

بررسی فراوانی لیکن پلان دهانی و عوامل مرتبط با آن در مبتلایان به بیماری های تیروئید مراجعه کننده به مرکز غدد و متابولیسم وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۶

دکتر سیمین لسان^۱، یاسمن میهنی^{۲*}، پریسا تهمتنی^۲، دکتر ترانه فرخ نیا^۱

۱- استادیار بخش بیماری های دهان و دندان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دندانپزشکی تهران، تهران، ایران

۲- دانشجوی دکترای عمومی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دندانپزشکی تهران، تهران، ایران

خلاصه:

سابقه و هدف: اطلاعاتی مبنی بر ارتباط بیماری تیروئید به خصوص کم کاری تیروئید با لیکن پلان دهانی بر پایه پاتوژنز ایمونولوژیکال آن وجود دارد. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی لیکن پلان دهانی و عوامل مرتبط با آن در بیماران مبتلا به بیماری های تیروئیدی مراجعه کننده به پژوهشکده غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی ایران بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه توصیفی- مقطعی تعداد ۱۲۰۰ فرد به روش سر شماری با تشخیص قطعی بیماری تیروئید مورد بررسی قرار گرفتند، در صورت مشاهده لیکن پلان دهانی، یافته ها در فرم اطلاعاتی ثبت شد. داده های به دست آمده توسط آزمون کای دو مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته ها: ۵/۳ درصد مبتلایان به بیماری های تیروئیدی مبتلا به لیکن پلان دهانی بودند. انواع رتیکولر (۴۷/۶٪)، پاپولر (۲۲/۲٪)، پلاک مانند (۱۷/۵٪) و اروزو (۱۲/۷٪) به ترتیب بیشترین فراوانی را داشتند. مصرف لووتیروکسین با بروز لیکن پلان دهانی ارتباط معنی داری داشت. ($P < 0.05$) زنان مبتلا به کم کاری تیروئید با میانگین سنی ۵۷ سال و غیر سیگاری بطور معنی داری بیشتر دچار لیکن پلان دهانی شدند. ($P < 0.05$)

نتیجه گیری: به نظر می رسد در مبتلایان به کم کاری تیروئید فراوانی لیکن پلان دهانی از جمعیت نرمال بیشتر است.

کلمات کلیدی: لیکن پلان دهانی، کم کاری تیروئید، آنتی بادی های تیروئید

وصول مقاله: ۹۷/۳/۲۹ اصلاح نهایی: ۹۷/۶/۲۰ پذیرش مقاله: ۹۷/۶/۲۵

مقدمه:

لیکن پلان دهانی بیماری التهابی مزمن مخاطی با اتیولوژی نامشخص است. فراوانی لیکن پلان در جوامع مختلف ۰/۵ تا ۲/۳ درصد متغیر می باشد و فراوانی آن در جنس زن و در سنین میانسالی افزایش می یابد. ^(۱) لیکن پلان با بعضی بیماری ها از جمله دیابت ملیتوس، هپاتیت C، لوپوس اریتماتوزیس، اختلالات خودایمنی، اختلالات منتال ^(۲) و عفونت های ویرال ^(۳) در ارتباط است. امروزه نقش اولیه سیستم ایمنی و آنتی ژن های اختصاصی لنفوسیت های T مهم ترین علت لیکن پلان دهانی بیان شده اند. ^(۴) شیوع اختلال تیروئید در جمعیت های مختلف متفاوت است و در زنان شایع تر است. ^(۱،۴) شایع ترین بیماری تیروئید، کم کاری آن گزارش شده است. ^(۱) فراوانی کم کاری تیروئید در جمعیت ایرانی ۴/۸٪ در مردان و ۸/۱۲٪ در زنان گزارش شده است. ^(۴) بر پایه پاتوژنز ایمونولوژیکال لیکن پلان، آنتی بادی های آنتی تیروگلوبولین و میکروزومال تیروئیدی در بیماران مبتلا به لیکن پلان دهانی مشاهده شده است. ^(۵) پوست یک بافت هدف برای هورمون های تیروئیدی است ^(۶) تحقیقات نشان داده اند که کم کاری تیروئید شایع ترین مشکل تیروئید در لیکن پلانوپیلاریس ^(۷) و لیکن پلان دهانی است ^(۵) آنتی بادی های تیروئید می توانند توانایی آشکارسازی اپی توپ ها در کراتینوسیت های اکسپوز شده به آنتی ژن های لیکن پلان را داشته باشند که به عنوان آنتی ژن های هدف به وسیله لنفوسیت های T کشنده شناخته می شوند. ^(۸)

