

## آیا میزان پاسخگویی سرطان سلول سنگفرشی دهان نسبت به پرتوها قابل پیش بینی است؟

دکتر فرشته بقایی نائینی<sup>۱</sup>، دکتر پوریا مطهری<sup>۲</sup>

### چکیده

پیشگویی واکنش یک تومور در برابر پرتوها از اهمیت بسیاری برخوردار است و می تواند تعیین کننده روش درمان باشد. چنانچه فرد درمانگر از عدم پاسخگویی توموری نسبت به پرتو آگاه باشد، می تواند از بدو امر پرتودرمانی را از برنامه درمان بیمار حذف نموده و در نتیجه بیمار را از عوارض متعدد آن نجات دهد و از اتلاف زمان در درمان نیز جلوگیری نماید. بالعکس اگر بدانند که توموری در برابر پرتو از حساسیت زیادی برخوردار است، در بعضی موارد می تواند مبنای اصلی درمان را بر پایه پرتودرمانی بگذارد و از انجام جراحی های وسیع و طبعاً مشکل ساز جلوگیری نماید. در این مقاله برخی از عوامل مولکولی مؤثر در تعیین پاسخگویی سرطان سلول سنگفرشی دهان نسبت به پرتودرمانی مورد بررسی قرار گرفته اند و مروری بر آنها انجام شده است. همچنین تلاش گردیده عواملی که امکان کاربرد آنها در تعیین پاسخگویی سرطان سلول سنگفرشی دهان به پرتو وجود دارد، معرفی گردند.

**واژه های کلیدی:** سرطان سلول سنگفرشی دهان، پرتودرمانی، پاسخگویی به درمان

### مقدمه

پیشگویی نتیجه درمان را فراهم نمایند، دارای اهمیت بسیار زیادی است؛ چرا که با در اختیار داشتن و با اتکا به این پارامترها شاید بتوان قبل از آغاز درمان نتیجه احتمالی آن را پیش بینی کرد و بدین ترتیب از بین گزینه های موجود در اتخاذ استراتژی درمانی بهترین را انتخاب نمود<sup>(۳)</sup>.

پرتودرمانی یکی از راه های معمول در درمان OSCC (به عنوان درمان اصلی یا جانبی) است<sup>(۱)</sup> اما متأسفانه بعضی از تومورهای OSCC نسبت به پرتوها واکنشی نشان نمی دهند. نکته قابل توجه این است که اگر درمان کننده قبل از اقدام به درمان از میزان دقیق پاسخگویی تومور به پرتو آگاه باشد، می تواند رویه درمانی مناسب را در پیش گیرد و در مواردی که تومور نسبت به پرتوها حساس نیست، پرتودرمانی را تجویز ننماید و در عوض به دنبال روش های درمانی دیگر باشد؛ چرا که پافشاری بر انجام یک اقدام بی فایده نه تنها عوارض ناخوشایند و گاه خطرناکی به دنبال دارد، بلکه باعث از دست رفتن زمان و پیشرفت بیماری نیز می شود. در

سرطان سلول سنگفرشی دهان (Oral Squamous Cell Carcinoma/ OSCC) سرطان نسبتاً نادری است که متأسفانه درصد مرگ و میر بالایی دارد<sup>(۱)</sup>. پیشرفت علوم پزشکی در دهه های گذشته در زمینه های تشخیصی و درمانی، میزان مرگ و میر اغلب سرطانها را کاهش داده است اما متأسفانه میزان مرگ و میر ناشی از OSCC در ۳۰ سال گذشته تغییر چندانی نداشته است<sup>(۲)</sup>. شاید یکی از مهمترین دلایل افزایش پیش آگهی سرطانها تغییر در روش های درمانی و دستیابی به روش های کارآمدتر و بهتر بوده است و عدم تغییر پیش آگهی OSCC نشان دهنده بی تأثیر بودن تحولات در روش درمان این بیماری در افزایش طول عمر بیماران نسبت به گذشته می باشد. می توان با قطعیت ادعا نمود که دستیابی به پارامترهایی که امکان

