Evaluation the salivary zinc assay as a potential diagnostic tool in potential malignant lesions of oral cavity

Dr .Samira Zraiki [*]
Dr. Muhammed Imad Khayat[**]
Marwa Mohammad Khalil[**]

(Received 10 / 10 / 2019 Accepted 4 / 2 / 2020)

□ ABSTRACT □

Salivary analysis, a non-invasive alternative to serum analysis, is an effective modality for diagnosis and for prognosis prediction of various diseases like oral cancer and even oral potentially malignant disorders. The aim of this study was to evaluate the level of zinc (Zn) in saliva of patients with oral leukoplakia (OL) and to compare the values with healthy controls. The study group comprised of 15 clinically diagnosed and histopathologically confirmed cases of OL and 15 healthy controls matched in age and gender. The data were assessed statistically using SPSS.

It was observed a slight decrease in OL patients(151.73± 11.37)compared with controls (156.13±10.12).However ,it was statistically insignificant *(P*>0.05).

Further research is needed in this line in patients with oral potential malignant disorders with higher sample size in order to correlate habit and diet pattern which may affect the Zn status.

Keywords: Oral leukoplakia, Zinc, Saliva, Oral potentially malignant disorders.

[*] **Head of Oral Medicine Department-Faculty of Dentistry-Tishreen University-Latakia- Syria.**
[**]**Assistant Professor- Department of Laboratory Medicine- Tishreen University Hospital- Latakia-Syria.**
[**] **MSc student- Department of Oral Medicine- Faculty of Dentistry- Tishreen University- Latakia-Syria.**

تقييم الزنك اللعابي كأداة تشخيص محتملة للآفات محتملة الخباثة في الحفرة الفموية

الدكتورة سميرة زريقي *

الدكتور محمد عماد خياط **

مروى محمد خليل ***

(تاريخ الإيداع 10 / 10 / 2019. قُبِل للنشر في 4 / 2 /2020)

□ ملخّص □

تحليل اللعاب هو بديل غير باضع للنسج كما أنه وسيلة فعالة لتشخيص والتنبؤ بإنذار العديد من الأمراض مثل سرطان الفم والآفات محتملة الخباثة .هدف هذه الدراسة تقييم مستويات الزنك في اللعاب لدى مرضى الطلاوة الفموية ومقارنة هذه القيم مع المجموعة الضابطة . مجموعة الدراسة ضمت 15 حالة طلاوة مشخصة سريرياً ونسيجياً و15 من الضوابط المطابقة في العمر والجنس . المعطيات قيمت إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي SPSS.كان هناك انخفاض في مستويات الزنك 151.73 ±11.37 عند مرضى الطلاوة مقارنة بالمجموعة الضابطة التي أظهرت مستويات أعلى 156.13±10.12ولكن هذا الانخفاض ليس ذو دلالة إحصائياً حيث ($P>0.05$).هناك حاجة إلى مزيد من البحث في هذا المجال في المرضى الذين يعانون من آفات فموية محتملة الخباثة بحجم عينة أكبر بهدف ربط نمط التغذية و العادات التي يمكن أن تؤثر على حالة الزنك .

الكلمات المفتاحية : الزنك ، اللعاب ، الطلاوة ، آفات محتملة الخباثة .

* **رئيس قسم طب الفم– كلية طب الأسنان– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.**

** **أستاذ مساعد– قسم الطب المخبري– كلية الطب البشري– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.**

*** **طالبة دراسات عليا (ماجستير)– قسم طب الفم– كلية طب الأسنان– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.**

مقدمة:

رغم التطور الكبير الذي أحدث في مجال العلوم الطبية لايزال السرطان أحد الأسباب الرئيسية للوفاة .تشير الإحصائيات الحديثة إلى أن أكثر من 400000 حالة سرطان فم جديدة يتم تشخيصها سنوياً [1]،90% منها سرطان شائك الخلايا [2].أظهر الباحثون أن سرطان الفم عادة ما يسبق بتغيرات سريرية مرئية في الغشاء المخاطي الفموي على شكل لويحات بيضاء أو حمراء[3] . تعرف الطلاوة على أنها آفات بيضاء على شكل بقع غير قابلة للكشط ولا يمكن تعريفها سريرياً أو نسيجياً كأي آفة بيضاء لمرض آخر [4].قدرت نسبة التحول الخبيث للطلاوة عالمياً ب1%تقريباً وتكون أكثر في الأشكال غير المتجانسة وخاصة الشكل الثؤلولي التكاثري [5] .