لیکن پلان دهانی بیماری التهابی مزمن مخاطی با اتیولوژی نامشخص است. فراوانی لیکن پلان در جوامع مختلف ۰/۵ تا ۲/۳ درصد متغیر می باشد و فراوانی آن در جنس زن و در سنین میانسالی افزایش می یابد. ^(۱) لیکن پلان با بعضی بیماری ها از جمله دیابت ملیتوس، هپاتیت C، لوپوس اریتماتوزیس، اختلالات خودایمنی، اختلالات منتال ^(۲) و عفونت های ویرال ^(۳) در ارتباط است. امروزه نقش اولیه سیستم ایمنی و آنتی ژن های اختصاصی لنفوسیت های T مهم ترین علت لیکن پلان دهانی بیان شده اند. ^(۴) شیوع اختلال تیروئید در جمعیت های مختلف متفاوت است و در زنان شایع تر است. ^(۱،۴) شایع ترین بیماری تیروئید، کم کاری آن گزارش شده است. ^(۱) فراوانی کم کاری تیروئید در جمعیت ایرانی ۴/۸٪ در مردان و ۸/۱۲٪ در زنان گزارش شده است. ^(۴) بر پایه پاتوژنز ایمونولوژیکال لیکن پلان، آنتی بادی های آنتی تیروگلوبولین و میکروزومال تیروئیدی در بیماران مبتلا به لیکن پلان دهانی مشاهده شده است. ^(۵) پوست یک بافت هدف برای هورمون های تیروئیدی است ^(۶) تحقیقات نشان داده اند که کم کاری تیروئید شایع ترین مشکل تیروئید در لیکن پلانوپیلاریس ^(۷) و لیکن پلان دهانی است ^(۵) آنتی بادی های تیروئید می توانند توانایی آشکارسازی اپی توپ ها در کراتینوسیت های اکسپوز شده به آنتی ژن های لیکن پلان را داشته باشند که به عنوان آنتی ژن های هدف به وسیله لنفوسیت های T کشنده شناخته می شوند. ^(۸)

فراوانی لیکن پلان دهانی در نمونه ها تایید، میزان واقعی آن در جامعه برآورد و نقش عوامل مرتبط با آزمون کای-دو مورد قضاوت آماری قرار گرفته و آنالیز رگرسیون نیز انجام شد.

یافته‌ها

مطالعه بر روی ۱۲۰۰ بیمار تیروئیدی صورت گرفت که از این تعداد ۹۹۵ نفر (۸۳٪) مبتلا به کم کاری تیروئید و ۲۰۵ نفر (۱۷٪) مبتلا به پرکاری تیروئید بودند که ۱۰۱۶ بیمار زن (۸۴/۷٪) و ۱۸۴ بیمار مرد (۱۵/۳٪) بودند. از این تعداد ۶۳ (۵/۳٪) بیماران مبتلا به لیکن پلان دهانی بودند که فراوانی نوع رتیکولار ۴۷/۶٪، نوع پاپولر ۲۲/۲٪، نوع پلاک مانند ۱۷/۵٪ و نوع آتروفیک و اروزو و آتروفیک ۱۲/۷٪ بود. با توجه به شیوع لیکن پلان دهانی میزان واقعی آن در جامعه با اطمینان ۹۵٪ از حداقل ۴٪ تا ۶/۶٪ برآورد گردید. مصرف لووتیروکسین از دیگر عوامل مرتبط بود که با مقدار احتمال به دست آمده تفاوت معنی داری را نشان داد. ($P < 0/005$) به این ترتیب که از ۲۰۵ بیماری که مصرف لووتیروکسین نداشتند تنها ۵ نفر لیکن پلان دهانی داشتند اما از ۹۹۵ نفری که مصرف لووتیروکسین داشتند ۵۸ نفر لیکن پلان دهانی داشتند. همچنین مشخص شد افرادی که مبتلا به لیکن پلان پوستی بودند در مواجهه بیشتری با لیکن پلان دهانی نیز بودند. ($P < 0/02$) یافته‌ها نشان داد مصرف داروهایی از قبیل متفورمین، لوزارتان، پروپانول و آسپرین با بروز لیکن پلان دهانی ارتباطی ندارد. ($P < 0/2$) با توجه به مقدار احتمال به دست آمده برای کم کاری تیروئید ($P < 0/05$) بیانگر ارتباط کم کاری تیروئید با لیکن پلان دهانی بود که ۹۲٪ افراد مبتلا به لیکن پلان دچار کم کاری تیروئید بودند و همچنین از بین انواع کم کاری تیروئید، لیکن پلان دهانی در افراد با تیروئیدیت هاشیموتو به طور معنی داری فراوانی بیشتری داشت. ($P < 0/05$)