۱- دانشیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان

۲- استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان

۳- ۱ و ۲ دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران

در نهایت صدمه آشکار غشا شوند. از آنجایی که میتوکندری‌ها مسوول انجام متابولیسم اکسیداتیو سلول هستند، صدمه به آنها می‌تواند منجر به مرگ سلول گردد. کاهش فسفریلاسیون اکسیداتیو باعث کاهش ATP و در نتیجه افزایش گلیکولیز و متعاقباً کاهش PH و گلیکوژن می‌شود. کاهش PH داخل سلولی باعث آزاد شدن آنزیم‌های لیزوزیمی (به دلیل صدمه وارده به غشا و لیزوزیم‌ها) می‌گردد. لیزوزیم‌ها دارای RNAase و DNAase، پروتئاز، فسفاتاز، گلوکورونیداز و کاتپسین هستند که آزاد شدن این آنزیم‌ها منجر به هضم آنزیمی اجزای سلولی می‌شود. همچنین کاهش ATP باعث افزایش تراکم کلسیم سیتوزول، فعال شدن پروتئازها و فسفولیپازها شده و در نتیجه تخریب غشا و سیتواسکلتون را به دنبال دارد.<sup>(۵)</sup>

۲- اکسیداسیون پروتئینی و تخریب وسیع داخل سلولی که عمدتاً ناشی از تأثیر مستقیم رادیکال‌های آزاد بر روی غشا لیزوزوم‌ها و آزاد شدن آنزیم‌های پروتئولیتیک آنها می‌باشد.<sup>(۵)</sup>

۳- تخریب DNA: که مهمترین پدیده ناشی از آسیب حاصل از پرتو است و رویدادی بسیار مهم در جریان آسیب سلولی می‌باشد.<sup>(۶)</sup>

استرس اکسیداتیو ناشی از پرتو با تأثیرگذاری بر روی اسیدهای نوکلئیک باعث ایجاد آسیب‌هایی در DNA می‌شود. در داخل سلول و در حین چرخه سلولی مکانیسم‌های متعددی وجود دارند که بر تکثیر و ترمیم DNA نظارت می‌کنند و نسبت به آسیب‌های وارد به آن حساس هستند و در صورت بروز آسیب در DNA چرخه سلولی را متوقف کرده و سلول را به سمت آپوپتوز هدایت می‌نمایند. در رأس این عوامل، مهارکننده پروتئینی به نام P53 وجود دارد که در هنگام وارد آمدن آسیب به DNA با مکانیسم ناشناخته‌ای افزایش یافته و باعث القای ژن‌هایی می‌شود که چرخه سلولی را متوقف کرده و آپوپتوز را القا می‌نمایند.<sup>(۷،۸)</sup> البته مواردی نیز وجود دارند که به نظر می‌رسد

در آنها حساسیت سلول نسبت به پرتوها به وسیله ژن‌ها و پروتئین‌هایی به غیر از P53 تنظیم می‌گردد. بنابراین پرتوتابی به صورت غیرمستقیم P53 را فعال نموده و باعث ایجاد آپوپتوز در سلول می‌گردد. به نظر می‌رسد که آپوپتوز ناشی از پرتوها نقش

نقطه مقابل هم برای تومورهایی که کاملاً نسبت به پرتوها حساس هستند، می‌توان از بدو امر مبادرت به پرتودرمانی نمود و از انجام جراحی‌های وسیع که طبعاً عوارض بسیار دارند، احتراز کرد.<sup>(۴)</sup> بنابراین تعیین عواملی که بتوان از طریق آنها واکنش تومور را پیش‌بینی کرد، از اهمیت به‌سزایی برخوردار است و جای بسی تأسف است که تعیین میزان پاسخگویی OSCC نسبت به پرتوها از طریق پارامترهای بالینی و بافت‌شناختی امکان‌پذیر نیست.<sup>(۳)</sup>

در این مقاله سعی می‌شود تا عوامل احتمالی تعیین‌کننده میزان پاسخگویی OSCC به پرتوها مورد بررسی قرار گیرند و در این راستا بدو مطالبی پیرامون تأثیر پرتوها بر سلول ارایه می‌شود.

