ORIGINAL ARTICLE

Comparing Endothelin A Receptor Expression in Dysplasia and Oral Squamous Cell Carcinoma

Mahdieh Rajabi-Moghaddam[1],
Hamid Abbaszadeh[2],
Hemmat Gholinia[3]

[1] Pathologist, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[3] MSc in Statistics, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

(Received January 6, 2017 ; Accepted March 7, 2018)

Abstract

Background and purpose: Endothelin axis (endothelin or ET) including endothelin A receptor (ET_A) play a major role as the regulator of vessels tone and tissue differentiation and development. There are evidences of the importance of endothelin axis in carcinogenesis. No data exists about comparison of ET_A expression between dysplasia and oral squamous cell carcinoma (OSCC). So, the aim of this study was to compare immunohistochemical expression of ET_A between these two groups.

Materials and methods: In this cross-sectional study, the paraffin-embedded tissue blocks of 20 cases of dysplastic oral mucosa and 21 cases of OSCCs were investigated. Three micron sections were prepared from tissue blocks and stained with ET_A antibody using immunohistochemistry. Percentage of stained cells and staining intensity were compared between the groups applying Mann-Whitney and Chi-Square tests.

Results: In dysplasia group, 11 cases stained for ET_A while in OSCC group all cases stained. Comparison of percentage of stained cells and their semi quantitative classification showed significant differences between the two groups (P=0.02 and P=0.005, respectively) such that ET_A expression was higher in OSCC than dysplasia. Staining intensity for ET_A was significantly higher in OSCC group (P=0.006). There were significant differences between ET_A expression in mild and moderate dysplasia with carcinoma.

Conclusion: Our results support the role of ET_A receptor in progression of dysplasia toward OSCC.

Keywords: squamous cell carcinoma, dysplasia, endothelin A receptor

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (165): 47-56 (Persian).

* **Corresponding Author: Hamid Abbaszadeh** - Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran (E-mail: hamidabbaszade@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هشتم شماره ۱۶۵ مهر سال ۱۳۹۷ (۵۶-۴۷)

مقایسه ی بیان گیرنده اندوتلین A در دیسپلازی و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان

مهدیه رجبی مقدم[۱]
حمید عباس زاده[۲]
همت قلی نیا[۳]

چکیده

سابقه و هدف: محور اندوتلین (Endothelin یا ET) شامل گیرنده اندوتلین A (ET_A)، نقش مهمی به عنوان تنظیم‌کننده تونوسیته عروق و تمایز بافتی ایفا می‌نماید. شواهدی از اهمیت محور اندوتلین در کارسینوژنز وجود دارد. هیچ‌گونه اطلاعاتی در رابطه با مقایسه بیان ET_A بین دیسپلازی و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان موجود نیست. بنابراین هدف از مطالعه حاضر مقایسه بیان ایمونوهیستوشیمیایی ET_A بین این دو گروه بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، جامعه مورد مطالعه شامل بلوک های بافتی پارافینه ۲۰ مورد دیسپلازی و ۲۱ مورد کارسینوم سلول سنگفرشی دهان بود. مقاطع سه میکرونی از بلوک‌ها تهیه و به روش ایمونوهیستوشیمی با آنتی‌بادی ET_A رنگ‌آمیزی شدند. درصد سلول‌های رنگ گرفته و شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها بین دو گروه با استفاده از آزمون‌های آماری من ویتنی و کای اسکوار در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ مقایسه شد.

یافته‌ها: در گروه دیسپلازی، ۱۱ نمونه برای ET_A رنگ گرفتند و در گروه کارسینوم تمامی نمونه‌ها رنگ رفتند. مقایسه درصد سلول‌های رنگ گرفته و طبقه‌بندی نیمه کمی آن تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه نشان داد (به ترتیب $p=۰/۰۲$ و $p=۰/۰۰۵$)، به گونه‌ای که بیان ET_A در کارسینوم بیش‌تر از دیسپلازی بود. شدت رنگ‌پذیری ET_A در گروه کارسینوم به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از دیسپلازی بود ($p=۰/۰۰۶$). تفاوت معنی‌داری بین بیان ET_A در دیسپلازی خفیف و متوسط با کارسینوم وجود داشت.

استنتاج: یافته‌های ما حاکی از نقش گیرنده ET_A در پیشرفت دیسپلازی به سمت کارسینوم سلول سنگفرشی دهان است.

واژه های کلیدی: کارسینوم سلول سنگفرشی، دیسپلازی، گیرنده اندوتلین A

مقدمه

دیسپلازی دهان یک وضعیت پیش بدخیم نسبتاً شایع و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان (Oral squamous cell carcinoma یا OSCC)، شایع‌ترین بدخیمی حفره دهان است(۱). در حفره دهان، ۱۰ تا ۲۰ درصد ضایعات دیسپلاستیک به سمت کارسینوم سلول سنگفرشی دهان پیشرفت می‌کنند. تغییرات بدخیم مخاط دهان احتمالاً توسط موتاسیون ژن‌های دخیل در تنظیم رشد سلولی ایجاد می‌شود که منجر به عدم تنظیم

مولف مسئول: حمید عباس زاده- بیرجند: دانشکده دندانپزشکی بیرجند E-mail: hamidabbaszade@yahoo.com
۱. پاتولوژیست، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
۲. استادیار، گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
۳. کارشناس ارشدآمار، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۶/۱۰۱/۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :۱۳۹۶/۱۰/۱۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۶/۱۲/۱۶

