

مقایسه‌ی تغییرات سیتومورفومتری مخاط دهان در افراد سیگاری و قلیانی

*دکتر صفورا سیفی: استادیار آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران (*نویسنده مسئول).

sf_seify@yahoo.com

دکتر فریده فیضی: استادیار بافت‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران. f_feizi@yahoo.com

دکتر محمد مهدی زاده: استادیار جراحی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران. mehdizadeh@yahoo.com

دکتر ثریا خفری: استادیار پزشکی اجتماعی، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران. khaftris@yahoo.com

دکتر بهرنگ احمدی: دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران. behrang-ahmadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۸/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: مخاط دهان افراد سیگاری و قلیانی جهت ایجاد تغییرات بدخیم مستعدتر است. لذا هدف مطالعه حاضر ارزیابی تأثیر سیگار و قلیان بر ویژگی‌های مورفومتری (Morphometry) مخاط طبیعی دهان می باشد.

روش کار: در این مطالعه کوهورت گذشته نگر، اسمیر سیتولوژی (Cytology) از ۳ ناحیه مخاط باکال، طرفی زبان و کف دهان (سمت راست)، در ۴۰ فرد سیگاری، ۴۰ نفر قلیانی و ۴۰ فرد سالم تهیه شده و به روش پاپانیکولاو (Papanicolaou method) رنگ آمیزی گردید. تغییرات کمی و کیفی اسمیرسیتولوژی (Cytological smear) در هر اسلاید بررسی شد. ارزیابی کمی با نرم افزار Motic plus2 و ۵۰ سلول در هر اسلاید صورت گرفت. افراد در گروه‌ها از نظر سن و جنس یکسان سازی شدند.

یافته‌ها: افزایش اندازه هسته، نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم، Ferret ratio (نسبت قطر بزرگ به کوچک هسته) و کاهش اندازه سیتوپلاسم به ترتیب در نواحی زبان، مخاط باکال و کف دهان افراد سیگاری، قلیانی و سالم وجود داشت ($p \leq 0/001$). اختلاف آماری معنی داری از نظر درصد کاربوریسی (Karyorrhesis)، هسته چند لوبه (Multilobed nuclei) و واکوئولیزاسیون (Vacuolization) سیتوپلاسم در مخاط دهان افراد سیگاری و قلیانی و سالم در نواحی مخاط باکال ($p=0/8$)، زبان و کف دهان ($p=0/9$) مشاهده نشد، اما درصد التهاب ($p < 0/001$) و کاندیدا ($p=0/002$) در افراد سیگاری و قلیانی بیشتر از سالم بود.

نتیجه‌گیری: سیگار و قلیان در ایجاد تغییرات کمی سیتومورفومتری (Cyto-morphometry) مخاط دهان مؤثرند، اما تأثیر سیگار در این زمینه بیشتر از قلیان است.

کلیدواژه‌ها: سیگار، قلیان، سیتومورفومتری، سیتولوژی، مخاط دهان.

مقدمه

سیگار و تنباکو و در تحقیقات جدید قلیان، از مهمترین علل ایجاد کارسینوم سلول سنگفرشی دهان بوده و از فاکتورهای خطر برای ضایعات دیسپلاستیک (Dysplastic) می‌باشند (۱ - ۳).

قلیان وسیله‌ای آبی جهت کشیدن تنباکو بوده که در خاورمیانه و آسیای مرکزی متداول است و برای استفاده از دود حاصل از تماس ذغال گداخته و تنباکو به کار می‌رود (۳). بسیاری از افراد در جوامع خاورمیانه آن را بی ضرر و غیر قابل اعتیاد دانسته و جایگزین مناسبی جهت سیگار مطرح می‌کنند، به طوری که کشیدن قلیان در بسیاری از قهوه‌خانه‌ها و در مراکز تفریحی مشاهده می‌شود. اما برخی از مطالعات سطوح بالای عوامل توکسیک مانند منواکسیدکربن، فلزات سنگین و مواد

شیمیایی سرطان زا را در قلیان گزارش کردند (۴) و (۵). به نظر می‌رسد اولین گام درمان سرطان، تشخیص زودرس آن به ویژه در افرادی با ریسک خطر بالاست (۱). در مراحل اولیه ایجاد بدخیمی، تغییرات ژنتیکی در اپیتلیوم رخ می‌دهد و ممکن است هیچ گونه تظاهر بالینی در مخاط دهان مشاهده نگردد و در نتیجه تأخیر در تشخیص سرطان عوارض جبران ناپذیری ایجاد می‌نماید (۶). بهترین شیوه تشخیص به موقع و زودرس سرطان، غربالگری افراد است. سیتولوژی یک روش کمکی، سریع، غیرتهاجمی، ارزان و بدون نیاز به بی‌حسی در پایش طولانی مدت تغییرات ظاهری اپیتلیوم بوده و به دو روش اکس‌فولیاتیو (Exfoliative) و استفاده از برس (Brush) صورت می‌گیرد. این روش دارای حساسیت بالا بوده و