با توجه به مطالعاتی که ارتباط لیکن پلان دهانی و بیماری های تیروئیدی به خصوص کم کاری تیروئید را تأیید میکنند^(۱) و اطلاعات ضد و نقیضی که در این رابطه وجود دارد^(۹،۴) و با توجه به تحقیقات اندک در این زمینه در ایران، میزان فراوانی لیکن پلان دهانی رادر بیماران تیروئیدی مراجعه کننده به مرکز غدد و متابولیسم وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران در سال ۱۳۹۶ بررسی کردیم، باشد که نتایج حاصل از این تحقیق به شناخت عوامل موثر در ایجاد لیکن پلان کمک کننده باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که از نوع توصیفی و مقطعی بود، تعداد ۱۲۰۰ بیمار بالغ مبتلا به بیماری های تیروئید مراجعه کننده به مرکز غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی ایران در سال ۱۳۹۶ به منظور بررسی میزان فراوانی لیکن پلان دهانی به وسیله معاینه دهان در نور چراغ قوه و با کمک آبسلانگ مورد بررسی قرار گرفتند. معاینات توسط دانشجوی دندان پزشکی سال آخر که به وسیله مشاهده چند مورد لیکن پلان دهانی، کتب مرجع، اسلاید و اطلس های بیماری های دهان در مورد لیکن پلان دهانی آموزش داده شده بود، انجام گرفت. در مواردی که تشخیص ضایعه توسط دانشجو مشکل بود از اساتید راهنما و مشاور کمک گرفته شد و تنها در ضایعات مورد ابهام همان گونه که در مقالات قبلی پیشنهاد شده است. بیوپسی و بررسی پاتولوژیک صورت گرفت.^(۱۰-۱۲) ضایعات مشابه لیکن پلان در مجاورت ترمیم های آمالگام به عنوان ضایعات لیکنوئید در نظر گرفته شده و نمونه ها از مطالعه خارج شدند. بیماران واجد شرایط معاینه شده و فرم اطلاعاتی مربوطه در مورد هر یک تکمیل شد.

پس از هماهنگی های لازم بین دانشکده دندان پزشکی آزاد اسلامی و مرکز غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی ایران موافقت های لازم جهت حضور و دسترسی به پرونده پزشکی بیماران کسب گردید.

جدول ۱: فراوانی لیکن پلان دهانی در بیماران تیروئیدی مراجعه کننده به مرکز غدد و متابولیسم دانشگاه ایران در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۶

لیکن پلان	فراوانی	
	تعداد	درصد
دارد	۶۳	۵/۳
ندارد	۱۱۳۷	۹۴/۷
جمع	۱۲۰۰	۱۰۰

فراوانی لیکن پلان دهانی در بیماران تیروئیدی پرداخته شد که بر خلاف تمام مطالعات صورت گرفته در خصوص ارتباط بین این دو بیماری بود و تا کنون تحقیقی مبنی بر بررسی شیوع لیکن پلان در بیماران تیروئیدی صورت نگرفته بود. در نتیجه ما قادر به مقایسه این مطالعه با سایر مطالعات از نظر ارتباط بین لیکن پلان دهانی و بیماری تیروئیدی نبودیم. عوامل مرتبط با لیکن پلان دهانی که در این مطالعه مورد توجه قرار گرفت شامل جنس، مصرف الکل و سیگار، بیماری سیستمیک، مصرف لووتیروکسین، متی-مازول، داروهای استروئیدی و سایر داروها مانند داروهای ضد قند، داروهای قلبی عروقی بود.