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

پروتئینی و در نتیجه افزایش پرولیفراسیون سلولی، کراتینیزاسیون غیر طبیعی، دیسپلازی اپی تلیالی، افزایش قدرت حرکت سلولی، آنژیوژنز و در نهایت تهاجم بافتی و متاستاز می‌شود(۲،۱). محور اندوتلین (Endothelin یا ET) شامل سه ایزوفرم ET-1، ET-2، ET-3 و گیرنده‌های ET، یعنی گیرنده اندوتلین A (ET_A) و گیرنده اندوتلین B (ET_B)، نقش فیزیولوژیک مهمی به عنوان تنظیم‌کننده تونوسیته عروق، تکامل و تمایز بافتی، پرولیفراسیون سلولی و تولید هورمون ایفا می‌نماید(۴،۳). تحقیقات اخیر شواهدی از اهمیت محور اندوتلین در کانسرها فراهم کرده‌اند(۶-۴). مطالعات حاضر بیانگر بروز بالای ET_A و ET_B در کانسرهای ریه، کولون و پوست می باشند(۳). محور اندوتلین، رشد و پیشرفت طیفی از تومورها همچون کارسینوماهای پروستات، تخمدان، کلیه، ریه، سرویکس، پستان، ریه، مثانه، اندومتر، سارکوم کاپوزی، تومورهای مغز و ملانوم را نیز تحریک می‌نماید(۲). اجزاء سیستم اندوتلین می‌توانند از طریق مکانیسم‌های مستقیم و غیر مستقیم به رشد و پیشرفت تومورهاکمک کنند(۲). به نظر می‌رسد که اثرات مستقیم اجزاء سیستم اندوتلین در سلول‌های نئوپلاستیک عمدتاً به واسطه اثر بر پرولیفراسیون، مهاجرت، تهاجم و مقاومت به آپوپتوز است، در حالی که مکانیسم اثرات غیرمستقیم احتمالاً مرتبط با توانایی آن در تنظیم کینازهای مختلف دخیل در پرولیفراسیون سلولی، بقاء، آنژیوژنزیس، تغییر اپی‌تلیال به مزانشیمال، تهاجم و تحرک سلولی می‌باشد. از دیگر اثرات غیر مستقیم در کانسرها می‌توان به رسوب و ریمودلینگ ماتریکس خارج سلولی اشاره نمود. به نظر می‌رسد که اجزاء سیستم اندوتلین بتوانند از طریق القاء فاکتورهای آنژیوژنیک همچون فاکتور رشد اندوتلیال عروق و در نتیجه تحریک آنژیوژنز، به صورت غیر مستقیم به متاستاز تومور کمک نماید(۲). حضور آنتاگونیست‌های گیرنده ET_A، به عنوان یک فرصت درمانی جدید در کانسرها مطرح است(۴). بر اساس مطالعات موجود، هیچ‌گونه اطلاعاتی در رابطه با مقایسه بیان پروتئین گیرنده اندوتلین A بین دیسپلازی دهان و OSCC و نقش این گیرنده در پیشرفت از دیسپلازی به سمت کارسینوم دهانی موجود نیست. بنابراین هدف از مطالعه حاضر، مقایسه بیان ایمونوهیستوشیمیایی گیرنده اندوتلین A (ET_A) بین مخاط دیسپلاستیک و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان بود.

مواد و روش ها

در این مطالعه گذشته‌نگر مقطعی، جامعه مورد مطالعه شامل ۲۰ مورد مخاط دهانی دیسپلاستیک (مشتمل بر ۸ مورد دیسپلازی خفیف، ۷ مورد دیسپلازی متوسط و ۵ مورد دیسپلازی شدید) و ۲۱ مورد کارسینوم سلول سنگفرشی دهان بود که از بلوک‌های پارافینه مربوط به سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۸۴ از آرشیو بخش پاتولوژی بیمارستان طالقانی دانشگاه علوم پزشکی بابل و بخش پاتولوژی بیمارستان طالقانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران استخراج شدند. حجم نمونه بر اساس مطالعات مشابه(۸،۳،۲) تعیین گردید. دیسپلازیها، عموماً ضایعات لکوپلاکیایی در بالین بودند که پس از انجام بیوپسی و بررسی هیستوپاتولوژیک، حضور دیسپلازی در آن‌ها به تایید رسیده بود. دیسپلازی‌هایی که قبل از انجام بیوپسی، درمان دیگری دریافت کرده بودند و نیز OSCC هایی که درمان کموتراپی یا رادیوتراپی قبل از جراحی دریافت کرده بودند یا ضایعاتی که حاصل عود دیسپلازی یا OSCC بودند، از مطالعه خارج می‌گردیدند. بلوک‌های بافتی فاقد بافت کافی جهت مطالعه یا با فیکساسیون یا کیفیت نامناسب نیز از مطالعه خارج گردیدند. بیوپسی‌های اکسیژنال از ضایعات در مطالعه وارد گردیدند(۲). مقاطع سه میکرونی از بلوک ها تهیه و به روش ایمونوهیستوشیمی با آنتی بادی ET_A (NovocastraTM Liquid Mouse Monoclonal Antibody Endothelin-1 Receptor (ET_A); Leica Biosystems, Newcastle, United Kingdom, Product Code: NCL-L-ETA, Clone: RJT24, Ig Class: IgG2b)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع داکتال کارسینوم breast برای کنترل مثبت استفاده شد و کنترل منفی با حذف آنتی‌بادی اولیه صورت گرفت(۲). لام‌های رنگ‌آمیزی شده توسط پاتولوژیست با میکروسکوپ نوری Olympus CX21 (Olympus corporation,Tokyo,Japan) با بزرگنمایی ۱۰۰× و ۴۰۰× مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بررسی درصد سلول‌های رنگ شده(۷) و شدت رنگ پذیری سلول‌ها(۸) برای مارکر ET_A مورد توجه بود. رنگ پذیری سیتوپلاسمیک برای نشانگر، مثبت در نظر گرفته شد(۸).