بی‌خطر جهت غربالگری است اما کاربرد روش اکسفولیاتیو به دلیل وجود پاسخ‌های مثبت و منفی کاذب غیر قابل اطمینان است (۷ - ۹). پاپانیکولائو شایع‌ترین و آسان‌ترین روش رنگ آمیزی اسمیرسیتولوژی بوده و معمولاً برای بررسی تغییرات بدخیم کردن رحم استفاده می‌شود (۱۰). سیتومورفومتری عبارت است از تعیین ویژگی‌های یک سلول از نظر اندازه هسته، اندازه سیتوپلاسم، نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم، بررسی آنپلوئیدی یا دیپلوئیدی هسته که تصاویری از اسلاید میکروسکوپی توسط دوربین متصل به میکروسکوپ گرفته شده و با نرم افزارهای مخصوص این نواحی اندازه‌گیری می‌شود (۱۱). به نظر می‌رسد مخاط دهان افراد سیگاری و قلیانی جهت تغییرات بدخیم مستعدتر بوده و احتمال ایجاد تغییرات بدخیم در نواحی مختلف دهان متفاوت است (۲). اکثر مطالعات انجام شده در افراد سیگاری تنها ویژگی‌های بافتی را بررسی کرده و کمتر خصوصیات سلولی را مورد ارزیابی قرار داده‌اند (۱۰). با توجه به نتایج ضد و نقیض موجود در مطالعات مختلف در زمینه ارزیابی تغییرات کمی سیتومورفومتری مخاط دهان افراد مصرف‌کننده سیگار، کوکائین، الکل ... (۱۲ - ۱۳) و از آن جایی که تا به حال مطالعه‌ای در این زمینه در افراد قلیانی صورت نگرفته، لذا هدف مطالعه حاضر ارزیابی کمی و کیفی سیتومورفومتری اسمیرهای تهیه شده در نواحی مختلف مخاط سالم زبان، کف دهان و مخاط باکال افراد سیگاری و قلیانی و مقایسه آن با افراد سالم (غیر سیگاری و غیر قلیانی) می‌باشد (۱۲ - ۱۴).

روش کار

در این مطالعه کوهورت گذشته نگر در مجموع ۴۰ فرد سیگاری، ۴۰ نفر قلیانی و ۴۰ فرد سالم (غیرسیگاری و غیر قلیانی) سالم به روش (غیرتصادفی آسان) انتخاب شدند. افراد سیگاری و قلیانی از قهوه‌خانه‌ها و مراکز تفریحی در مطالعه وارد شدند. تنها ۲ نفر سیگاری مربوط به دانشجویان دندانپزشکی خوابگاهی بودند. افراد سالم نیز از دانشجویان خوابگاه پسرانه دانشگاه علوم

پزشکی در مطالعه شرکت کردند. همه افراد مذکور بوده و از نظر سنی و جنسی با یکدیگر یکسان شدند. جهت افزایش دقت مطالعه محدوده سنی افراد بین ۲۰-۴۰ سال در نظر گرفته شد. افرادی در مطالعه شرکت کردند که ابتلاء به بیماری سیستمیک نداشته و الکل مصرف نمی‌کردند و فاقد پروتز متحرک بودند. آن دسته از افراد که در محیط خانواده و کار در معرض دود سیگار بودند، از مطالعه خارج شدند. سیگاری‌ها افرادی بودند که در روز بین ۱۰ تا ۴۰ نخ سیگار استفاده کرده و مدت استعمال سیگار آن‌ها از ۶ تا ۱۵ سال بود (۱۵). افراد سالم هم افرادی بودند که هرگز در گذشته از سیگار و یا قلیان استفاده نکرده بودند. بنابراین افرادی که در گذشته سیگار و یا قلیان استفاده کردند، در این مطالعه مورد بررسی قرار نگرفتند. در مورد افراد قلیانی، افرادی در نظر گرفته شدند که به مدت ۳-۵ سال سابقه استفاده از قلیان داشته و یک تا دو بار در هفته و به مدت ۲۰-۸۰ دقیقه قلیان استفاده می‌کردند (۱۶). در ابتدا هدف از مطالعه برای افراد شرکت‌کننده توضیح داده شد. پس از کسب رضایت کتبی و تکمیل پرسشنامه، گرفتن تاریخچه سیستمیک و معاینات بالینی مخاط دهان انجام شد. همچنین تعداد مصرف سیگار، میزان استفاده از قلیان و طول مدت مصرف آن از افراد پرسیده شده و در پرسشنامه ثبت گردید. سپس از افراد خواسته شد تا قبل از تهیه اسمیرهای سیتولوژی، دهان خود را با سرم فیزیولوژی شست و شو دهند. نواحی مورد نظر توسط یک قطعه گاز استریل خشک شد تا از رنگ شدن مواد موکوییدی بزاق و باقی مانده ذرات غذایی حین رنگ آمیزی اسلایدها اجتناب شود. پس از بررسی نواحی مورد نظر اسمیر توسط برس سیتولوژی (Cytobrush) یکبار مصرف ساخت شرکت پادتن طب به صورت جداگانه از سه ناحیه آناتومیک کف دهان در سمت راست، قدام کنار زبان در سمت راست و قدام مجرای استنسون (Stenson duct) در مخاط گونه سمت راست صورت گرفت. روش کار به این صورت بود که برس سیتولوژی در محل مورد نظر در تماس با اپیتلیوم دهان قرار گرفت و با فشار ثابت و متوسط ۱۰-۱۷ مرتبه چرخانده می‌شد، سپس برس مربوط