### روند سیتوتوکسیسیته پرتو

انرژی پرتوها توانایی یونیزه کردن ماکرومولکول‌های بیولوژیک و همچنین مولکول آب را دارا می‌باشد و رادیکال‌های آزاد را به وجود می‌آورد. به دنبال واکنش رادیکال‌های آزاد با مولکول‌های بیولوژیک گوناگون (شامل پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک) انرژی آنها آزاد می‌شود که این انرژی باعث ایجاد تغییراتی در بخش‌های مختلف مولکول‌ها می‌گردد. به‌طور کلی می‌توان اثرات رادیکال‌های آزاد در فرآیند آزار سلولی را از سه بعد مورد بررسی قرار داد.

۱- تغییرات چربی غشاها و در نهایت تخریب غشاهای سلولی  
۲- اکسیداسیون اسیدهای آمینه و تخریب پروتئین‌های داخل سلولی

۳- ایجاد ضایعات در DNA.

این رادیکال‌های آزاد در مقادیر اندک سلول را به سمت آپوپتوزیس و در مقادیر بالا سلول را به سمت نکروز می‌برند و در یک Microenvironment به وسیله سیستم‌های پاک‌کننده زدوده می‌شوند و عدم وجود تعادل بین آنها و زدوده شدن آنها به وسیله سیستم‌های پاک‌کننده است که منجر به بروز استرس اکسیداتیو می‌گردد.<sup>(۵)</sup>

### جنبه‌های آزار سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو

۱- تغییرات چربی غشاها: این نوع از صدمه می‌تواند میتوکندری، غشای پلاسمایی و دیگر غشاهای سلولی را درگیر کند و این تغییرات می‌تواند منجر به از دست رفتن نفوذپذیری انتخابی غشا و

پرتو تاکید دارند. Raybound و همکارانش در سال ۱۹۹۷ نشان دادند تومورهایی که Ki-67 را بیشتر عرضه (Express) می نمایند، (یعنی قدرت تکثیر بیشتری دارند) نسبت به پرتودرمانی از حساسیت بیشتری برخوردارند.<sup>(۱۰)</sup>

در ارتباط به Ki-67 در OSCC تومورهایی که بیش از ۲۰٪ سلول هایشان با Ki-67 رنگ می گیرند، به عنوان تومورهای مثبت یا High Expression قلمداد می شوند؛ بدین ترتیب می توان گفت که J Cut off Point یا نقطه تمایز OSCC در مورد 20% Ki-67 می باشد<sup>(۱۰)</sup> در واقع در تومورهایی که Ki-67 را کمتر عرضه می نمایند (تومورهای Low-Expression یا تومورهای با قدرت تکثیر کم) تعداد بیشتری از سلولها در مرحله G0 قرار دارند و این مرحله از چرخه سلولی مرحله ای است که در آن سلول نسبت به پرتو مقاوم می باشد<sup>(۱۲)</sup>. Munck-Wikland و همکارانش نیز یافته های مشابهی را در ارتباط با PCNA در سال ۱۹۹۳ گزارش نمودند. آنها مشاهده کردند که میزان عود تومورهای با قدرت تکثیر کم (Low- Expression PCNA) پس از پرتودرمانی به مراتب بیش از تومورهای با قدرت تکثیر زیاد (High- Expression) می باشد<sup>(۱۳)</sup>. با این حال محدودیت های چندی برای استفاده از Ki-67 و PCNA وجود دارد و این مارکرها در تعیین قدرت تکثیر واقعی تومور چندان کارآمد نیستند<sup>(۱۴)</sup>.

آنالوگ های نوکلئیدی در تعیین فعالیت تکثیری از توانایی بسیار زیادی برخوردارند اما استفاده بالینی از آنها به واسطه لزوم تزریق نشانگرهای رادیواکتیو به فرد مورد آزمایش بسیار محدود و مشکل می باشد<sup>(۱۴)</sup>. استفاده از ۵- برمود کسویوریدین به عنوان عامل تعیین کننده قدرت تکثیری تومور نیز به دلیل عدم امکان استفاده بر روی بافت های فیکس شده و همچنین مشکل بودن تکنیک از محدودیت هایی برخوردار است<sup>(۱۵)</sup>.

