

بررسی بیان گیرنده فاکتور رشدی اپیدرمال (EGFR) در کیستهای ادنتوزنیک: مطالعه مقایسه ای بین کیست دنتی ژروس و ادنتوزنیک کراتوسیست

دکتر ریحانه شورگشتی^۱، دکتر دنیا صدری^۲، دکتر ساره فرهادی^۳

۱-دندانپزشک

۲-استاد گروه آسیب شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳-استادیار گروه آسیب شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی، تهران، ایران

پذیرش مقاله: ۹۹/۳/۱۱

اصلاح نهایی: ۹۹/۲/۲۷

وصول مقاله: ۱۳۹۹/۱/۴

Expression of Epidermal Growth Factor Receptor by Odontogenic Cysts: A comparative Study of Dentigerous Cyst and Odontogenic Keratocyst

Ryhaneh Shorghashti¹, Donia Sadri², Sareh Farhadi³

¹Dentist

² Prof. Oral & Maxillofacial Pathology Dept, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

³Assistant Prof. Oral & Maxillofacial Pathology Dept, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: March 2020 ; Accepted : June 2020

Abstract:

Background and Aim: Compare with Dentigerous cyst, Odontogenic Keratocyst is one of exclusive developmental cyst with unique clinical and histopathologic features. Considering the determining role of epidermal growth factor receptor (EGFR) in cell proliferation and survival, and the controversial results of previous studies regarding the expression of this marker by the odontogenic cysts, this study aimed to compare the expression of EGFR marker by Dentigerous cyst (DC) and odontogenic Keratocyst (OKC) as two lesions with more common neoplastic transformation.

Material and methods: In this experimental study, 49 specimens (23 DCs and 26 OKCs) were evaluated. Immunohistochemical staining was performed using EGFR antibody. Evaluation of EGFR expression was made regarding to Tie-JUN Li et al. So, The location of EGFR expression in the epithelial cells (Basal layers, Suprabasal & basal , All layeres) were assessed through histopathologic sections.. Data were analyzed using the Mann-Whitney test, t-test and chi-square test.

Results: In The present Study, of 49 evaluated cases, the mean percentage of EGFR expression was $58.20 \pm 17.97\%$ in the 23 DC and $78.05 \pm 19.27\%$ in the 26 OKC specimens. The EGFR expression of OKC was significantly higher than DC ($P=0.001$). However, the Mann-Whitney test showed no significant difference regarding EGFR score ($P=0.144$). The chi-square test revealed no significant difference in expression of EGFR in the basal layer, basal and suprabasal layers and all layers ($P=0.524$).

Conclusions: The expression of EGFR marker in OKC was significantly higher than in DC, which may justify the progressive growth potential of OKC.

Key words: Dentigerous cyst, Odontogenic Keratocyst, Odontogenic cyst

*Corresponding Author: dr.sfarhadi@gmail.com

J Res Dent Sci. 2020; 17 (2) : 127-136

خلاصه:

سابقه و هدف: در مقایسه با کیست دنتی ژروس، ادنتوژنیک کراتوسیستیک یک شکل منحصر به فرد از کیست های رشدی- تکاملی با ویژگی های هیستوپاتولوژیک و رفتار بالینی خاص است. با توجه نقش تعیین کننده ی گیرنده فاکتور رشدی اپیدرمال (EGFR) در پرولیفراسیون و بقای سلولی و وجود نتایج متناقض در مطالعات پیشین در خصوص بیان این نشانگر در کیست های ادنتوژنیک مطالعه حاضر با هدف بررسی این فاکتور در کیست دنتی ژروس و ادنتوژنیک کراتوسیستیک به عنوان دو ضایعه با تغییرات نئوپلاستیک بیشتر انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی در مجموع ۴۹ نمونه (۲۳ عدد کیست دنتی ژروس و ۲۶ عدد ادنتوژنیک کراتوسیست) مورد بررسی قرار گرفت و رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی EGFR بر روی مقاطع بافتی نمونه های مذکور انجام شد. ارزیابی بیان EGFR طبق روش توصیف شده Tie-Jun Li و همکاران صورت گرفت. در ضمن رنگ پذیری سلول های اپی تلیالی بر اساس محل (Basal layers، Suprabasal & basal layers و All layers) نیز در مقاطع میکروسکوپی ارزیابی گردید. جهت تحلیل آماری یافته ها از آزمون های Mann-Whitney و T-test، Chi-Square استفاده شد.