فیلد میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر از نظر ویژگی های هسته دولوبه یا چند لوبه بودن، کاریورکسی، و اکوتولیزاسیون سیتوپلاسم در نواحی مخاط باکال، زبان و کف دهان افراد سیگاری، قلیانی و سالم بررسی گردید و میانگین نتایج به صورت درصد مطرح و در سه گروه مقایسه شد. از نظر وجود التهاب و کاندیدا اسلایدهای سیتولوژی در افراد سیگاری، قلیانی و سالم بررسی شده و وجود یا عدم وجود التهاب و کاندیدا ثبت شده سپس نتایج به صورت درصد (تعداد) اسلایدهای سیتولوژی که دارای التهاب یا کاندیدا بودند به کل تعداد اسلایدها در هر گروه (۴۰ مورد) گزارش شد.

آنالیزهای آماری

نتایج نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ شده و مقایسه بین سه گروه با آنالیزهای آماری انجام شد. جهت مقایسه میانگین اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و Ferret ratio در افراد سیگاری و قلیانی و سالم در سه ناحیه مخاط باکال، کف دهان و زبان از آنالیز آماری Repeated measure ANOVA و مقایسه چند گانه Tukey استفاده گردید.

یافته های بالینی

در این تحقیق مجموعاً ۱۲۰ نفر شرکت کردند که شامل ۴۰ نفر سیگاری، ۴۰ نفر قلیانی و ۴۰ فرد سالم (گروه کنترل) بود. میانگین سنی افراد سیگاری (۳۲/۶۹ ± ۵/۳)، قلیانی (۳۰/۶ ± ۲/۱۵) و گروه کنترل (سالم) به ترتیب (۳۰/۵ ± ۳/۸۳) بود. اختلاف آماری معنی داری از نظر سنی بین سه گروه دیده نشد (p= ۰/۱). کلیه افراد شرکت کننده مذکر بودند.

یافته های سیتومورفومتری

بیشترین اندازه هسته و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم، Ferret ratio و کمترین اندازه سیتوپلاسم به ترتیب در افراد سیگاری، قلیانی و نرمال در مخاط باکال (سمت راست) دیده شد (p < ۰/۰۰۱) (جدول ۱).

بیشترین اندازه هسته، نسبت اندازه هسته به

به ناحیه آناتومیکی خود بر روی اسلاید شیشه‌ای خشک و تمیزی که از قبل شماره گذاری شده بود، گسترده می‌شد و بلافاصله سلول های موجود در سطح توسط اسپری Pothofix (حاوی اتانول ۹۵٪) ساخت شرکت پادتن طب) در فاصله ۲۵ سانتی متری و با حداکثر ۲ بار فشار اسپری ثابت می‌شد و سپس اسلایدها شماره گذاری می‌شدند. شماره مربوط به هر فرد روی اسلاید نوشته شده و توسط شماره پرسشنامه قابل شناسایی بود. اسمیرهای ثابت شده حداکثر ۳ روز بعد با روش پاپانیکولائو رنگ آمیزی شدند. نمونه های سیتولوژی به ترتیب در درجات مختلف الکل غلیظ به رقیق ۹۰ درجه، ۷۰ درجه، ۵۰ درجه و سپس در آب مقطر غوطه ور شده، بعد از آن در رنگ همتوکسیلین به مدت ۵-۱۰ دقیقه قرار گرفته و در آب مقطر و اسید الکل ۰/۵ درصد و بعداً در معرض آب مقطر و کرینات لیتیوم قرار داده شده و دوباره در آب مقطر و الکل ۵۰، ۷۰، ۹۰ درجه شسته شده و به مدت یک دقیقه در محلول اورانژ (Orange Solution) الکل ۹۵ درجه، الکل مطلق و گزلیل قرار گرفتند و با چسب و لامل پوشیده شدند. جهت ارزیابی کمی سیتومورفومتری از کامپیوتر متصل به دوربین و نرم افزار فتوشاپ و از نوع سیستم آنالیز Motic Micro-optic industrial Groupco. plus2 (LTD) استفاده شد و عکس برداری از اسلایدها با بزرگنمایی 100 برابر با میکروسکوپ نوری Olympus (Bx41) ساخت ژاپن انجام شد. در هر اسلاید به طور متوسط ۵۰ سلول با رنگ پذیری شدید انتخاب شدند. جهت جلوگیری از اشتباه در حین اندازه گیری، شمارش نمونه های سلولی به صورت حرکت میکروسکوپ از چپ به راست سپس به بالا و پایین صورت گرفت. بعد از آن تعیین متوسط اندازه هسته، سیتوپلاسم هر سلول، نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و Ferret ratio (نسبت بزرگترین به کوچکترین قطر هسته) تعیین شد. نتایج بر حسب میکرومتر مربع (Mm²) گزارش گردید.