لاتزال الخزعة هي المعيار الذهبي في تشخيص الآفات المشكوك بها ؛رغم أن هذا الاختبار غير مريح بسبب طبيعته الباضعة ، تكلفته العالية ،الحاجة إلى معدات وأفراد طبيين مدربين لهذا فإن الأبحاث الحديثة تتجه نحو تحسين تقنيات التشخيص واستراتيجيات التدبير[8-7-6].

تبين أن العناصر النادرة تعدل عملية إنتاج الجذور الحرة وتلعب دور مباشر أو غير مباشر في العديد من العمليات الاستقلابية الفيزيولوجية عند الإنسان .الزنك أحد العناصر النادرة الأساسية يلعب دور رئيسي في الاستقلاب كما أنه ضروري في نشاط أكثر من 300 أنزيم وبناء العديد من البروتينات والتحكم في التعبير الجيني[9]. تم توثيق أهمية الزنك في غذاء الإنسان والصحة والمرض على نطاق واسع[10] . يؤثر الزنك على العديد من وظائف الجسم بما في ذلك النمو، تكون العظام،التكاثر،،تطور الحس،الوظائف الحسية(الشم والتذوق) ،جهاز المناعة ،تطور الدماغ ،شفاء الجروح بفضل قدرته على تركيب وإصلاح الـDNAوالـRNAوالبروتين[11]. الزنك موجود في العديد من الأنسجة والسوائل الحيوية مثل البلازما ،المصل ،الدم الكامل ،الكريات حمراء ،الكريات البيضاء ،البول ، الشعر ،اللعاب [12] .

مشكلة البحث:

عدة أبحاث درست مستويات زنك المصل؛المصورة ؛الأنسجة في الآفات الفموية السرطانية وقبل السرطانية وأورام الرأس والعنق، لكن الدراسات باستخدام عينات اللعاب قليلة جداً ؛رغم أن تحليل اللعاب هو بديل غير باضع ووسيلة فعالة لتشخيص والتنبؤ بإنذار العديد من الأمراض.

أهمية البحث وأهدافه:

اللعاب يتفوق على المصل من حيث : سهولة جمعه ،حفظه ونقله ،كونه غير باضع للنسج ،كونه مقبول من حيث الكلفة المادية عند مسح عدد كبير من السكان دون الحاجة إلى مهنين مدربين تدريب عالٍ بالإضافة إلى إمكانية تكرار جمع العينات بسهولة للمراقبة مع الوقت. أجريت هذه الدراسة لتقيم مستويات الزنك في اللعاب الكلي غير المحفز لمرضى الطلاوة الفموية ومقارنتها مع المجموعة الضابطة المطابقة بالعمر والجنس .

طرائق البحث ومواده:

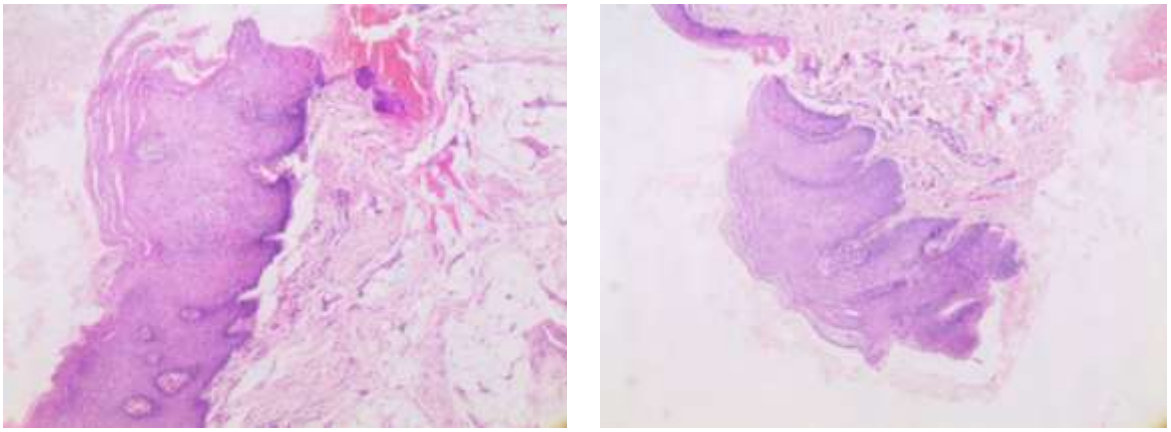
هذه الدراسة دراسة سريرية نسيجية عشوائية شملت مرضى الطلاوة الفموية المراجعين لقسم طب الفم في كلية طب الأسنان في جامعة تشرين – اللاذقية في الفترة ما بين آذار2018 وتموز 2019 مع الضوابط الصحية المطابقة في العمر والجنس .عمر المرضى تراوح بين 25-75عام. تاريخ الحالة المفصل مع قائمة العادات أخذت من جميع الأفراد