یافته ها: در مطالعه حاضر مشاهده شد که از ۴۹ نمونه مورد بررسی، میانگین درصد بروز EGFR در کیست دنتی ژروس برابر با ۵۸/۲۰±۱۷/۹۷ و در نمونه های ادنتوژنیک کراتوسیست برابر با ۷۸/۰۵±۱۹/۲۷ بود. (P=۰/۰۰۱) اختلاف آماری معناداری بین کیست دنتی ژروس و ادنتوژنیک کراتوسیست از لحاظ EGFR Score وجود نداشت. (P=۰/۱۴۴) همچنین بر اساس تفاوتی از لحاظ بروز EGFR در لایه بازال، لایه بازال و سوپرابازال و تمامی لایه ها در کیست دنتی ژروس و ادنتوژنیک کراتوسیست نیز مشاهده نشد. (P=۰/۵۲۴)

نتیجه گیری: به نظر می رسد، میزان بیان نشانگر EGFR در ادنتوژنیک کراتوسیست به طور معناداری بیشتر از کیست دنتی ژروس بوده که می تواند توجیه کننده پتانسیل رشدی فزاینده ادنتوژنیک کراتوسیست باشد.

کلید واژه ها: کیست دنتی ژروس، ادنتوژنیک کراتوسیست، کیست ادنتوژنیک

مقدمه:

(mucoepidermoid carcinoma) از سلول های موکوسی

موجود در پوشش این ضایعه ایجاد می گردند.^(۱) در مقایسه با کیست دنتی ژروس، ادنتوژنیک کراتوسیستیک (OKC) یک شکل منحصر به فرد از کیست های رشدی- تکاملی با ویژگی های هیستوپاتولوژیک و رفتار بالینی خاص است که برای اولین بار در سال ۱۹۵۶ توسط Philipsen توصیف شد. این ضایعه برخلاف دیگر کیست های ادنتوژنیک، اغلب تمایل به عود بعد از درمان و رشد قدامی- خلفی در حفره مغز استخوان دارد، به طوری که اتساع واضح استخوانی دیده نمی شود و در موارد بسیار نادر، تا ناحیه بیس اسکال گسترش یافته اند. به نظر می رسد، برخلاف سایر ضایعات کیستیک، رشد OKC ها با عوامل ژنتیکی سلول های اپی تلیالی مرتبط باشد و در مقایسه با کیست های ادنتوژنیک

کیست های ادنتوژنیک به عنوان ضایعاتی که از اپی تلیوم ادنتوژنیک منشا می گیرند، بیانگر یک شکل متداول آسیب شناسی فکین هستند.^(۳-۱) کیست دنتی ژروس (DC) که به عنوان یک کیست فولیکولار نیز شناخته می شود، دومین کیست شایع ادنتوژنیک پس از کیست رادیکولار، همچنین رایج ترین کیست ادنتوژنیک رشدی- تکاملی است و حدود ۲۰ درصد کل کیست های مفروش با اپی تلیوم فکین را تشکیل می دهد.^(۴-۷) عود بندرت بعد از حذف کامل کیست اتفاق می افتد و پیش آگهی اکثر DC ها عالی است. مطالب بسیاری در مورد احتمال تغییر نئوپلاستیک پوشش DC به آملوبلاستوما وجو دارد اما شیوع آن پایین است. بعلاوه، احتمالاً تعدادی از موکوپیدرموئیدهای داخل استخوانی (intraosseous