ارزیابی کیفی سیتومورفومتری

در هر اسلاید سیتولوژی به تعداد ۵۰ سلول در سه

جدول ۱- میانگین اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و Ferret ratio (نسبت قطر بزرگ به کوچک هسته) در افراد سیگاری، قلیانی و سالم در مخاط باکال (سمت راست)

گروه ها	اندازه هسته	اندازه سیتوپلاسم	نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم	نسبت قطر بزرگ به کوچک هسته (F.R)
سیگاری	$398/598 \pm 2236/2$	$1001/4 \pm 51969/7$	$0/41 \pm 0/003$	$1/73 \pm 0/02$
قلیانی	$328/621 \pm 2366/1$	$10011/05 \pm 73504/7$	$0/32 \pm 0/002$	$1/33 \pm 0/02$
سالم	$247/560 \pm 11731/5$	$10101/1 \pm 70686/7$	$0/24 \pm 0/001$	$1/08 \pm 0/09$

$p < 0/001$

جدول ۲- میانگین اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و نسبت قطر بزرگ به کوچک هسته (F.R) در افراد سیگاری، قلیانی و سالم در ناحیه طرفی زبان (سمت راست)

گروه ها	اندازه هسته	اندازه سیتوپلاسم	نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم	نسبت قطر بزرگ به کوچک هسته (F.R)
سیگاری	$399/897 \pm 205/6$	$9467/231 \pm 48293/7$	$0/42 \pm 0/001$	$1/81 \pm 0/02$
قلیانی	$364/849 \pm 201/7$	$10271/2 \pm 51640/2$	$0/35 \pm 0/004$	$1/42 \pm 0/02$
سالم	$261/597 \pm 155/8$	$10926/5 \pm 60746/11$	$0/24 \pm 0/002$	$1/14 \pm 0/02$

جدول ۳- میانگین اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و نسبت قطر بزرگ به کوچک هسته (F.R) در افراد سیگاری، قلیانی و سالم در ناحیه کف دهان (سمت راست).

گروه ها	اندازه هسته	اندازه سیتوپلاسم	نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم	نسبت قطر بزرگ به کوچک هسته (F.R)
سیگاری	$384/251 \pm 293/2$	$9984/1 \pm 7576/4$	$0/38 \pm 0/009$	$1/6 \pm 0/04$
قلیانی	$314/476 \pm 180/5$	$10012/1 \pm 59165/2$	$0/31 \pm 0/008$	$1/2 \pm 0/03$
سالم	$247/324 \pm 114/5$	$10028/1 \pm 68976/4$	$0/24 \pm 0/007$	$1/01 \pm 0/01$

اعداد روی جداول ۱-۳، میانگین \pm انحراف معیار. در هر ستون حروف متفاوت به نشانه وجود اختلاف معنی دار در سطح $\alpha=0.05$ می باشد.

هسته (Ferret ratio) در اسمیرسیتولوژی افراد سیگاری، قلیانی و سالم به ترتیب در زبان، مخاط باکال و کف دهان دیده شد.

ویژگی های کیفی سیتومورفومتری

اختلاف آماری معنی داری از نظر درصد کاربورکسی، تعداد (درصد) هسته دو یا چند لوبوله و اوکئولیزاسیون سیتوپلاسم بین سه گروه سیگاری، قلیانی و سالم در نواحی مخاط باکال ($p=0/8$)، زبان و کف دهان وجود نداشت ($p=0/9$).

وجود التهاب در افراد گروه سیگاری و قلیانی در نواحی زبان، کف دهان و مخاط باکال بیشتر از افراد سالم بوده ($p < 0/001$). وجود کاندیدا در نواحی زبان و کف دهان و مخاط باکال افراد سیگاری و قلیانی بیشتر سالم وجود داشت ($p_2=0/002$) ($p_1 < 0/001$) (تصاویر ۱-۲ و جدول ۴)

بحث و نتیجه گیری

براساس نتایج پژوهش حاضر به نظر می رسد که

سیتوپلاسم و Ferret ratio و کمترین اندازه سیتوپلاسم در افراد سیگاری، قلیانی و سالم در ناحیه طرفی زبان مشاهده شد ($p < 0/001$) (جدول ۲).

بیشترین اندازه هسته و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و Ferret ratio و کمترین اندازه سیتوپلاسم به ترتیب در افراد سیگاری، قلیانی و افراد نرمال در ناحیه کف دهان دیده شد ($p < 0/001$) (جدول ۳).

تأثیر محل بر اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و نسبت قطر بزرگ به کوچک هسته (F.R) در افراد سیگاری، قلیانی و سالم: اختلاف آماری معنی داری در اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و نسبت قطر بزرگ به کوچک هسته در نواحی زبان، کف دهان و مخاط باکال در افراد سیگاری وجود داشت ($p < 0/001$).