کاربرد MRNA Insitu Hybridization هیستون H3 نیز نشان دهنده قدرت تکثیری بافتی می باشد<sup>(۱۶)</sup>. MRNA هیستون مارکری اختصاصی برای فاز S از چرخه سلولی است<sup>(۱۴)</sup> و همچنین تکنیک Insitu Hybridization دارای برتری های قابل

بسیار مهمی در مکانیسم اثر پرتودرمانی دارد<sup>(۹)</sup>. لازم به ذکر است که آسیب های وارده به DNA به وسیله پرتو همچنین می تواند سلول را مستعد بروز تغییرات بدخیمی نماید<sup>(۶)</sup>. فقدان وجود روندهای لازم در هدایت سلول به سمت آپوپتوز (مانند وجود P53 طبیعی) جزو مواردی است که احتمال بروز بدخیمی در نتیجه تماس با پرتو را افزایش می دهد؛ چرا که در این حالت سلول هایی با DNA غیرطبیعی امکان ادامه حیات دارند و می توانند فوتیپ بدخیمی را کسب کنند<sup>(۶)</sup>.

## بحث

اگرچه پرتودرمانی به عنوان روشی مؤثر در کنترل ضایعات اولیه و متاستاتیک OSCC شناخته شده است، اما در تمام انواع و اشکال OSCC کاربرد آن از ارزشی مساوی برخوردار نیست<sup>(۴)</sup>. پیشگویی میزان پاسخگویی تومور در برابر پرتو از طریق بررسی بعضی عوامل مولکولر مؤثر در زیست شناسی تومور امکان پذیر می نماید. این فاکتورها را می توان به چند گروه مختلف تقسیم نمود:

**عوامل مرتبط با فعالیت تکثیری تومور:** فعالیت تکثیری هر تومور یکی از معیارهای مهم در تعیین کینتیک تومور و رفتار زیست شناختی تومور است<sup>(۴)</sup>. تومورهای واجد قدرت تکثیر زیاد در مقابل پرتو از حساسیت بیشتری برخوردارند<sup>(۱۰)</sup>. این امر در ارتباط با بافت های واجد تکثیر زیاد (مانند مغز استخوان، مخاط گوارش و پوست) نیز صادق است<sup>(۱۰،۱۱)</sup>. برای ارزیابی میزان فعالیت تکثیری از تکنیک های مختلفی می توان استفاده نمود. اندازه گیری آنتی ژن های مرتبط با تکثیر سلولی از طریق ایمونوهیستوشیمی (Immuohistochemistry)، به کار بردن آنالوگ های نوکلئیدی، استفاده از فلوسیتومتری و به کار بردن Insitu Hybridization mRNA هیستون (H3) از جمله این تکنیک ها هستند. هر یک از تکنیک های فوق دارای مزایا و معایبی می باشند که به اختصار شرح داده خواهند شد.

آنتی ژن های مرتبط با تکثیر سلولی شامل PCNA و Ki-67 می باشند. بررسی ایمونوهیستو کیمیکال این آنتی ژن ها نشان دهنده قدرت تکثیر تومور است. مطالعات چندی بر ارزش این مارکرها (به خصوص Ki-67) در تعیین میزان حساسیت تومور نسبت به

گفت که سلول‌های غیردیپلوئید دارای کروموزوم‌هایی غیرپایدار هستند و از حساسیت کمتری در برابر پرتو برخوردار می‌باشند (۲۵،۲۶). با این حال بعضی مطالعات نتایج متفاوتی را به بار آورده‌اند و در آنها تومورهای غیردیپلوئید از حساسیت بیشتری در برابر پرتو برخوردار بوده‌اند (۲۷،۲۸).

این تفاوت شاید ناشی از اختلاف در تکنیک‌های به کار رفته و حساسیت بسیار آنها باشد و در هر صورت وجود آن ضرورت انجام مطالعات بیشتر در این زمینه و همچنین لزوم استاندارد کردن تکنیک‌های فوق را یادآور می‌شود.

**وضعیت اکسیژن‌رسانی تومور:** غلظت اکسیژن یک عامل تعیین‌کننده مهم در میزان حساسیت تومور نسبت به پرتو است. اکسیژن در ایجاد رادیکال‌های آزاد (در نتیجه تابش پرتو) نقش محوری دارد؛ بنابراین بافت‌های هیپوکسیک در برابر پرتو نسبتاً مقاوم هستند و در قیاس با بافت‌های طبیعی برای از بین بردن آنها به میزان پرتوی ۲ تا ۳ برابر بیشتر احتیاج است (۶).