در گروه OSCC، در بررسی میکروسکوپیک با بزرگنمایی ۱۰۰×، پنج فیلد به عنوان hot spot (فیلدهایی که در آن‌ها سلول‌های تومورال بیش‌ترین رنگ‌پذیری را داشته باشند)، انتخاب و در این فیلدها درصد سلول‌های رنگ گرفته با بزرگنمایی ۴۰۰× محاسبه شدند. از پنج ناحیه انتخاب شده برای هر نمونه میانگین گرفته می شد و به عنوان میانگین درصد سلول‌های رنگ گرفته برای آن نمونه به ثبت می‌رسید. در مورد نمونه‌های دیسپلازی، انتخاب hot spot ها ومحاسبه درصد سلول‌های رنگ‌گرفته در اپی‌تلیوم نمونه انجام می‌گرفت. درصد سلول‌های رنگ شده به‌طور نیمه کمی به صورت زیر طبقه‌بندی شدند:

منفی (در صورت رنگ گرفتن کم‌تر یا مساوی ۲۵ درصد سلول‌های ضایعه)، مثبت ضعیف (در صورت رنگ گرفتن ۲۶ تا ۵۰ درصد سلول‌های ضایعه)، مثبت (در صورت رنگ گرفتن ۵۱ تا ۷۵ درصد سلول‌های ضایعه) و قویاً مثبت (در صورت رنگ گرفتن بیش‌تر از ۷۵ درصد سلول‌های ضایعه)(۷). شدت رنگ پذیری سیتوپلاسمیک سلول‌های تومورال و مخاط دیسپلاستیک نیز به صورت نیمه کمی به چهار گروه طبقه‌بندی شد: منفی (score 0): عدم رنگ‌پذیری؛ مثبت ضعیف (score 1+): رنگ‌پذیری سیتوپلاسمیک ضعیف/به زحمت قابل احساس در اکثریت سلول‌ها یا رنگ‌پذیری قهوه‌ای کمرنگ؛ مثبت متوسط (score 2+): رنگ‌پذیری سیتوپلاسمیک متوسط در اکثریت سلول‌ها یا رنگ‌پذیری قهوه‌ای بلوطی و مثبت قوی (score 3+): رنگ‌پذیری سیتوپلاسمیک قوی اکثریت سلول‌ها یا رنگ‌پذیری قهوه‌ای سوخته(۸).

در نهایت داده‌ها وارد نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ شدند و درصد سلول‌های رنگ گرفته و شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها برای نشانگر بین دو گروه مورد مطالعه با استفاده از آزمون‌های آماری من ویتنی و کای اسکوار مورد مقایسه قرار گرفت. سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

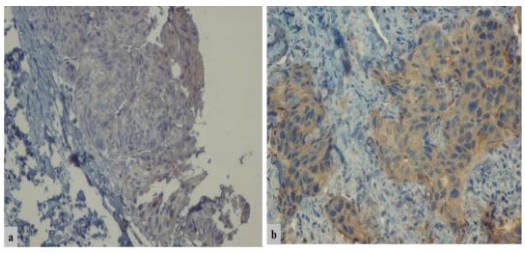
تاییدیه اخلاقی

این پژوهش به تصویب کمیته اخلاق دانشگاه با کد اخلاق REC.1396.156 رسیده است.

یافته ها

میانگین سنی بیماران دارای ضایعات دیسپلاستیک مخاط دهان ۵۵ سال بود. ۶ نمونه (۳۰ درصد) مربوط به خانم‌ها و ۱۳ نمونه (۷۰ درصد) مربوط به آقایان بود. محل ضایعات دیسپلاستیک شامل زبان (۱۱ مورد)، لب (۳ مورد)، کف دهان (۳ مورد)، مخاط باکال (۲ مورد) و لثه (۱ مورد) بود. میانگین سنی بیماران دارای کارسینوم سلول سنگفرشی دهان ۶۵ سال بود. ۷ نمونه (۳۳/۳ درصد) مربوط به خانم‌ها و ۱۴ نمونه (۶۶/۷ درصد) مربوط به آقایان بود. محل OSCC ها زبان (۱۳ مورد)، کف دهان (۴ مورد)، لثه (۲ مورد) و مخاط باکال (۲ مورد) بود.

تصویر شماره ۱، بیان گیرنده اندوتلین A در نمونه‌های دیسپلازی و کارسینوم سلول سنگفرشی را نشان می‌دهد.