بیشترین اندازه هسته، نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و نسبت قطر بزرگ به کوچک

جدول ۴- مقایسه وضعیت هسته (تعداد هسته دو لوبه یا چند لوبه و کاریورکسی)، واکوئولیزاسیون سیتوپلاسم، وجود التهاب، کاندیدا در اسمیر سیتولوژی مخاط دهانی سالم

گروه ها	محل تهیه اسمیر	هسته دو لوبه یا چند لوبه	کاریورکسی	واکوئولیزاسیون سیتوپلاسم	التهاب	کاندیدا
۱ سیگاری	مخاط باکال	%۴۲/۹	%۴۲/۱	%۳۰/۸	^c %۹۰	^b %۷۵
	زبان	%۴۶/۷	%۴۰/۹	%۳۶	^c %۱۰۰	^b %۱۰۰
	کف دهان	%۴۶/۷	%۳۷/۵	%۳۲	^c %۸۵	^b %۸۷/۵
۲ قلیانی	مخاط باکال	%۳۵/۷	%۳۶/۲	%۴۲/۳	^b %۷۰	^b %۸۰
	زبان	%۳۳/۳	%۳۱/۸	%۴۴	^b %۱۰۰	^b %۱۰۰
۳ سالم	کف دهان	%۳۳/۳	%۳۳/۳	%۴۰	^b %۱۰۰	^a %۱۰۰
	مخاط باکال	%۲۱/۴	%۳۱/۶	%۲۶/۹	^a %۴۵	^a %۴۵
	زبان	%۲۰	%۲۷/۳	%۲۰	^a %۷۷/۵	^a %۷۷/۵
	کف دهان	%۲۰	%۲۹/۲	%۲۸	^a %۷۷/۵	^b %۷۷/۵

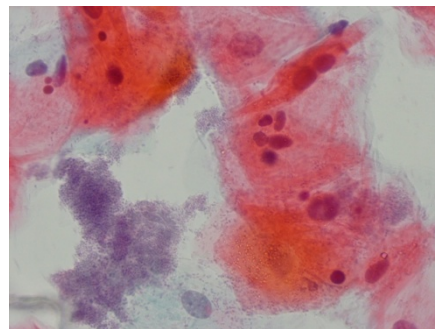
سیگاری ها و مصرف کنندگان قلیان مشابه مطرح می کنند و محققان دیگر اثر قلیان روی مخاط دهان را بیشتر از سیگار گزارش می کنند (۳، ۴، ۱۷ و ۱۸). به نظر می رسد نوع قلیان، سن، جنس و تعداد افراد مورد مطالعه حتی معیار در نظر گرفته شده برای ورود افراد قلیانی به مطالعه، می تواند برنتایج حاصل از تحقیق مؤثر باشد.

در تحقیق دیگری نیز در مخاط باکال مصرف کنندگان تنباکوی جویدنی تغییرات سیتومورفومتریکی شامل افزایش اندازه هسته، نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و کاهش اندازه سیتوپلاسم در مقایسه با گروه کنترل گزارش شد نتایج مطالعه فوق بیانگر ارتباط تنباکوی جویدنی با ایجاد تغییرات سیتومورفومتریکی مخاط دهان است (۱۲).

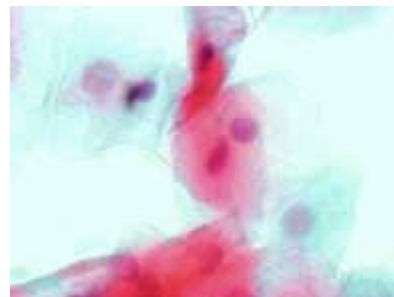
در پژوهشی افزایش اندازه هسته بدون تغییر در اندازه سیتوپلاسم در سیگاری ها نسبت به گروه کنترل مطرح شد (۱۹). هیلمن نیز افزایش اندازه هسته و سیتوپلاسم را در مصرف کنندگان تنباکوی دودکردنی بیان نمود (۲۰). نتایج مطالعه مذکور از نظر تغییرات کمی سیتومورفومتریکی ایجاد شده، مؤید نتایج تحقیق مورد اشاره اول است اما تفاوت هایی با نتایج سایرین دارد (۱۲، ۱۹ و ۲۰).

در مطالعه حاضر افزایش اندازه هسته، در افراد قلیانی و سیگاری نسبت به گروه سالم دیده می شود. به نظر می رسد که افزایش اندازه هسته ناشی از افزایش محتویات DNA هسته به دنبال آسیب وارده به سلول های اپی تلیالی می باشد. استفاده از سیگار و قلیان منجر می شود که سلول های مخاط دهان به

بیشترین اندازه هسته، نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم و نسبت قطر بزرگ به کوچک هسته (F.R) و کمترین اندازه سیتوپلاسم به ترتیب در افراد سیگاری، قلیانی و سالم مشاهده گردید. اینگونه میتوان بیان کرد که سیگار و قلیان در ایجاد تغییرات کمی سیتومورفومتریکی مخاط دهان مؤثرند، اما تأثیر سیگار در این زمینه بیشتر از قلیان است. برخی از مطالعات ریسک ایجاد سرطان را در



تصویر ۱- نمونه سیتولوژی در کف دهان فرد سیگاری- هسته چند لوبه و ارتشاح آماسی، رنگ آمیزی پاپانیکولاو (۱۰۰X)



تصویر ۲- نمونه سیتولوژی مخاط باکال فرد قلیانی، هسته دو لوبه رنگ آمیزی پاپانیکولاو (۱۰۰X)

در پژوهشی در مخاط باکال و زبان افراد الکلی افزایش کاربورکسی (Karyorhexis)، پیکنوز (Pyknose) و کاربولیز (Karyolysis) در زبان الکلی‌ها نسبت به گروه سالم گزارش شد (۱۴). در مطالعه مذکور اگرچه کاربورکسی و هسته دو یا چند لوبه در سیگاری‌ها بیشتر از قلیانی‌ها و افراد نرمال بود، اما اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. در ارتباط با واکنش‌های سیتوپلاسمی بیشترین درصد در افراد قلیانی و سپس سیگاری و سالم دیده شد، اما اختلاف معنی‌دار یا ز نظر آماری وجود نداشت. نتایج مطالعه مذکور در بررسی کیفی اسمیرهای سیتولوژی افراد سیگاری، قلیانی و سالم متفاوت از نتایج مطالعه ریس است (۱۴).

