. نتایج مطالعه ما از این نظر مشابه با Alberti و همکاران (۱۱) و Abdolsamadi و همکاران (۱۲) است. Jajarm و همکاران (۱) درصد کاریورکسی بیشتری را در ناحیه زبان افراد مبتلا به دیابت نوع II نسبت به سالم گزارش نمودند که مؤید نتایج مطالعه مذکور است. از نظر نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در ناحیه زبان افراد مبتلا به دیابت نوع II و کنترل I و افراد دیابت نوع I و کنترل I اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت. اما در ناحیه مخاط باکال این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود. حدس زده می شود که تأثیر هیپرگلایسمی بر مخاط دهان بر حسب محل تهیه اسمیر سیتولوژی می تواند متفاوت باشد. شاید حجم نمونه بر روی نتایج تأثیرگذار باشد.

در مجموع به نظر می رسد علت تفاوت نتایج مطالعات مختلف به دلیل متفاوت بودن طول مدت ابتلا به دیابت، کنترل شده یا کنترل نشده بودن دیابت، درجه کنترل دیابت (خوب، متوسط، ضعیف)، سن و تعداد افراد شرکت کننده ، زمان تشخیص دیابت، نوع نرم افزار اندازه گیری سیتومورفومتری و بزرگنمایی میکروسکوپ به کار رفته جهت بررسی اسمیرها و عدم وجود روش اختصاصی برای بررسی اسمیرهای سیتومورفومتری باشد. از محدودیت های مطالعه

حاضر کم بودن حجم نمونه در دیابت نـوع I بـوده، که به دلیل شیوع کم این بیماری می باشـد. امیـد است در آینده بـا افـزایش حجـم نمونـه مطالعـات کامل‌تری انجام گیرد.

دیابت منجر بـه ایجـاد تغییـرات کمـی و کیفـی سیتومورفومتری مخاط دهان می شود. نوع دیابـت (I و II) و پاتوفیزیولوژی آن بر روی ایـن تغییـرات مؤثر به نظر نمی رسد.

تقدیر و تشکر

بدینوسـیله از معاونـت پژوهشـی دانشـگاه علـوم پزشکی بابل بخاطر حمایت هـای مـادی و معنـوی متشـکریم. از خـانم زیبـا شـیرخانی کـه در انجـام فرایند آماری مطالعه همکاری کردند سپاسـگزاریم. شماره طرح مصوب در دانشگاه ۸۹۲۸۷۱۶ است.

منابع

1. HoseinpourJajarm H, Mohtasham N, Rangiani A. Evaluation of oral mucosa epithelium in type II diabetic patients by an exfoliative cytology method. Oral Sciences. 2008; 50(3): 355-4000.

2. Vernillo AT. Diabetes mellitus: relevance to dental treatment. Oral Surg Oral Med Oral PatholRadiolEndod. 2001; 91(3): 263-70.

3. Shareef BT, Ang KT, Naik VR. Qualitative and quantitative exfoliative cytology of normal oral mucosa in type 2 diabetic patients.Med Oral Pathol Oral Cir Bucal. 2008; 13(11): E 93-6.

4. Kuzuya T, Nakagawa S, Saton Y, Kanaza W, Iwamoto Y, Kobayashi M, et al. Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus .Diabetes Res ClinPract 2002; 55(1): 65-85.

5. Mealey BL. Impaction of advances in diabetes care on dental treatment of the diabetic patient. Compend Contin Educ Dent. 1998; 19(1): 41-44, 46-8.

6. Pozzilli P, Guglielmi C, pronina E, petraikina F. Double or hybrid diabetes associated with an increase in type1 and type2 diabetes in children and Youths. Pediatr Diabetes 2007; 8(9):88-95.

7. Little JW, Falace DA, Miller CS, Rhodis NL. Dental management of the medically compromised patient. 6thed, Mosby: ST Louis; 2002, P 248-68.

8. Newman MG, Takei HH, Klollevold PR, Carranza FA. Carranza`s clinical periodontology. 10thed, Saunders: ST Louis; 2006, P 320-22.

9. Spafford MF, Kich WM, Red AL, claifano JA, XUL LH, Eisenberg CF, etal. Detection of head and neck squamous cell carcinoma among exfoliative oral mucosal cells by microsatellite analysis. Clin Cancer Res. 2001 7(1): 6-7.

10. Mehrota R, Gupta A, Sirgh M, Ibrahim R. Application of cytology and molecular biology in diagnosing premalignant or malignant oral lesions. Mol Cancer. 2006; 5(1): 5-11.

11. Alberti S, Spadella CT, Francischone TR, Asis GF, Cestari TM, Taverivaluis AA. Exfoliativecytology of the oral mucosa in type II diabeticpatients: morphology and cytomorphometry.J Oral Pathol Med .2003; 32(9): 536-43.