فراوانی لیکن پلان دهانی در تحقیق حاضر ۵/۳٪ در افراد مبتلا به بیماری تیروئیدی بود. فراوانی لیکن پلان دهانی در جمعیت عادی ۳/۲-۰/۵ درصد گزارش شده است.^(۱) که این میزان در مطالعه انجام شده از فراوانی آن در جمعیت نرمال بیشتر است. لیکن پلان دهانی در زنان فراوانی بیشتری را به طور معنا دار نشان داد. ($P < ۰/۰۵$) که با سایر مطالعات در این حوزه همسو است.^(۱۴-۱۰، ۵۱)

در تحقیق حاضر بین عدم تدخین سیگار با لیکن پلان دهانی در بیماران تیروئیدی رابطه معنی داری به دست آمده که با سایر مطالعات متناقض است.^(۱۱، ۱۰، ۱) این تناقض احتمالا به علت تفاوت جوامع مورد مطالعه بوده است.

همچنین در این مطالعه افراد مبتلا به لیکن پلان به طور معنی داری لیکن پلان پوستی بیشتری را نشان دادند. که امری قابل پیش بینی می باشد.

در مطالعه حاضر بین مصرف متی مازول و کورتیکو استروئید ها با لیکن پلان دهانی رابطه معنی داری مشاهده نشد که با مطالعات Lavaee و Siponen و همکاران همسو می باشد.^(۵۶)

در تحقیق انجام شده عدم مصرف داروهای دیگر مانند داروهای متفورمین، لوزارتان، پروپرانول با لیکن پلان دهانی ارتباط معنی داری نشان داد که احتمالا به علت تعداد کم افراد مصرف کننده دارو در این مطالعه می باشد و همچنین نشان

جدول ۲- توزیع بیماران تیروئیدی مراجعه کننده به مرکز غدد و متابولیسم دانشگاه ایران در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۶ بر حسب وجود لیکن پلان دهانی به تفکیک عوامل مرتبط

لیکن پلان	توزیع		نتیجه از مومن
	ندارد N=1137	دارد N=63	
عوامل مرتبط			
			جنس
مرد	۱۸۰ (۱۵/۸)	۴ (۶/۳)	$P < ۰/۰۵$
	۹۵۷ (۸۴/۲)	۵۹ (۹۳/۶)	
زن	۶۲±۶/۸	۵۷±۸/۹	$P < ۰/۰۰۱$
سن	۹۸۹ (۸۶/۹)	۶۱ (۹۶/۸)	$P < ۰/۰۲$
	۱۴۸ (۱۳/۱)	۲ (۳/۲)	
سیگار	۹۷۵ (۸۵/۷)	۵۷ (۹۰/۴)	$P < ۰/۰۳$
	۱۶۲ (۱۴/۳)	۶ (۹/۶)	
سابقه مصرف الکل			
ندارد			
دارد			

بحث

در این تحقیق، فراوانی لیکن پلان دهانی و عوامل مرتبط با آن در ۱۲۰۰ بیمار تیروئیدی مراجعه کننده به مرکز غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی ایران مورد بررسی قرار گرفت که ۶۳ بیمار (۵/۳٪) مبتلا به لیکن پلان دهانی بودند. از نقاط قوت تحقیق حاضر این بود که قبل از بررسی ارتباط بین لیکن پلان دهانی و بیماری تیروئید به بررسی میزان

دهنده این است که مصرف داروهای فوق در ایجاد لیکن پلان دخیل نمی باشند.