کاهش در اندازه سیتوپلاسم در مخاط دهان افراد سیگاری و قلیانی نسبت به سالم در تحقیق حاضر مشاهده می‌گردد که شاید به دلیل دهیدراتاسیون ایجاد شده در مخاط دهان این افراد باشد و به نوعی تطابق سلولی در برابر کمبود مایعات به ویژه بزاق در محیط اطراف سلول است.

در این مطالعه تعیین ویژگی‌های کمی سیتومورفومتری در نواحی مختلف مخاط دهان افراد سالم تعیین شد که به عنوان پایه‌ای جهت بررسی تغییرات سیتومورفومتری در شرایط بیماری و یا استفاده از عوامل آسیب‌رسان به مخاط دهان مانند الکل، تنباکو، کوکائین و قلیان است.

برخی از محققان معتقدند که جنسیت به دلیل تأثیر هورمون‌های جنسی زنانه بر نتایج حاصل از تحقیق سیتومورفومتری مخاط دهان مؤثر است (۲۸ و ۲۹). در مطالعه حاضر تنها افراد مذکر وارد مطالعه شده و از نظر سنی نیز با یکدیگر یکسان سازی شدند.

سؤال این است که آیا محل نمونه برداری اسمیرسیتولوژی مخاط دهان بر روی تغییرات کمی سیتومورفومتری مؤثر است؟

در این مطالعه از سه ناحیه مخاط باکال، زبان و کف دهان در افراد سالم، سیگاری و قلیانی اسمیرتهیه شده است. در افراد سالم، سیگاری و قلیانی اندازه هسته، سیتوپلاسم و نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در زبان بیشتر از مخاط باکال و کف دهان بود. به عبارت دیگر محل تهیه اسمیر می‌تواند

دلیل افزایش استرس سلولی وارده سریعتر به مرحله پیری برسند. سلولهای اپیتلیالی مخاط دهان دارای بازده کاهش یافته بوده، مدت زمان بیشتری در سیکل سلولی باقیمانده و دیرتر تقسیم می‌شوند، در نتیجه پروتئین ساخته شده در هسته به دلیل کند شدن روند تقسیم سلولی دیرتر تقسیم شده و اندازه هسته افزایش می‌یابد، اما در ادامه روند پیری به دلیل تخریب دستگاه گلژیوریکولوم‌اندوپلاسمی، کاهش اندازه هسته و سیتوپلاسم در سلولهای پیر رخ می‌دهد (۲۱). در تحقیق آنودراها، کاهش اندازه هسته و سیتوپلاسم و کاهش نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در افراد بالای ۶۰ سال گزارش شده است (۲۲).

التهاب از عوامل مؤثر بر اندازه هسته و سیتوپلاسم به ویژه در اسمیرتهیه‌شده از سلول‌های جوان است و منجر به افزایش اندازه هسته و کاهش اندازه سیتوپلاسم می‌گردد ولی به عنوان وضعیت غیر طبیعی (Atypia) سلولی در نظر گرفته نمی‌شود (۲ و ۲۳).

در بررسی نتایج مطالعه حاضر، التهاب در مخاط دهان افراد سیگاری و قلیانی بیشتر از حد طبیعی بوده است و از آنجایی که التهاب منجر به افزایش نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم می‌گردد، بنابراین در ایجاد تغییرات سیتومورفومتری مخاط دهان در افراد سیگاری و قلیانی مؤثر است در پژوهشی میزان التهاب در مخاط دهان افراد سیگاری بیشتر از غیر سیگاری گزارش شد (۲۴). فونتسنیزالتهاب‌رادر ۹۰٪ سیگاری‌ها و ۸۷٪ غیر سیگاری‌ها بیان کرد (۲۵) که موارد بالا با نتایج مطالعه ما از نظر وجود التهاب در سیگاری‌ها، قلیانی‌ها و افراد سالم همخوانی دارد.

برخی از مطالعات عقیده دارند که استعمال طولانی مدت سیگار تغییری در میزان جریان بزاق افراد سیگاری ایجاد نمی‌کند و محققان دیگر کاهش جریان بزاق، افزایش عفونتهای فرصت طلب و افزایش پوسیدگی دندان، ژنوبیوت، جرم و بوی بد دهان و لقی دندان را از عوارض کشیدن سیگار مطرح می‌کنند (۲۶ و ۲۷). در تحقیق حاضر علاوه بر التهاب، شیوع عوامل فرصت طلب مانند کاندیدا در مخاط دهان افراد سیگاری و قلیانی بیشتر از افراد سالم گزارش شده است.