12. Abdolsamadi H, Shah Taheri M, Mortazavi H, Abdollahzadeh S, Zare R, Vahedi M. Evaluation of exfoliative cytology of buccal epithelium in diabetic patients. J Mash Dent Sch. 2009; 33(1): 41-52.

13. Suvarna M, Anuradha C, Kiran Kumar K, Chandra sekhar P, Lalithprakash Chandra K. Cytomorphometric analysis of exfoliativebuccal cell in type II diabetic patients. J of Dr NTR Univ of Health Scieces. 2012; 1(1): 33-7.

14. Prasad H, Ramesh V, Balamurali PD. Morphometric and cytomorphometric analysis of exfoliated buccal mucosal cell in diabetic patients. Cytology 2010; 27(4): 113-17.

15. Calderia EJ, Garcia PJ, Minatel E, Camilli JA, CagnonVHA. Morphometric analysis and ultrastructure of the epithelium of the oral mucosa in diabetic autoimmune

node mice.Braz J morpholSci 2004; 21: 191-205.

16. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster J. Pathology Basis of disease. 8th ed. Philadelphia : WB Saunders; 2010. 39-41.

17. Bharat S, Sonali S, Madhusudhan AS, Priya B. Exfoliative cytology of oral mucosa: cytomorphometric analysis of diabetic patients. Oral Sign. 2010; 2(2):4-12.

18. Tozoglu U, Murat Bilge O. Exfoliative cytology of type I diabetic patients. European J of General medicine.2009; 7(3): 264-68.

19. Nevill BW, Dam DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral and Maxillofacial Pathology, 3th ed. Philadelphia: WB Saunders. 2009 ; 843-45.

20. MaedMr, Di Loreto C, Shirata NK, Shih LW, Cavaliere MY. LongattoFilho A, et al. Image analysis of nuclear cytoplasmic ratio in cervical smears to discriminate three grades of cervical intraepithelial neoplasia. Actacytol. 1997; 41(3): 744-8.

21. Patel PV, Kumar S, Kumar V, Vidya G. Quantitative cytomorphometric analysis of exfoliative normal gingival cells. J Cytol .2011; 28(2): 66-72.

Evaluation of epithelium of oral mucosa in male patientswith diabetes type1 and 2 usingexfoliative cytology

***Safora Seifi,** MD, Assistant professor of oral and maxillofacial pathology, Babol University of Medical sciences, Babol, Iran (* Corresponding author). sf_seify@yahoo.com
Farideh Feizi, MD, Assistant professor of histology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. faridehfeizi@yahoo.com
Zoleikhah Moazzezi, MD, Assistant professor of internal medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. zmoazzezi@yahoo.com
Mohammad Mahdizadeh, MD, Assistant professor of oral and maxillofacial surgery, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. mmehdizadeh@yahoo.com
Babak Zamani, DDS, Dentist, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. babakzamani@yahoo.com

Abstract

Background: Diabetes mellitus is the most common metabolic endocrine diseases that is along with disorder in metabolism of carbohydrate, fat and protein .Usage ofcyto-morphometric method in evaluation of qualitative and quantitative changes in epithelium of oral mucosa remained unknown and few studies have been done in diabetic patients in thisregard. Therefore, the goal of this study is to compare epithelium of oral mucosa in type I and II diabetic patients and healthy people.
Methods: In this case control study, smear cytology from epithelium of oral mucosa (Lateral border of tongue and right side of buccal mucosa) in 24 Patients with diabetes (9 cases type I and 15 cases type II) and 30 healthy people (15 cases control I, and 15 control II) has been prepared and has been stained with papa-Nikolaou method. The average of size of nucleus, cytoplasm and nuclear to cytoplasm ratio in each group has been measured usingMotic Plus2 software. Additionally, qualitative evaluation of cytological slides was done in three groups, diabetic patients type I, II, and healthy people.
Results: There was a decrease in nuclear and cytoplasmic size ($p< 0.001$) and nuclear to cytoplasmic ratio in buccal mucosa ($p= 0.001$) and tongue ($p=0.011$) of diabetic patients compared with the healthy control. No significant statistical difference in quantitative cyto-morphometric features of buccal mucosa ($p= 0.15$) and tongue ($p= 0.86$) of diabetic types I and II was found. In the nucleus and cytoplasmic size, there was a statistical significant difference between the patientes with diabetes I and control I and also between diabetes type II and control II groups in the area buccal mucosa and tongue ($p< 0.001$). Double- or multi-lobed nucleus, karryorhexis, and vacuolization of cytoplasm in diabetic patients were higher than the healthy control ($p< 0.001$).
Conclusions: Diabetes leads to cyto–morphometric quantitative and qualitative changes in oral mucosa, but type of diabetes does not seem to be effective on these changes.

Keywords: Diabetes mellitus, Cytology, Mouth mucosa.