Brizel و همکارانش در سال ۱۹۹۷ نشان دادند که هیپوکسی OSCC دارای رابطه معکوسی با پیش‌آگهی بوده و همچنین OSCC واجد هیپوکسی در مقابل پرتو از مقاومت بالاتری برخوردار است (۲۹). یکی از اهداف Fractionation در پرتودرمانی استفاده از امکان اکسیژن‌رسانی به مناطق هیپوکسیک تومور در خلال جلسات درمان است (۳۰). در مطالعه جالبی که توسط Fromhold و همکاران در Freiburg انجام شد، ملاحظه گردید که درمان آئمی بیماران مبتلا به OSCC که تحت درمان پرتودرمانی بودند، باعث بهبود روند درمان و افزایش پاسخ‌دهی تومور نسبت به پرتو می‌شود (۳۱).

**پروتئین‌های تنظیم‌کننده آپوپتوزیس:** همانگونه که ذکر شد، آپوپتوزیس روند اصلی پاسخ تومور در برابر پرتو می‌باشد؛ بنابراین می‌توان فرض کرد که ژن‌ها و پروتئین‌های مؤثر در آپوپتوز (به‌خصوص خانواده Bcl-2) نیز به نحوی در پاسخگویی تومور در برابر پرتو تأثیر دارند. Bcl-2 یک پروتئین ضد آپوپتوزی بوده و بروز آن مانعی در جهت آپوپتوز سلول است.

Gallo و همکارانش در سال ۱۹۹۶ نشان دادند که بروز Bcl-2 در OSCC با پاسخگویی آن در مقابل پرتو مرتبط است. آنان با

توجهی نسبت به ایمونوهیستوشیمی و فلوسیتومتری می‌باشد (۴). به همین دلیل این مارکر نمایانگر دقیقی برای تعیین میزان فعالیت تکثیر بافتی است (۴). بر مبنای مطالعه Donoff و همکارانش در سال ۱۹۹۸ بافت‌های با اندکس Labeling (Index) هیستون بالاتر (یعنی تومورهای با قدرت تکثیر زیاد) در قیاس با تومورهای با اندکس Labeling هیستون پایین‌تر نسبت به پرتو از حساسیت بیشتری برخوردار هستند و به پرتودرمانی بهتر و بیشتر پاسخ می‌دهند (۴). این محققین در مطالعه خود ایندکس Labeling هیستون یا HLI را چنین تعریف نمودند:

$$HLI = \frac{\text{تعداد سلولهای در حال تکثیر تومور (شناسایی شده به وسیله H3mRNA)}}{\text{تعداد کل سلول های تومور}}$$

و تومورهای حساس به اشعه HLI برابر با  $0.19 \pm 0.34\%$  داشتند؛ در حالیکه تومورهای مقاوم در برابر اشعه دارای HLI برابر با  $0.7/0.8 \pm 0.9\%$  بودند (۴). این محققین بر مبنای مطالعه خود نتیجه گرفتند که می‌توان از این نشانگر در تعیین استراتژی درمانی (یعنی استفاده یا عدم استفاده از پرتودرمانی) و همچنین تعیین دوز پرتو استفاده نمود (۴).

در پایان می‌توان نتیجه گرفت که تعیین قدرت تکثیری OSCC احتمالاً دارای ارزش کاربردی در پیشگویی میزان پاسخگویی تومور در برابر پرتو می‌باشد.

**وضعیت پلوئیدی تومور:** ارزش وضعیت پلوئیدی تومور در OSCC همچنان نامشخص است. بعضی مطالعات برای پلوئیدی DNA در OSCC ارزش پروگنوستیک قایلند (۱۷،۱۸،۱۹). در حالیکه مطالعاتی نیز وجود دارند که برای پلوئیدی DNA در OSCC چنین ارزشی را قایل نیستند (۲۰،۲۱). در مورد رابطه بین پلوئیدی DNA در OSCC و میزان حساسیت نسبت به پرتو نیز اختلافات زیادی در مطالعات مختلف دیده می‌شود. Monasebian و Ruskin در سال ۱۹۹۶، Fu و همکارانش در سال ۱۹۹۴ و Watter در سال ۱۹۹۱ نشان دادند که تومورهای غیردیپلوئید نسبت به پرتودرمانی مقاوم هستند (۲۲،۲۳،۲۴). در مطالعه Raybound و همکارانش در سال ۲۰۰۰ نیز نتیجه مشابهی حاصل گردید؛ بدین معنی که آنها نیز تومورهای غیردیپلوئید را نسبت به پرتودرمانی مقاوم یافتند (۱۲). به‌طور کلی شاید بتوان