منابع

1. Usta U, Berberoglu U, Helvaci E, Altaner S, Sut N, Ozdemir G. Evaluation of cytological alterations in normal-appearing oral mucosal epithelia of smokers and non smokers via AgNOR count and nuclear morphometry. *Trakya Univ Tip Fak Derg.* 2008; 25(2): 110-160.
2. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Oral and Maxillo-facial pathology*, 3th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2009: 409-11, 419-21.
3. Maziak W, Eissenberg T, Ward KD. Pattern of waterpipe use and dependence: Implications for intervention development: *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 2005; 80(1): 173-19.
4. Shafagoj YA, Mohammed FI. Levels of maximum end- expiratory carbon monoxide and certain cardiovascular parameters flowing hubble-bubble smoking. *Saudi medical J.* 2002; 23(8): 953-58.
5. Kinshkowsky B, Amitai Y. Water pipe (narghile) smoking: an emerging health risk behavior. *Pediatrics.* 2005; 776(1):113-119.
6. Regezi JA, Sciubba JJ. *Oral pathology*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders; 2008. P 48-57.
7. Sugarman PB, Savage NW. Exfoliative cytology in clinical Oral pathology. *Aust Dent J.* 1998; 41(2): 71-4.
8. Remmerbach TW, Weidenbach H, Muller C, Hemprich A, Pomjanski N, Buckstegge B. Diagnosis value of nuclear organizer regions (Ag NoRS) in brush biopsies of suspicious lesion of the oral cavity. *Anal Cell Pathol.* 2003; 25(3): 139-45.
9. Cowson R A, Odell EW. *Oral pathology and medicine*. 6 th ed. Churchill kingstone; 2002: PP 7-9, 252-3.
10. Cancado RP, Yurgel LS, Filho MS. Comparative analysis between the smoking habit frequency and the nucleolar organizer region associated proteins in exfoliative cytology of smokers normal buccal mucosa. *Tob Induc Dis.* 2004; 2(1): 43-49.
11. Einstein TB, Sivapatha sundharm B.

بر نتایج کمی سیتومورفومتری سلول‌های اپیتلیالی مخاط دهان مؤثر باشد. به نظر می‌رسد که زبان نسبت به مخاط باکال و کف دهان بیشتر در معرض عوامل کار سینوزن ناشی از دود سیگار و قلیان باشد (۲ و ۶). افزایش نسبت اندازه هسته به سیتوپلاسم در ناحیه زبان به نوعی تأیید کننده نتایج مطالعاتی است که شایع‌ترین محل کار سینوم سلولس نگفرشی را در ناحیه زبان گزارش کرده اند (۲ و ۶).

در مطالعه کنونی افزایش اندازه قطر بزرگ به قطر کوچک هسته و به عبارتی Ferret ratio در افراد سیگاری نسبت به قلیانی و سالم وجود داشت که در این مورد مطابق با نتایج تحقیق گرگن است (۳۰). Ferret ratio بیانگر شکل هسته است. با توجه به بیشتر بودن اندازه F.R در سیگاری‌ها نسبت به قلیانی‌ها و افراد سالم شکل هسته در آنها بیضوی‌تر است.

به نظر می‌رسد که مهم‌ترین دلیل تفاوت در نتایج مطالعات مختلف عدم وجود روش اختصاصی جهت بررسی اسمیرهای سیتولوژی است. همچنین تعداد افراد شرکت کننده، سن، جنس و محل تهیه اسمیر سیتولوژی، زمان گرفتن اسمیر تا رنگ آمیزی پاپانیکولاو، نوع ماده فیکساتیو (Fixative) و مدت زمان فیکس کردن و نوع نرم افزار به کار رفته جهت بررسی اسمیر سیتولوژی، همگی می‌توانند بر نتایج پژوهش مؤثر باشند.

سیگار و قلیان در ایجاد تغییرات کمی سیتومورفومتری مخاط دهان مؤثرند، اما تأثیر سیگار در این زمینه بیشتر از قلیان است. کاندیدا و التهاب به ترتیب در سیگاری‌ها و قلیانی‌ها بیشتر از افراد سالم بود.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی و پایان نامه آقای بهرنگ احمدی در رشته دندان پزشکی در مقطع دکتری به راهنمایی خانم دکتر صفورا سیفی و مشاوره آقای دکتر محمد مهدی زاده در سال ۱۳۹۰ و کد ۴۷۰ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی بابل اجرا شده است. بدینوسیله از حمایت‌های مادی و معنوی معاونت پژوهشی آن دانشگاه تقدیر می‌شود.

Basic pathology. 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2007. 6: 195-97.

22. Anuradha A, Sivapathundharam B. Image analysis of normal exfoliated gingival cells. *Indian J Dent Res.* 2007; 18(5): 63-66.

23. Prasad H, Ramesh V, Balamurale I. Morphologic and cytomorphometric analysis of exfoliated buccal mucosal cells in diabetes patients. *Cytology.* 2010; 27(4): 113-116.

24. Zuabi O, Machtei EE, Ben-Aryeh H, Ardekian L, Peled M, Laufer D. The effect of smoking and periodontal treatment on salivary composition in patients with established periodontitis. *J Periodontol.* 1999; 70(10):1240-6.

25. Fontes PC, Correa GH, Issa JS, Brando AA, Almeida JD. Comparison of exfoliative papstain and AgNOR counts of the tongue in smokers and non smokers. *Head and Neck Pathol.* 2008; 2(3): 157-62.