تصویر شماره ۱: a) رنگ پذیری با شدت متوسط گیرنده اندوتلین A در مخاط دیسپلاستیک دهان (بزرگنمایی ۱۰۰×)؛ b) رنگ پذیری با شدت متوسط گیرنده اندوتلین A در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان (بزرگنمایی ۱۰۰×) ؛

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

میانگین ± انحراف معیار درصد سلول‌های رنگ گرفته برای گیرنده اندوتلین A (ET_A) در گروه دیسپلازی و گروه کارسینوم سلول سنگفرشی دهان به ترتیب برابر با ۰/۴±۰/۴۳ و ۰/۲±۰/۷۴ بود. میانگین ± انحراف معیار درصد سلول های رنگ گرفته برای گیرنده اندوتلین A (ET_A) در سه نوع دیسپلازی خفیف، متوسط و شدید به ترتیب برابر با ۰/۱۳±۰/۰۵، ۰/۲۶±۰/۳۷ و ۰/۱۵±۰/۸۳ بود. نتیجه آزمون من ویتنی نشان داد که بین گروه دیسپلازی و گروه کارسینوم سلول سنگفرشی دهان به لحاظ میانگین درصد سلول‌های رنگ گرفته، تفاوت آماری معناداری وجود دارد ($p =<۰/۰۵$) و میانگین درصد سلول رنگ گرفته در گروه کارسینوم سلول سنگفرشی دهان به‌طور معنی‌داری از گروه دیسپلازی بیش‌تر بود. نتایج همین آزمون نشان داد که بین گروه دیسپلازی خفیف و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان و بین گروه دیسپلازی متوسط و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان به لحاظ میانگین درصد سلول‌های رنگ گرفته، تفاوت آماری معناداری وجود دارد (در هردو مورد $p <۰/۰۰۱$) و میانگین درصد سلول رنگ گرفته در گروه کارسینوم سلول سنگفرشی دهان به‌طور معنی‌داری ازگروه دیسپلازی خفیف و متوسط بیش‌تر بود، در حالی که بین گروه دیسپلازی شدید و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان به لحاظ میانگین درصد سلول‌های رنگ گرفته، تفاوت آماری معناداری وجود نداشت (در هردو مورد $p >۰/۰۵$). تمامی نمونه‌های کارسینوم سلول سنگفرشی دهان برای گیرنده اندوتلین A (ET_A) رنگ گرفتند و ۹ نمونه از نمونه‌های مخاط دیسپلاستیک برای این مارکر رنگ نگرفتند. نتیجه آزمون کای اسکوار نشان داد که به لحاظ طبقه‌بندی نیمه کمی، درصد سلول‌های رنگ گرفته نیز تفاوت آماری معنی‌داری بین دوگروه دیسپلازی و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان وجود دارد ($p<۰/۰۵$) (جدول شماره ۱).

در گروه دیسپلازی خفیف به لحاظ طبقه‌بندی نیمه کمی درصد سلول‌های رنگ گرفته برای گیرنده اندوتلین A، ۷ مورد رنگ نگرفتند و یک مورد دارای رنگ پذیری مثبت ضعیف بود. در حالی که در گروه دیسپلازی متوسط، ۲ مورد رنگ نگرفته، ۲ مورد دارای رنگ‌پذیری مثبت ضعیف و ۳ مورد دارای رنگ‌پذیری مثبت بودند ودر گروه دیسپلازی شدید، یک مورد دارای رنگ‌پذیری مثبت و ۴ مورد دارای رنگ‌پذیری قویاً مثبت بودند. نتیجه آزمون کای اسکوار نشان داد که به لحاظ طبقه بندی نیمه کمی، درصد سلول‌های رنگ گرفته، تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه دیسپلازی خفیف و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان و بین گروه دیسپلازی متوسط و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان وجود دارد (به ترتیب $p <۰/۰۰۱$ و $p =۰/۰۱$)، به گونه‌ای که در نمونه‌های کارسینوم، درصد رنگ‌پذیری بالاتری در مقایسه با دیسپلازی خفیف و متوسط نشان دادند؛ تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه دیسپلازی شدید و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان وجود نداشت ($p =۰/۸$). جدول شماره ۲ طبقه‌بندی شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها برای گیرنده اندوتلین A (ET_A) را نشان می‌دهد. با توجه به نتیجه آزمون کای اسکوار، به لحاظ شدت رنگ‌پذیری نیز تفاوت آماری معنی‌داری بین مخاط دیسپلاستیک دهان و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان مشاهده شد ($p <۰/۰۵$).

جدول شماره ۱: مقایسه دسته بندی درصد سلول های رنگ گرفته برای گیرنده اندوتلین A در گروه های مورد مطالعه

درصد سلول های رنگ گرفته / گروه		دسته بندی درصد سلول های رنگ گرفته: منفی	مثبت ضعیف	مثبت	قویا مثبت	سطح معنی‌داری
کارسینوم سلول سنگفرشی	تعداد	۰	۴	۶	۱۱	۰/۰۰۵
	درصد	۰	۱۹	۲۸/۶	۵۲/۴	
دیسپلازی	تعداد	۹	۳	۴	۴	
	درصد	۴۵	۱۵	۲۰	۲۰	

جدول شماره ۲: مقایسه دسته بندی شدت رنگ پذیری سلول ها برای گیرنده اندوتلین A در گروه های مورد مطالعه