المشاركين في الدراسة .تم أخذ موافقة جميع المشاركين كما شرح لهم عن هدف الدراسة . جمعت بيانات 30 مريض ثم قيمت وحللت إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي SPSS(الإصدار25)حيث كانت القيمة الاحتمالية أقل من 0,05 دالة إحصائياً . المرضى الذين يعانون من أمراض جهازية ،تناول أدوية طويلة الأمد ، تاريخ سابق للخباثة ، تناول مضادات الأكسدة تم استبعادهم من الدراسة.

تم جمع اللعاب غير المحفز من أفراد الدراسة بين الساعة 9 و12 صباحاً للتأكد من أن التغير في تدفق اللعاب ومكوناته أصغرياً[13] .طلب من أفراد الدراسة عدم تناول الطعام أو الشراب أو القيام بإجراءات النظافة الفموية أو مضغ العلكة قبل ساعة من جمع اللعاب .كما طلب منهم الجلوس على كرسي الأسنان والبصق في وعاء مدرج كل دقيقة حتى نحصل على 5 مل من اللعاب ، خلال جمع اللعاب طلب من المرضى عدم التحدث أو البلع .خزنت عينات اللعاب في درجة −٢٠درجة مئوية قبل تحليلها بواسطة مقياس الطيف الضوئي (من شركة هيومان الألمانية) المتواجد في مخبر مشفى تشرين الجامعي.

تم معايرة الزنك بواسطة الطريقة اللونية باستخدام عتيدة من شركة Medichem حيث تم مفاعلة الزنك الموجود في العينات مع 5−Br−PAPS ليشكل معقد أحمر في وسط درجة حموضتهPH=9.80 ، ثم تم قياس امتصاصية العينات عند طول موجة 560 nm (ازدياد الامتصاصية يتناسب مع تركيز الزنك الموجود في العينات) . مستويات الزنك تم قياسها بالميكروغرام /دل. استخدم اختبار ت ستيودنت للعينات المستقلة لمقارنة متوسطات قيم الزنك اللعابي بين المجموعة الشاهدة ومجموعة الدراسة ،في حين استخدم اختبار كروكسال واليس لمقارنة متوسطات قيم الزنك اللعابي بين الأشكال النسيجية المشاهدة للطلاوة .

الصورة رقم (1): طلاوة فموية في المخاطية الخدية لدى مريضة عمرها خمسة وأربعون عام .