26. Khan GJ, Javab M, Ishaq M. Effect of smoking on salivary flow rate. *Gomal J Medical Sciences.* 2010; 8(2): 221-24.

27. Rad M, Kakoie SH, Brojeni FN, Pourdanghan N. Effect of Long-term smoking on whole mouth salivary flow rate and Oral health. *Dental Research, Dental Clinics, Dental prospects.* 2010; 4(4): 110-14.

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

29. Mascarenhas P, Gapski R, Al, Shammari K, Wang HL. Influence of sex hormones on the Periodontium. *J Clin Periodontal.* 2003; 30(8): 671-81.

30. Goregen M, Akgal HM, Gundogdu G. The cytomorphological analysis of buccal mucosa cells in smokers. *Turk J Med Sci.* 2011; 41(3): 205-10.

Cytomorphometric analyses of the buccal mucosa of tobacco users. *Indian J Dent Res.* 2005; 16(2): 42-6.

12. Hande KH, Chaudhary MS. Cytomorphometric analysis mucosa of tobacco chewers. *Romanian J of morphology and embergology.* 2010; 51(3): 527-32.

13. Woyceichoski IEC, Arrada E, Reswnde LG, Machado MAN, Gregio AMT, Azevedo LR. Cytomorphometric analysis of crack cocaine on the Oral mucosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 105(6): 745-49.

14. Reis SRDA, Santo ARDE, Andrade MGS, Sadigursky M. Cytologic alteration in the oral mucosa after chronic exposure to ethanole. *Braz Oral Res.* 2006; 20(2): 97-102.

15. Lena P, Bergstorm J, Gustaffan H, Gustafson A. Tobacco smoking and neutrophil activity in patients with periodontal disease. *J Periodntal* 2001; 72(1): 90-95.

16. Carranza, FA, Newman MG, Takei H, Klokkevold PR. Carranza's clinical periodontology. 11th ed Elsevier. Saunders CO; 2012: 299-300.

17. Nuwayhid IA, Yamout B, Azar G, Kambris MA. Narghile (hubble – bubble) smoking. Low birth weight and other pregnancy outcomes. *American J of Epidemiology.* 1998; 148(4): 375-83.

18. Shihadeh A, Azar S, Antonios C, Haddad A. Towards a topographical model of narghile water – pipe cafe smoking: a pilot study in a high socioeconomic status neighborhood of beirut, Lebanon. *Pharmacol Biochem Behav.* 2004; 79(1): 55-82.

19. Ogdan GR, Cowpe JG, Gren MW. Quantitative exfoliative cytology of normal buccal mucosa: effect of smoking. *J Oral pathol Med.* 1990; 19(2): 53-5.

20. Hilman RW, Kissin B. Oral cytologic patterns in relation to smoking habits. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1976; 42(3): 366-74.

21. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL.

Comparison of cytomorphometry changes in oral mucosa of smoker and hookah users

***Safoura Seifi**, MD, Assistant professor of oral and maxillofacial pathology, Department of oral and maxillofacial pathology, Faculty of Dentistry, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran (*Corresponding Author). sf_seify@yahoo.com

Farideh Feizi, MD, Assistant professor of Histology, Department of Histology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. f_feizi@yahoo.com

Mohammad Mehdizadeh, MD, Assistant professor of oral and maxillofacial surgery, Department of oral and maxillofacial surgery, Faculty of Dentistry, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. m.mehdizadeh@yahoo.com

Soraya Khafri, MD, Assistant professor of Social Medicine, Department of Epidemiology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. khafri@yahoo.com

Behrang Ahmadi, DDS, Faculty of Dentistry, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran. behrang-ahmadi@yahoo.com

Abstract

Background: Oral mucosa of cigarette and hookah users is more susceptible for malignant changes, so the purpose of this study is to assess the impact of cigarette and hookah on morphometry features of oral mucosa.

Methods: In this Historical Cohort study, Cytological smears prepared from three regions of oral mucosa (Buccal mucosa, lateral border of tongue and floor of the mouth) in 40 smokers, 40 hookah users, 40 non-smoker and non-hookah users were stained by Papanicolaou method. A quantitative and qualitative change in cytology smears was evaluated in each slide. Quantitative evaluation of 50 cells per slide was performed with Motic Plus2 software. Practitioners were matched with age and sex.

Results: Increased nuclear size, nuclear to cytoplasmic ratio, Ferret ratio, reduced size of cytoplasm was observed in cigarette users, hookah users, non-smokers and non hookah users respectively ($p < 0.001$). No Significant difference in karyorrhexis, multilobed nuclei and cytoplasmic vacuolization in buccal mucosa, tongue and floor of the mouth of cigarette, hookah users ($p = 0.8$) and non smoker-non hookah users was seen. ($p = 0.9$) but inflammation ($p < 0/001$) and candidiasis ($p = 0/002$) were more in smokers and hookah users than non smoker and non hookah users respectively.

Conclusions: Cigarette and hookah are effective in cyto-morphometric changes of oral mucosa, but in this area, The effect of cigarette is more than hookah.

Keywords: Cigarette, Hookah, Cytomorphometric, Cytology, Oral mucosa