شدت رنگ پذیری / گروه		دسته بندی شدت رنگ پذیری سلول ها: منفی	مثبت ضعیف	مثبت متوسط	مثبت قوی	سطح معنی داری
کارسینوم سلول سنگفرشی	تعداد	۰	۱۲	۸	۱	۰/۰۰۶
	درصد	۰	۵۷/۱	۳۸/۱	۴/۸	
دیسپلازی	تعداد	۹	۷	۳	۱	
	درصد	۴۵	۳۵	۱۵	۵	

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

نمونه‌های کارسینوم سلول سنگفرشی دهان دارای شدت رنگ‌پذیری بیش‌تری نسبت به نمونه‌های مخاط دیسپلاستیک بودند. در گروه دیسپلازی خفیف، ۷ مورد رنگ نگرفتند و یک مورد دارای شدت رنگ‌پذیری مثبت ضعیف بود. در گروه دیسپلازی متوسط، ۲ مورد رنگ نگرفتند، ۴ مورد دارای شدت رنگ پذیری مثبت ضعیف ویک مورد دارای شدت‌رنگ‌پذیری مثبت متوسط بودند. در گروه دیسپلازی شدید، ۲ مورد دارای شدت رنگ‌پذیری مثبت ضعیف، ۲ مورد دارای شدت رنگ‌پذیری مثبت متوسط و یک مورد دارای شدت رنگ‌پذیری مثبت قوی بودند. با توجه به نتیجه آزمون کای اسکوار، به لحاظ شدت رنگ پذیری تفاوت آماری معنی‌داری بین دیسپلازی خفیف و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان مشاهده شد ($p<۰/۰۰۱$)، به گونه‌ای که نمونه‌های کارسینوم سلول سنگفرشی دهان دارای شدت رنگ‌پذیری بیش‌تری نسبت به نمونه‌های دیسپلازی خفیف بودند. اما از این لحاظ، تفاوت آماری معنی‌داری بین دیسپلازی متوسط و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان و بین دیسپلازی شدید و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان مشاهده نشد (به‌ترتیب $p =۰/۱۱$ و $p =۰/۴۳$).

بحث

با توجه به نقش ET_A در کارسینوژنز بدخیمی‌های سایر نواحی بدن، مطالعه حاضر با هدف مقایسه بیان این گیرنده در دیسپلازی و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان صورت پذیرفت تا اهمیت بیان آن را درپیشرفت دیسپلازی و ایجاد کارسینوم در حفره دهان بررسی نماییم. در مطالعه ما، بین گروه دیسپلازی و گروه کارسینوم سلول سنگفرشی دهان به لحاظ میانگین درصد سلول‌های رنگ گرفته و نیز طبقه بندی نیمه کمی درصد سلول‌های رنگ گرفته برای گیرنده اندوتلین A (ET_A)، تفاوت آماری معناداری وجود داشت و میانگین درصد سلول رنگ گرفته در گروه کارسینوم سلول سنگفرشی دهان به‌طور معنی‌داری از گروه دیسپلازی بیش‌تر بود که نشان دهنده این است که گیرنده اندوتلین A (ET_A) احتمالا در پیشرفت دیسپلازی به سمت کارسینوم سلول سنگفرشی و ایجاد کانسر در حفره دهان دخیل است. هم‌چنین نتایج مطالعه ما نشان داد که به لحاظ طبقه‌بندی نیمه کمی درصد سلول‌های رنگ گرفته، بین گروه دیسپلازی خفیف و متوسط و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان، تفاوت آماری معنی‌داری وجود دارد، به گونه‌ای که نمونه‌های کارسینوم، درصد رنگ‌پذیری بالاتری در مقایسه با دیسپلازی خفیف و متوسط نشان دادند؛ این در حالی بود که تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه دیسپلازی شدید و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان وجود نداشت. این یافته حاکی از آن است که بیان گیرنده اندوتلین A در دیسپلازی خفیف و متوسط پایین بوده و هرچه به سمت دیسپلازی شدید و کارسینوم پیش می‌رویم، بیان آن بیش‌تر شده و می‌تواند حاکی از دخالت این پروتئین گیرنده در پیشرفت از دیسپلازی خفیف به سمت دیسپلازی شدید و کارسینوم باشد.

در مطالعه ما به لحاظ شدت رنگ پذیری برای گیرنده اندوتلین A (ET_A) نیز تفاوت آماری معنی داری بین مخاط دیسپلاستیک دهان و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان مشاهده شد که باز هم موید وجود نقش برای گیرنده اندوتلین A (ET_A) در پیشرفت دیسپلازی به سمت کارسینوم سلول سنگفرشی دهان و ایجاد کانسر در حفره دهان می باشد و حاکی از این است که افزایش بروز گیرنده اندوتلین A (ET_A) در کارسینوم سلول سنگفرشی نسبت به مخاط دیسپلاستیک هم به صورت افزایش در درصد رنگ‌پذیری سلول‌ها و هم به صورت افزایش در شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها برای این نشانگر خود را نشان می‌دهد.