در تحقیق حاضر فراوانی لیکن پلان دهانی در افراد با کم کاری تیروئید به طور معنی داری بالاتر مشاهده شد که از بین انواع کم کاری تیروئید لیکن پلان در افراد با تیروئیدیت هاشیموتو به طور معنی داری فراوانی بیشتری را نشان دادند. این یافته ها با نتایج سایر تحقیقات همسو می باشد.^(۱۵،۹،۱۵) ولی با نتایج تحقیقات Siponen M' Lavee و Compilato D در تناقض است.^(۵،۶،۹)

علت این مغایرت، تفاوت های قومی و جغرافیایی در فراوانی بیماری های با واسطه ایمنی که در کشور ها و مناطق مختلف متفاوت است، می باشد.

همچنین در بیماران با مشکل تیروئیدی مصرف کننده لووتیروکسین فراوانی لیکن پلان دهانی به طور معناداری بیشتر بود که با سایر مطالعات همسو می باشد.^(۱۶،۱۵،۱۱،۱۰،۱)

بر اساس پاتوژنز ایمونولوژیک لیکن پلان دهانی، مطالعات قبلی حضور Thyroid microsomal Ab و Tg-Ab را در بیماران مبتلا را نشان داده اند.^(۱۸،۱۷)

بیماری های اتو ایمنیون اتیولوژی مولتی فاکتوریال دارند که شامل ژنتیک، فاکتور های خارجی و تغییرات کوچک محیطی در ارگان هدف می باشد. مهمترین عامل در این زمینه ژنتیک است و مهم ترین فاکتور ژنتیکی پلی مورفیسم کمپلکس سازگاری بافتی (HLA) است.^(۹)

سیستم ایمنی به وسیله بالانس TH1/TH2 کنترل میشود. هر دو بیماری هاشیموتو و لیکن پلان دهانی به عنوان بیماری های TH1 مورد توجه هستند.^(۲۱،۲۰)

در بیماران با تیروئیدیت هاشیموتو، Ab تیروئیدی در گردش قادر به آشکار سازی اپی توپ ها در کراتینوسیت ها می باشد که به عنوان یک Ag هدف به وسیله T-cell سیتو توکسیک شناخته می شود و در نتیجه سبب پاسخ ایمنی خاص یک ارگان مانند مخاط دهان یا پوست شده و در نهایت ضایعات لیکن پلان دهانی ایجاد می گردد.^(۱۳،۹) و تیروئیدیت هاشیموتو به

عنوان یک فاکتور مستعد کننده برای لیکن پلان دهانی بیان شده است.

فراوان ترین نوع لیکن پلان دهانی مشاهده شده در مطالعه حاضر از نوع رتیکولار بود که با اغلب مطالعات مشابه بود.^(۲۳،۱۱،۱۰،۵)

نتیجه گیری

به نظر می رسد در مبتلایان به کم کاری تیروئید فراوانی لیکن پلان دهانی از جمعیت نرمال بیشتر است.

References:

- 1-Robledo-Sierra J, Landin-Wilhelmsen K, Filipsson Nyström H, Eggertsen R, Larsson L, Dafar A, et al. A mechanistic linkage between oral lichen planus and autoimmune thyroid disease. *Oral Dis* 2018;24(6):1001-11
- 2-Garcia-pola MJ, Llorente-pendas S, Seoane-Romero JM, Berasaluce MJ, Garcia-Martin JM. Thyroid Disease and oral lichen Planus as comorbidity: A Prospective Case-Control study. *Dermatology* 2016;232(2):214-9
- 3-Lopez-Jornet P, Parra-Perez F, Pons-fuster A. Association of autoimmune diseases with oral lichen planus: a cross-sectional, clinical study. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2014;28(7):895-899
- 4-Likar-Manookin K, Stewart C, Al-Hashimi I, Curtis W, Berg K, Lockhart PB, et al. Prevalence of oral lesions of autoimmune etiology in patients with primary Sjögren's syndrome. *Oral Dis* 2013;19:598-603
- 5-Lavaee F, Majd M. Evaluation of the association between oral lichen planus and Hypothyroidism, a Retrospective Comparative Study. *J Dent Shiraz Univ Med Sci* 2016;17(1):38-42
- 6-Siponen M, Huuskonen L, Iarla E, Salo T. Association of oral lichen planus with thyroid disease in a Finnish population: a retrospective case-control study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010;110:319-24
- 7-Contreras-Jurado C, Garcia-Serrano L, Gomez-Ferrera M, Costa C, Paramino JM, Aranda A. The thyroid hormone receptors as modulators of skin proliferation and inflammation. *J Biol Chem* 2011;286:4079-88
- 8-Atanaskova va Mesinkovska N, Brankov N, Piliang M, Kyei A, Bergfeld WF. Association of lichen planopilaris with thyroid disease: a retrospective case-control study. *J Am Acad Dermatol* 2014;70:889-92
- 9-Campilato D, Paderni C, Di Fede O, Gulatta G, Campisi G. Association of oral lichen planus with thyroid diseases in a Finnish population: a retrospective case-control study: A Different finding from a Mediterranean area. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011;11:12-3
- 10-Lorenzo LM, Andrea S, Giuseppina C, Maria Grazia L, Gianfranco F. Possible link between Hashimoto's thyroiditis and oral lichen planus: a novel association found. *Clin Oral Invest* 2013;17(1):333-6
- 11-Robledo-Sierra J, Mattsson U, Jontell M. Use of systemic medication in patients with oral lichen planus: a possible association with hypothyroidism. *Oral Diseases* 2013;19(3):313-9
- 12-Robledo-Sierra J, Landin-Wilhelmsen K, Nyström HF, Mattsson U, Jontell M. Clinical characteristics of patients with concomitant oral lichen planus and thyroid disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2015;120(5):602-8
- 13-Al-Hashimi I, Schifter M, Lockhart PB, Wray D, Brennan M, Migliorati CA, et al. Oral lichen planus and oral lichenoid lesions: diagnostic and therapeutic considerations. *Oral Surg Oral Med Oral Radiol Endod* 2007;103:12
- 14-Li D, Li J, Li C, Chen Q, Hua H. The Association of thyroid disease and Oral Lichen planus: A literature Review and Meta-Analysis. *Front Endocrinol* 2017;9:8:310
- 15-Hirota SK, Moreno RA, Dos Santos CH, Seo J, Migliari DA. Analysis of a possible association between oral lichen planus and drug intake: a controlled study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011;16(6):750-6.
- 16-Kragelund C, Thomson CE, Bardow A, Pederson AM, Nauntafte B, Reibel J, et al. Oral lichen planus and intake of drugs metabolized by polymorphic cytochrome P-450 Enzymes. *Oral Dis* 2003;9(4):177-87
- 17-Ebrahimi M, Lundqvist L, Wahlin YB, Nylander E. Mucosal lichen planus, a systemic disease requiring multi-disciplinary care: a cross-sectional clinical review from a multi-disciplinary perspective. *Dis* 2012;16:337-80
- 18-Chang JY, Chiang CP, Hsiao CK, Sun A. Significantly higher frequencies of presence of serum autoantibodies in Chinese patients with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2009;38(1):48-54
- 19-Lin HP, Wang YP, Chia JS, Sun A. Modulation of serum anti-thyroglobulin and anti thyroid microsomal auto antibody levels by levamisole in patients with oral lichen planus. *J Formos Med Assoc* 2011;110(3):169-74
- 20-Wucherpfenning KW, Strominger JL. Selective binding of self peptides to disease-associated major histocompatibility complex (MHC) molecules: A Mechanism for MHC-Linked susceptibility to human autoimmune disease. *J Exp Med* 1995;181(5):1597-601.
- 21-Stassi G, Di Liberto D, Todaro M, Zeuner A, Ricci Vitiani L, Stoppacciaro A, et al. Control of target cell survival in thyroid autoimmunity by Thelper cytokines via regulation of apoptotic proteins. *Nat Immunol* 2000;1(6):483-8
- 22-Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ, Zhao ZZ, Zhou XJ, Khan A, et al. The pathogenesis of oral lichen planus. *Crit Rev Oral Bio Med* 2002;13(4):350-65