نوع Wild-type (طبیعی) به یک رده سلولی OSCC مقاوم به پرتو باعث بروز حساسیت نسبت به پرتو در رده سلولی فوق می شود<sup>(۳۸)</sup>.

### نتیجه گیری

پیشگویی واکنش یک تومور در برابر پرتو از اهمیت بسیاری برخوردار بوده و تعیین کننده استراتژی و نتایج حاصل از درمان است.

مقاومت در برابر پرتو پدیده‌ای چند عاملی (Multifactorial) است که برای پیشگویی آن استفاده از چند عامل غیروابسته لازم می‌نماید. در مطالعات مختلف مشاهده شده است که پلوئیدی تومور با P53 و مارکرهای تکثیری (مانند Ki-67 و mRNA هیستون) هر یک به خودی خود دارای ارزش پیش آگاهی در تعیین میزان پاسخگویی تومور نسبت به پرتو می‌باشند. اغلب صاحب نظران بر این باورند که اگرچه این فاکتورها به تنهایی دارای ارزش پروگنوستیک هستند، اما استفاده توأم از این ۳ فاکتور (پلوئیدی، P53، Ki-67) از ارزش کاربردی بالاتری برخوردار است و می‌توان با کمک گرفتن از نتایج حاصل از بررسی این سه عامل میزان پاسخگویی تومور به پرتو را با اطمینان خاطر نسبتاً زیادی پیش‌بینی نمود و بر این مبنا استراتژی درمانی مناسب را تعیین کرد.

با وجود تمام توصیفات فوق، بررسی مولکولر سرطان‌ها و کاربرد بالینی این بررسی‌ها هنوز در ابتدای راه خود قرار دارد و شاید بشر در هزاره سوم شاهد انقلابی زیست‌شناختی باشد که تمام ابعاد زندگی او را تحت تأثیر قرار دهد.

### References

- 1- Neville B, Damm D, Allen C, Bouquot J. *Oral and Maxillofacial Pathology*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 2002: 356-66.
- 2- Allison P, Locker D, Feine J. *The role of diagnostic delays in the prognosis of oral cancer: review*. Oral Oncology 1998; 34: 161-70.
- 3- Eugene A, Myers J. *Cancer of the Head and*

بررسی ۷۱ مورد مشاهده کردند تومورهایی که Bcl-2 را عرضه (Express) می‌نمایند نسبت به پرتودرمانی از مقاومت بیشتری برخوردار هستند<sup>(۳۲)</sup>.

**P53**: پروتئین سرکوب کننده تومور P53 با روندی که شرح داده شد، در پاسخ‌دهی تومور نسبت به پرتو نقش ایفا می‌کند که مطالعات متعددی بر نقش P53 در این امر تاکید داشته‌اند. Raybound و همکارانش در سال‌های ۱۹۹۷ و ۲۰۰۰ و Hedgo و همکارانش در سال ۱۹۹۸ و Gallo و همکارانش در سال ۱۹۹۶ نشان دادند که بروز تغییرات در ژن P53 یک عامل مهم و قوی در پیشگویی مقاومت تومور نسبت به پرتو است<sup>(۱۰،۱۲،۳۳،۳۴)</sup>.

در مطالعات مختلف Cut Off Point عرضه (Express) پروتئین P53 در ۱۰٪ OSCC سلول‌های تومور به دست آمده است. به این ترتیب تومورهایی که بیش از ۱۰٪ سلول‌هایشان این پروتئین را عرضه می‌نمایند، در قیاس با تومورهایی که کمتر از ۱۰٪ سلول‌هایشان این پروتئین را عرضه می‌کنند از مقاومت بیشتری در مقابل پرتو برخوردارند<sup>(۱۲،۳۳)</sup>.