Ishibashi و همکاران(۹) در مطالعه‌ای بررسی نمودند که آیا بروز پروتئین اندوتلین در کارسینوم سلول سنگفرشی مری، بافت دیسپلاستیک و مخاط نرمال مجاور می‌تواند یک فاکتور پروگنوستیک باشدیا نه. در مطالعه آن‌ها میزان رنگ‌پذیری بالای اندوتلین در مخاط

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

نرمال مجاور تومور با تهاجم به عروق لنفاوی، متاستاز به لنف نود ناحیه ای، متاستاز دور دست و نیز کاهش بقای بدون عود مرتبط بود. بروز بالای اندوتلین در بافت دیسپلاستیک با عود بالاتر تومور همراه بود. آن‌ها دریافتند که بیان بالای پروتئین اندوتلین، مستقل از دیگر فاکتورهای پروگنوستیک هیستولوژیک و بالینی، بقای بدون عود را در بیماران مبتلا به SCC مری کاهش می‌دهد. آن‌ها نتیجه‌گیری نمودند که علاوه بر ریسک فاکتورهای هیستولوژیک شناخته شده و معیارهای طبقه بندی TNM، اندازه‌گیری بروز اندوتلین با یک آنالیز ایمونوهیستوشیمی ساده ممکن است به پیش بینی پروگنوز بیماران مبتلا به SCC مری کمک بیش‌تری نماید.

Awano و همکاران(۱۰) در مطالعه‌ای، محور اندوتلین را در سلول‌های کارسینوم سلول سنگفرشی دهانی انسان بررسی نمودند. آن‌ها بروز اندوتلین-۱ (ET-1)، رسپتور اندوتلین-A (ET_AR)، رسپتور اندوتلین B - (ET_BR) و تمامی ایزوفرم‌های آنزیم تبدیل‌کننده اندوتلین-۱ (*ECE-1*) را در سلول‌های SCC دهان مشاهده نمودند، اما تنها بروز *ET-1*، ETBR و ECE-1 در مقایسه با کراتینوسیت‌های اپیدرمال نرمال انسان افزایش داشتند. ET-1 به تنهایی پرولیفراسیون سلول‌های SCC دهان را تحریک نمود. آنتاگونیست‌های ETAR و ETBR پرولیفراسیون با واسطه ET-1 را مهار نمودند. کاهش بروز ECE-1 بعد از مواجهه با siRNA ECE، از پرولیفراسیون سلول SCC کاست. هم‌چنین اثر آنتی‌پرولیفراتیو توسط مهار کردن فعالیت ECE با مهارکننده اختصاصی (*ECE-i*) ECE مشاهده شد. آن‌ها نتیجه‌گیری نمودند که تنظیم سیستم اندوتلین در سلول‌های SCC دهان ممکن است یک پروتکل درمانی جدید برای کانسر دهان فراهم کند.

Pickering و همکاران(۱۱) در مطالعه ای، اندوتلین-۱ بزاقی را در بیماران مبتلا به SCC دهان و نیز اندوتلین-۱ و mRNA اندوتلین-۱ را در نمونه‌های بافتی SCC دهان و اپی‌تلیوم نرمال دهان اندازه‌گیری نمودند. در مطالعه آن‌ها سطح اندوتلین-۱ بزاقی به‌طور معنی‌داری در گروه SCC دهان نسبت به گروه کنترل بالاتر بود. در اندازه‌گیری اندوتلین-۱ بر روی بافت‌های SCC دهانی تازه به روش ELISA، سطح اندوتلین-۱ نسبت به نمونه‌های کنترل نرمال بالاتر بود. mRNA اندوتلین-۱ به‌طور معنی‌داری در ۸ مورد از ده نمونه SCC دهان بیش از حد بروز یافت. در رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی، رنگ‌پذیری سیتوپلاسمیک هموژن قوی برای اندوتلین-۱ در سلول‌های کارسینوم سلول سنگفرشی در تمامی مقاطع تومورال مشاهده شد. یافته‌های آن‌ها نشان‌دهنده بروز بیش از حد mRNA اندوتلین-۱ و افزایش بیان پروتئین اندوتلین-۱ در نمونه‌های SCC دهان و نیز افزایش معنی دار سطح اندوتلین-۱ بزاقی در بیماران مبتلا به کانسر دهان نسبت به گروه کنترل نرمال بود.

Hinsley و همکاران (۱۲) در مطالعه ای بر روی رده‌های سلولی (cell lines) کارسینوم سلول سنگفرشی سروگردن و فیبروبلاست‌های دهانی، توانایی اندوتلین-۱ (ET-1) برای تاثیر گذاری بر قدرت حرکت سلول‌های SCC سر و گردن را بررسی نمودند. آن‌ها مشاهده نمودند که اندوتلین-۱، مهاجرت سلول‌های SCC سر و گردن را در محیط کشت به صورت پاراکرین افزایش می‌دهد، بدین طریق که آزادسازی لیگاندهای EGFR را از فیبروبلاست‌های دهانی با واسطه‌گری ADAM17 تحریک می‌کند که متعاقباً EGFR را بر روی سلول‌های کانسر فعال می‌نماید. هم‌چنین آن‌ها نقشی برای این مسیر در تحریک بیان COX-2 (به عنوان یک نشانگر پروگنوستیک منفی در SCC سر و گردن) شناسایی نمودند. آن‌ها نتیجه‌گیری نمودند که فعال شدن محور اندوتلین در SCC سر و گردن ممکن است به پیشرفت بیماری توسط تحریک قدرت حرکت سلول کانسر از طریق افزایش واکنش های متقابل اپی‌تلیال-استرومال کمک کند. مطالعه ما نیز از نقش گیرنده اندوتلین *A* (به عنوان بخشی از محور اندوتلین) در پیشرفت مخاط دهان به سمت دیسپلازی و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

حمایت می‌کند و به نوعی در هماهنگی با یافته‌های مطالعه آن‌ها قرار دارد.