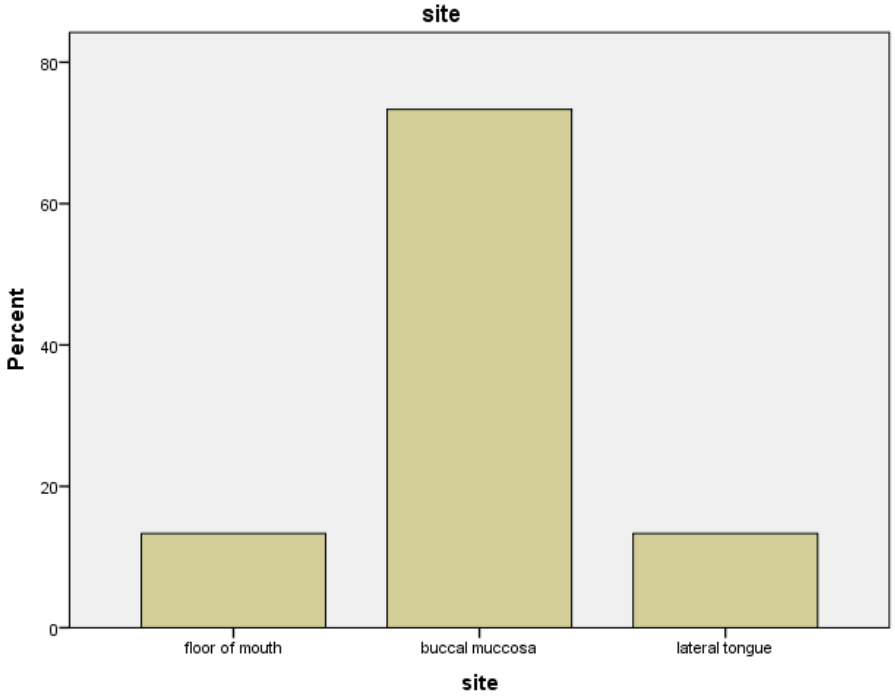
الصورة رقم (2):صورة نسيجية لفرط تصنع بشروي في المخاطية الفموية.

النتائج والمناقشة:

أ- النتائج:

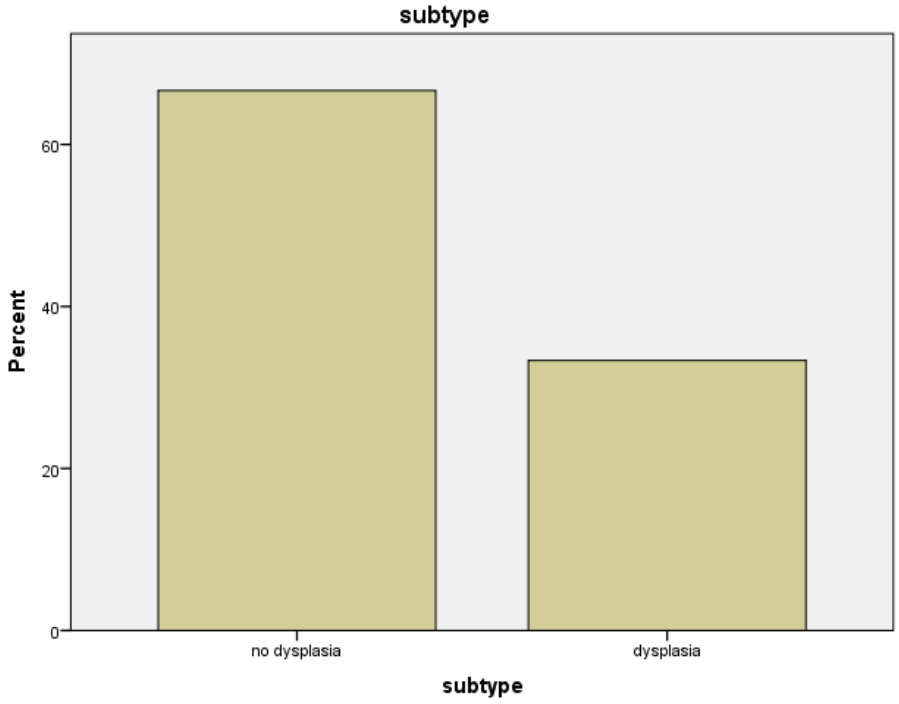
80% من حالات الطلاوة في هذه الدراسة كانت من الشكل المتجانس ،بينما شكلت الطلاوة غير المتجانسة 20%من الحالات.

الموقع الأكثر شيوعاً للإصابة بالطلاوة وفقاً لدراستنا كان المخاطية الخدية بنسبة 73.3%(الشكل1).



الشكل رقم (1) :مقارنة بين مواقع الإصابة بالطلاوة الفموية.

وفقاً لنتائج التشريح المرضي فإن 66.7%من الحالات أظهرت فرط تصنع بشروي دون وجود سوء تصنع بينما 33.3%من الحالات أظهرت سوء تصنع بشروي بدرجات مختلفة (الشكل2).