با این حال در بعضی مطالعات نتایج متفاوتی با نتایج فوق کسب شده است. Tan و Ogdan در سال ۱۹۹۷ و Wilson و همکارانش در سال ۱۹۹۵ رابطه‌ای بین عرضه P53 و میزان پاسخ‌گویی نسبت به پرتو در OSCC نیافتند<sup>(۳۵،۳۶)</sup>. تفاوت نتایج حاصله شاید به دلیل تفاوت‌های تکنیکی باشد<sup>(۳۷)</sup>. لذا برای اثبات واقعیت موضوع انجام مطالعات بیشتر ضروری به نظر می‌رسد. در مطالعه جالبی که به وسیله Xu در سال ۱۹۹۷ در دانشگاه استانفورد صورت گرفت، مشاهده شد که انتقال DNA ژن P53

- Neck. 2nd ed. Philadelphia, Saunders; 1996: 5-10.
- 4- Donoff B, Todd R, Elovic A, Gallagher G, Chou M, Wong D. *Prediction of human oral cancer radiation responsiveness by H3 mRNA in situ hybridization a preliminary report*. J Oral Maxillofac Surg 1998; 56 (12): 1410-16.
- 5- Cotran R, kumar V, Collins T. *Robbins Pathology*

- Basis of Disease*. 6th ed. Philadelphia: Saunders; 1999: 18-24, 290-292.
- 6- Fauci S, Braunwald E, Isselbacher K, Martin J. *Harrison's principle of Internal Medicine*. 14th ed. London: Mc Grow Hill; 1998: 505-12, 525-26.
- 7- Lane PD. *P53 guardian of the genome*. Nature 1992; 358: 15-26.
- 8- Cox L, Micheal M. *Tumor suppressors, kinases and clamps: How P53 regulates the cell cycle in response to DNA damage*. Bioessays 1995; 17: 501-10.
- 9- Akagi Y, Hirokawa Y, Fujita M, Kiriu M, Kashimoto K, Kashiwado K. *Apoptosis in radiosensitive malignant tumors*. Nippon- Igaku: 1993; 25; 53 (9): 1082-4.
- 10- Raybound H, Fortin A, Morency R, Roy J, Monteil RA, Tetu B. *Markers of radioresistance in SCC of the head and neck: a clinicopathologic and immunohistochemical study*. J Clin Oncol 1997; 15 (3): 1030-8.
- 11- Denekamp J. *Cell kinetics and radiation biology*. Int J Radiobiol 1986; 49: 357.
- 12- Raybound H, Fortin A, Bairati I, Morency R, Monteil R, Tetu B. *Nuclear DNA content, an adjunct to P53 and Ki-67 as a marker of resistance to radiation therapy in oral SCC*. Int J Oral Maxillofac Surg 2000; 29: 36-41.
- 13- Munck Wikland E, Fernberg JO, Kuylentierna R, Lindholm J, Auer G. *Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression and nuclear DNA content in predicting recurrence after radiotherapy of early glottic cancer*. Oral Oncol Eur J Cancer 1993; 29B: 75-9.
- 14- Nagao T, Ishida Y, Kondo Y. *Determination of S phase cells by in-situ hybridization for histone H3 mRNA in hepatocellular carcinoma: Correlation to other cell proliferation markers*. Mod Pathol 1996; 9: 99.
- 15- Smith MD, Healy E, Thompson V, Morley A, Rees J. *Use of in-situ detection of histone mRNA in the assessment of epidermal proliferation comprasion with Ki-67 and Brdu incorporation*. Br J Dermatol 1995; 132: 359-66.
- 16- Chou MY, Chang A, Mcbride J, Donoff B, Gallagher G, Wong D. *A rapid method to determine proliferation patterns of normal and malignant tissue by H3 mRNA insitu hybridization*. Am J Pathol 1990; 136: 729.
- 17- Kearsley J, Bryson G, Battistutta D, Collins RJ. *Prognostic importance of cellular DNA content of HNSCC*. Int J Cancer 1991; 47: 31-7.
- 18- Zatterstrom U, Wennerberg J, Svenborje E, Willen R, Attewell R. *Prognostic factors in head and neck cancer*. Head & Neck 1991; 13: 477-87.
- 19- Munck Wikland E, Kuylentierna R, Lind M, Lindholm J, Nathanson A, Auer G. *The prognostic value of cytometric DNA analysis in early stage tongue cancer*. Eur J Cancer 1992; 28B: 135-8.
- 20- Balsara B, Borges A, Pradhan S, Rajpal R. *Flow cytometric DNA analysis of SCC of the oral cavity*. Eur J Cnacer 1994; 30B: 98-101.
- 21- Barretton G, Li X, Stoll C, Fischer- Brandies E, Schmidt M, Lohrg U. *Prognostic significance of DNA ploidy in oral SCC*. Oral Surg 1995; 79: 68-76.
- 22- Fu K, Xu L, Chou M. *PCNA and DNA content in oral SCC*. Int J Radiol Oncol Phys 1994; 29: 661-71.
- 23- Walter M. *Predicting radioresistance in early glottic SCC by DNA content*. Am Otol Rhinol Laryngol 1991; 100: 523-6.
- 24- Monasebian DM, Ruskin JD. *The relation of radiosensitivity of hypopharyngeal SCC to DNA ploidy*. J Oral Maxillofac Surg 1996; 54 (2): 167-70.
- 25- Rudoltz M, Kao G, Blank KR, Muschel R, Mckenna W. *Molecular biology of the cell cycle*. Semin Radiol Oncol 1996; 6: 284-94.