Ishimoto و همکاران(۳) در مطالعه‌ای، نقش مسیر سیگنال‌دهی گیرنده اندوتلین را در کارسینوم سلول سنگفرشی زبان با استفاده از رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی ارزیابی نمودند. آن‌ها دریافتند که هر دوگیرنده اندوتلین ET_A و ET_B در سلول‌های تومورال نمونه‌های کانسر زبان بیش از حد بروز می‌یابند. هم‌چنین ET_A و ET_B در رده‌های سلولی کارسینوم سلول سنگفرشی (SCC cell lines) کشت داده شده زبان و مری بیان شدند. در زمان مواجهه هر دو رده سلولی کشت داده شده با آنتاگونیست انتخابی ET_A(BQ123) یا یک آنتاگونیست انتخابی ET_B (BQ788)، مهار رشد سلولی مشاهده شد. یافته‌های مشابهی در زمان مواجهه رده‌های سلولی SCC با siRNA اختصاصی برای سرکوب ET_A و ET_B حاصل شد. به علاوه مهار مسیر فعال شده میتوژن پروتئین کیناز (MAP kinase) توسط درمان با آنتاگونیست‌های گیرنده اندوتلین و siRNA مشاهده گردید. آن‌ها نتیجه‌گیری نمودند که مسیر سیگنال‌دهی اندوتلین ممکن است تا حدودی نقش مهمی در رشد سلولی در SCC از طریق مسیر MAP کیناز ایفا نماید.

Alaizari و همکاران(۲) در مطالعه‌ای، بیان ایمونوهیستوشیمیایی و توزیع پروتئین اندوتلین-۱ را در کارسینوم سلول سنگفرشی دهانی (OSCC) ارزیابی و رابطه بیان اندوتلین-۱ را با درجه تمایز هیستوپاتولوژیک و نیز وضعیت متاستاز ناحیه‌ای کارسینوم سلول سنگفرشی دهان بررسی نمودند. ایمونوراکتیویتی در تمامی نمونه‌های مورد مطالعه مشاهده شد. در مقایسه مقادیر دانسیته نوری برای بروز اندوتلین-۱ در درجات تمایز هیستوپاتولوژیک متفاوت کارسینوم سلول سنگفرشی دهانی، OSCC های با تمایز ضعیف(Poorly differentiated) به‌طور معنی‌داری بیان بیش‌تری را نسبت به OSCC های با تمایز متوسط (moderately differentiated) نشان دادند که خود به‌طور معنی‌داری بیان بیش‌تری نسبت به OSCC های خوب تمایز یافته (well-differentiated) داشتند. به علاوه بروز اندوتلین-۱ در OSCC های متاستاتیک نسبت به OSCC های غیر متاستاتیک بالاتر بود. آن‌ها نتیجه‌گیری نمودند که افزایش بروز اندوتلین-۱ می‌تواند رفتار تهاجمی OSCC با تمایز ضعیف (Poorly differentiated)، خصوصاً متاستاز را افزایش دهد و بنابراین اندوتلین-۱ می‌تواند یک هدف (target) درمانی در OSCC باشد. نتایج حاصل از مطالعه ما نیز به نوعی با یافته‌های مطالعه آن‌ها همخوانی دارد، چرا که در مطالعه ما نیز افزایش بروز گیرنده اندوتلین A (به عنوان بخشی از محور اندوتلین) در تمام نمونه‌های کارسینوم سلول سنگفرشی مشاهده شد.

Salem و همکاران(۸) در مطالعه‌ای، بیان ایمونوهیستوشیمیایی اندوتلین ۱ را در پسوریازیس، کارسینوم سلول بازال و کارسینوم سلول سنگفرشی پوست ارزیابی نمودند. آن‌ها مشاهده نمودند که اندوتلین ۱ و گیرنده اندوتلین A در تمام بیماران مبتلا به SCC پوست و پسوریازیس، با فراوانی و درجه بالاتری نسبت به گروه شاهد و کارسینوم سلول بازال حضور داشتند. آن‌ها نتیجه‌گیری نمودند که فراوانی و درجه بالاتر بیان اندوتلین ۱ و گیرنده اندوتلین A در پسوریازیس و SCC در مقایسه با کارسینوم سلول بازال و گروه شاهد دلالت بر دخالتشان در پرولیفراسیون کراتینوسیت در هر دو بیماری می‌باشد و این که گیرنده اندوتلین A، گیرنده عمدتاً بروز یافته در پسوریازیس و SCC است.