الشكل رقم (2) :مقارنة بين الأشكال النسيجية ضمن مجموعة مرضى الطلاوة الفموية .

متوسط قيمة الزنك لدى مرضى الطلاوة كان 151.73 انحراف معياري44.06 ومتوسط الخطأ المعياري11.37بينما متوسط قيمة الزنك في المجموعة الضابطة كان 156.16مع انحراف معياري 39.19ومتوسط خطأ معياري10.12.

هناك انخفاض في متوسط قيمة الزنك بين المجموعتين ولكن هذا الانخفاض ليس دال إحصائياً حيث ($P>0.05$)(الجدول1).

الجدول رقم (1) :مقارنة بين مرضى الطلاوة والمجموعة الضابطة من حيث قيم الزنك اللعابي.

المجموعة		العدد	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	*P*-value
قيم الزنك في اللعاب(µg\dL)	شاهد	15	156.13	39.193	10.120	0.775
	طلاوة فموية	15	151.73	44.062	11.377	

في حين كان هناك اختلاف دال احصائياً بين متوسطات قيم الزنك في الأشكال النسيجية المشاهدة للطلاوة ($P<0.05$)وفقاً لاختبار كروكسال واليس(Kruskal–Wallis).حيث انخفضت قيم الزنك اللعابي بشكل دال إحصائياً في الأشكال النسيجية سوء التصنعية مقارنة بالأشكال النسيجية الأخرى التي لم تظهر سوء تصنع بشروي .

ب– المناقشة:

خلال السنوات القليلة الماضية حصل استخدام اللعاب كأداة تشخيصية على أهمية معتبرة وأصبح طريقة مقبولة .تحليل اللعاب هو بديل غير باضع للنسج وطريقة فعالة لتشخيص والتنبؤ بإنذار العديد من الأمراض مثل سرطان الفم وحتى

الآفات محتملة الخباثة . يتفوق اللعاب كسائل تشخيصي على المصل بسبب كونه بديل غير باضع ، انخفاض التكلفة عند مسح عدد كبير من السكان ،كما أن جمع اللعاب يقدم خطر أقل لانتقال العدوى مقارنة بسحب الدم . بعض الباحثين قاموا بدراسة مشابهه على المصل ووجدوا أن مستويات الزنك كانت أعلى لدى مرضى الطلاوة مقارنة بالمجموعة الضابطة[14] .في حين أن دراسات أخرى في الأدب الطبي أظهرت انخفاض زنك المصل واللعاب لدى مرضى الطلاوة مقارنة بالمجموعة الضابطة[17−15]. في دراستنا لاحظنا انخفاض في مستويات الزنك في اللعاب ولكن هذا الانخفاض ليس ذو دلالة إحصائية مقارنة بالمجموعة الضابطة هذا الانخفاض يمكن أن يفسر على أساس أن الخلايا والأنسجة الشاذة (سوء التصنعية) لديها متطلبات استقلابية متزايدة من الزنك وما ينتج عنه ازدياد الأخذ من التراكيب المجاورة مثل الغدد اللعابية . في حين أن الانخفاض غير الدال إحصائياً يمكن أن يعزى إلى كون الدراسة عشوائية والغالبية العظمى من حالات الطلاوة أظهرت عند الفحص النسيجي فرط تصنع ظهاري دون وجود سوء تصنع ،وما يؤكد ذلك وجود فرق ذو دلالة إحصائية بين متوسطات قيم الزنك اللعابي لدى الأشكال النسيجية المختلفة للطلاوة

الاستنتاجات والتوصيات:

وفقاً لنتيجة البحث إن تغيرات الزنك اللعابي لم تكن كافية لاعتبارها أداة تشخيص للطلاوة الفموية في حين أن هذه التغيرات يمكن استخدامها كمؤشر لتطور سوء التصنع البشروي،ولكننا بحاجة إلى أبحاث أكثر مع عينات ذات حجم أكبر بهدف ربط العادات ونموذج التغذية لدى هؤلاء المرضى والتي يمكن أن تؤثر على مستويات الزنك.

References:

1) FERLAY,J,SHIN,H.R,BRAY,F,FORMAN,D,MATHERS,C,PARKIN,D.M. *Estimates of world wide burden of cancer in 2008:*GLOBOCAN 2008.IntJcancer. Vol.(127) No.(12)2010,2917-2893.