- 26- Maity A, Mckenna WG, Muschel RJ. *The molecular basis for cell cycle delays following ionizing radiation, a review*. Radiother Oncol 1994; 31: 1-13.
- 27- Stern Y, Aronson M, Shpitzer T. *Significance of DNA ploidy in the treatment of T1 glottic carcinoma*. Head Neck Surg 1995; 121: 1003-5.
- 28- Tytor M, Olofsson J, Ledin T, Brunk U, Klintenburg C. *SCC of oral cavity a review of 176 cases with application of malignancy grading and DNA measurement*. Clin Oto Laryngol 1990; 15: 235-51.
- 29- Brizel D, Sibley G, Prosnitz L, Scher R, Dewhirst M. *Tumor hypoxia adversely affects the prognosis of oral SCC*. Int J Radiol Oncol Biol Phys 1997; 38 (2): 285-9.
- 30- Ang K. *Altered fractionation trials in head and neck cancer*. Semin Radiol Oncol 1998; 8 (4): 230-6.
- 31- Fromhold H, Urs M, Wight E. *The impact of blood hemoglobin content on the outcome of radiotherapy*. Strahlenther Oncol 1998; 174: 31-4.
- 32- Gallo O, Boddi V, Calzolari A, Simonetti L, Trovati M, Bianchi S. *Bcl-2 protein expression correlates with recurrence and survival in early stage head and neck cancer treated by radiotherapy*. Clin Cancer Res 1996; 2 (2): 261-7.
- 33- Gallo O, Chiarelli L, Bianchi S, Calzolari A, Simonetti L, Porfirio B. *Loss of P53 gene mutation after irradiation is associated with increased aggressiveness in recurring head and neck cancer*. Clin Cancer Res 1996; 2 (9): 1577-82.
- 34- Hegde P, Brenski A, Caldarelli D, Hutchinson J, Panje W, Wood N, et al. *Tumor angiogenesis and P53 mutation*. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1998; 124 (1): 80-5.
- 35- Tan L, Ogdan G. *P53 over-expression in laryngeal carcinoma is not predictive of response to radiotherapy*. Oral Oncol 1997; 33 (3): 177-81.
- 36- Wilson G, Richman P, Dische S. *P53 status of head and neck cancer: relation to biological characteristic outcome of radiotherapy*. Br J Cancer 1995; 71 (6): 1248-52.
- 37- Koelbl O, Rosenwald A, Haberl M, Muller J, Reuther J, Flentje M. *P53 and Ki-67 as predictive markers for radiosensitivity in squamous cell carcinoma of the oral cavity. An immunohistochemical and clinicopathologic study*. Int J Radiat Oncol BioPhys 2001; 49 (1): 147-54.
- 38- Xu L, Pirolo K, Change E. *Transferrin-Liposome mediated P53 sensitization of SCC of the head and neck to radiation in-vitro*. Hum Gen Ther 1997; 8 (4): 467-75.