Cong و همکاران(۱۳) در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۶، به بررسی نقش ET-1 و گیرنده هایش در مهاجرت سلولی و تهاجم هپاتوسلولار کارسینوما پرداختند. آن‌ها یافتند که گیرنده ETA به میزان زیادی در سلول‌ها و بافت‌های هپاتوسلولار کارسینوما بیان شد. بروز گیرنده ET_A و نیز بیان ET-1 با تهاجم عروقی و stage تومور در هپاتوسلولار کارسینوما مرتبط بود. فعال کردن گیرنده ET_A توسط ET-1 به صورتی وابسته به دوز، مهاجرت سلولی و تهاجم سلول‌های هپاتوسلولار کارسینوما

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

را افزایش داد. یافته‌های آن‌ها حاکی از آن بود که فعال شدن گیرنده ET_A توسط ET-1 مهاجرت سلولی و تهاجم هپاتوسلولار کارسینوما را افزایش می‌دهد و بنابراین ET_A ممکن است نقش مهمی در پیشرفت هپاتوسلولار کارسینوما بازی کند.

از جمله محدودیت های مطالعه حاضر می توان به کمبود نمونه‌های مخاط دیسپلاستیک دهان با درجه میکروسکوپیک شدید اشاره نمود. پیشنهادات ما برای مطالعات آینده شامل مواردی همچون استفاده از تعداد بیش‌تری از نمونه‌های دیسپلازی شدید، بررسی بروز گیرنده اندوتلین A با روش‌های دیگری غیر از ایمونوهیستوشیمی همانند PCR و فلوسایتومتری، بررسی تاثیر آنتاگونیست‌های گیرنده اندوتلین A بر روی ضایعات دیسپلاستیک و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان، بررسی تاثیر خاموش نمودن بیان گیرنده اندوتلین A (از طریق کاربرد SiRNA) در درمان دیسپلازی و کارسینوم سلول سنگفرشی دهان و بررسی مسیر سیگنال‌دهی بعد از فعال شدن گیرنده اندوتلین A می‌باشد. در مجموع با توجه به افزایش معنی‌دار بروز گیرنده ET_A در کارسینوم سلول سنگفرشی دهان نسبت به دیسپلازی دهانی، احتمالاً بیان بالای این گیرنده با پیشرفت از دیسپلازی به سمت کارسینوم سلول سنگفرشی دهان مرتبط می باشد.

سپاسگزاری

این مطالعه بخشی از یک طرح تحقیقاتی (کد: ۳۸۴۳) بود که از طرف دانشگاه علوم پزشکی بیرجند مورد حمایت قرارگرفت. بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند بابت حمایت از این مطالعه تشکر می‌کنیم. از بخش پاتولوژی بیمارستان طالقانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران و بالاخص سرکار خانم دکتر فروغی نیز تقدیر و تشکر می گردد.

References

1. Hoffmann RR, Yurgel LS, Campos MM. Endothelins and their receptors as biological markers for oral cancer. Oral Oncol 2010; 46(9): 644-647.
2. Alaizari NA, Abdelbary SN, Amin NR. Immunohistochemical expression of endothelin protein in oral squamous cell carcinoma. Indian J Pathol Microbiol 2013; 56(2): 151-154
3. Ishimoto S, Wada K, Tanaka N, Yamanishi T, Ishihama K, Aikawa T, et al. Role of endothelin receptor signalling in squamous cell carcinoma. Int J oncol 2012; 40(4): 1011- 1019.
4. Bagnato A, Natali PG. Endothelin receptors as novel targets in tumor therapy. J Transl Med 2004; 2(1): 16.
5. Papanikolaou S, Bravou V, Papadaki H, Gyftopoulos K. The role of the endothelin axis in promoting epithelial to mesenchymal transition and lymph node metastasis in prostate adenocarcinoma. Urol Ann 2017; 9(4): 372-379.
6. Shi L, Zhou SS, Chen WB, Xu L. Functions of endothelin-1 in apoptosis and migration in hepatocellular carcinoma. Exp Ther Med. 2017;13(6):3116-3122.
7. Wülfing P, Tio J, Kersting C, Sonntag B, Buerger H, Wülfing C, et al. Expression of endothelin-A-receptor predicts unfavourable response to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer. Br J Cancer 2004; 91(3): 434-440.
8. Salem SA, Gamal Aly D, Salah Youssef N, Moneim El-Shaer MA. Immunohistochemical assessment of endothelin-1 axis in psoriasis, basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma. G Ital Dermatol Venereol 2015; 150(3): 283-291.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]

9. Ishibashi Y, Hanyu N, Nakada K, Suzuki Y, Yamamoto T, Takahashi T, et al. Endothelin protein expression as a significant prognostic factor in oesophageal squamous cell carcinoma. Eur J Cancer 2003; 39(10): 1409-1415.
10. Awano S, Dawson LA, Hunter AR, Turner AJ, Usmani BA. Endothelin system in oral squamous carcinoma cells: Specific siRNA targeting of ECE 1 blocks cell proliferation. Int J Cancer 2006; 118(7): 1645-1652.
11. Pickering V, Jordan RC, Schmidt BL. Elevated salivary endothelin levels in oral cancer patients-a pilot study. Oral Oncol 2007; 43(1): 37-41.
12. Hinsley EE, Hunt S, Hunter KD, Whawell SA, Lambert DW. Endothelin 1 stimulates motility of head and neck squamous carcinoma cells by promoting stromal–epithelial interactions. Int J Cancer 2012; 130(1): 40-47.
13. Cong N, Li Z, Shao W, Li J, Yu S. Activation of ETA receptor by endothelin-1 induces hepatocellular carcinoma cell migration and invasion via ERK1/2 and AKT signaling pathways. J Membr Biol 2016; 249(1-2): 119-128.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-07]