2) SHENOI,R,DEVRUKHKAR,V,CHAUDHURI,SHARMA,B.K,SAPRI ,S.P,CHIKHALE,A. *Demographic and clinical profile of oral squamous cell carcinoma patients: a ret-rospective study* .Indian J cancer.Vol.(49)No.(1)2012,21-26.

3) GEORGE,A,SREENIVASAN,B.S,SUNILS,VARGHESE,S.S,THOMAS ,J,VARGHESE,M .*Potentially malignant disorders of oral cavity* .Oral & Maxillofacial Pathology Journal .Vol.(2)No.(1) 2011.

4) WAMAKULASURIYA,S,JONSON,N.W,VAN,D.W. *Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of oral Mucosa* .J oral Pathol Med.Vol.(36)2007,575-580.

5) HOLMSTRUP,P,VEDTOFTE,P,REIBEL,J,STOLTZEK. *Long term treatment out come of oral premalignant lesions* .oral oncol.Vol.(42)2006,461-474.

6) WU,J.Y,YI,C ,CHANG,H.R .*Potential biomarkers in saliva for oral squamous cell carcinoma.* Oral Oncol.Vol.(46)No.(4)2010,226-231.

7) YOSHIZAWA,J.M,,SCHAFER,C.A, FARRELL,J.J,PASTER,B.J,WONG ,D.T. *Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities* .Clin Microbiol Rew.Vol.(26)No.(4)2013,781-791.

8) ZHANG,L,XIAO,H,KARLAN,S. *Discovery and preclinical validation of salivary transcriptomic and proteomic biomarkers for the non-invasive detection of breast cancer.* PLOSONE.Vol.(5)No.(12)2010.

9) SHWARTZ,M.K. *Role of trace elements in cancer.* Cancer Res.Vol.(35)1975,3481-3487.

10) PRASAD ,A.S .*Zinc in human nutrition*. Crit Rev Clin lab Sci.Vol.(8)1977,1-80.
11) COSINS,R.J,HEMP,J.M. *Zinc :Present knowledge in nutrition "6th ed.* Brown ML Washington DC: Nutrition Foundation.1990,251-260.
12) WATANABE,M,ASTASUMA,M,IKUI,A,IKEDAM,YAMADA,Y,NOMVA,S ,IGARASHI,A. *Measurement of several metallic elements and matrix metalloproteinases in saliva from patients with taste disorders*. Chemical Senses .Vol.(30)No.(2)2005,121-125.
13) NAVAZESH,M. *Methods for collecting saliva* .Ann N Y Acad Sci.Vol.(694)1993,72-74.
14) BLONIARZ, J, RAHNAMA,M, ZAREBA ,S, SWIATKOWSKI ,W. *The influence of carcinogenesis in the oral cavity on the level of zinc, copper and iron in serum*. Rocz Panstw Zakl Hig. Vol. (55) 2004, 235-41. BLONIARZ, J, RAHNAMA,M, ZAREBA ,S, SWIATKOWSKI ,W. *The influence of carcinogenesis in the oral cavity on the level of zinc, copper and iron in serum*. Rocz Panstw Zakl Hig. Vol. (55) 2004, 235-41.
15) CĂRĂUŞU, E, CHECHERITA, L, STAMATIN, O, ALBU,A. *Study of Serum and Saliva Biochemical Levels for Copper, Zinc and Cooper-Zinc Imbalance in Patients with Oral Cancer and Oral Potentially Malignant Disorders and their Prostetical and DSSS (Disfunctional Syndrome of Stomatognathic System) Treatment*. Revista de Chimie - Bucharest- Original Edition. Vol.(67)2016, 1832-1836.
16) KISHORKANNEPPADY ,S, BHASKAR, A, SHAMKANNEPPADY, S. *Analysis of Salivary Micronutrients in Oral Potentially Malignant Disorder*. J Nutrition Health Food Sci.Vol.(6) 2018,1-4 .
17) RATHOD, S, RATHI, P, HARKARE, V. *Trace elements as a diagnostic biomarker for premalignant lesions and malignant conditions*. SRM Journal of Research in Dental Sciences.Vol.(10)2019,40.