فعال شدن EGFR-mediated در مسیر PI3K/Akt باعث مقاومت سلول در برابر آپوپتوز می‌گردد.^(۱۴-۱۲) EGFR در بسیاری از تومورها من جمله سینه، پروستات، تخمدان، سروگردن فعالیت بیشتری از حد بروز می‌دهد و در پاتوژنز بسیاری از انواع سرطان‌ها دخیل شناخته شده است. بیان بیش از حد ژن‌های مرتبط با EGFR، باعث حساسیت بیش از حد سلول‌ها به سطح طبیعی فاکتور رشد می‌گردد. جهش در نتیجه‌ی بیان بیش از حد EGFR با پیشرفت انواع سرطان مرتبط نشان داده شده است. حدود ۳۰ درصد تومورهای توپر تغییرات ژنتیکی حاصل از عملکرد EGFR را نشان می‌دهند و برخی از سلول‌های تومورال نیز "اعتیاد به انکوژن" (oncogene addiction) نشان می‌دهند، به این معنا که این سلول‌ها برای بقا و رشد به سیگنالینگ EGFR وابسته هستند، مفهومی که توسط Weinstein مطرح شد.^(۱۳) سیگنالینگ EGFR با تحولات بدخیمی همراه است و باعث ایجاد فنوتیپ‌هایی خاص در سلول‌ها می‌گردد. به نظر می‌رسد بیان بیش از حد EGFR یکی از عوامل پیش‌آگهی منفی در انواع مختلف تومورها است و همچنین سبب کاهش بقا در سرطان‌هایی چون مثانه، گردن رحم، تخمدان، مری و سرطان‌های سر و گردن می‌گردد. جهش در نتیجه‌ی بیان بیش از حد EGFR با پیشرفت انواع سرطان مرتبط نشان داده شده است.^(۱۶-۱۲)

با توجه نقش تعیین‌کننده‌ی EGFR در سرطان‌های سر و گردن و پرولیفراسیون و بقای سلولی دارد و وجود نتایج متناقض در مطالعات پیشین در خصوص بیان این نشانگر در کیست‌های ادنتوژنیک، بررسی این عامل در این نوع از ضایعات ضروری به نظر می‌رسد. از طرفی با توجه به پتانسیل تغییرات نئوپلاسمی بالاتر دو ضایعه DC و OKC نسبت به سایر کیست‌های ادنتوژنیک، شیوع بالای DC و تمایل به عود و رفتار تهاجمی OKC، مطالعه حاضر با هدف بررسی مقایسه بیان نشانگر EGFR در دو کیست دنتی ژروس و ادنتوژنیک کراتوسیست پی ریزی گردید.

دیگر، بیان بسیار بالاتر Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) و Ki67 را به ویژه در لایه سوپرابازال نشان می‌دهد. همچنین آنالیز ژنتیکی heterozygosity Loss of (LOH) برای بسیاری از ژن‌های سرکوبگر تومور (P16, MCC, P53, TSLC1, FHIT, LATS2) در بسیاری از OKC‌ها نشان داده شده است. این ضایعه با بیان مارکرهای مختلف پرولیفراسیون در دیواره خود و جهش در ژن‌های P53 و PTCH باعث شده است تا برخی محققین از آن به عنوان یک نئوپلاسم خوش خیم کیستیک یاد کنند.^(۷-۱۰) در حال حاضر مدیریت بالینی OKC تنها متکی بر رویکرد جراحی است و با توجه به ماهیت دیواره نازک و شکننده این ضایعه، خارج‌سازی یکپارچه آن اغلب با مشکل همراه است. در حالی که شناسایی جهش‌هایی چون BRAF V600E در آملوبلاستوما و تومورهای ادنتوژنیک گزینه‌های درمانی هدفمندتر، علاوه بر جراحی فراهم آورده است، چنین بنظر می‌رسد که باوجود تمام تغییرات ژنتیکی شناخته شده در OKC تا به امروز، هنوز هم درک درستی از پس‌زمینه مولکولی این کیست منحصر به فرد ادنتوژنیک وجود ندارد^(۱۱) و نیازمند بررسی‌های بیشتر در این خصوص هستیم. مسلماً شناخت عوامل دخیل در رشد و تکامل این ضایعه می‌تواند کمک شایانی در پیشگیری و شناسایی بهنگام آن نماید و با فراهم ساختن فاکتورها و مسیرهای جدید برای مقابله با رشد و تکامل، افق‌های جدید درمانی به روی ما گشاید.

Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) از جمله فاکتورهای رشدی با وزن مولکولی ۱۷۰ kDa است که به خانواده‌ی از ترانس‌ممبران‌ها از RTK تعلق دارد و بطور طبیعی در سلول‌های اپی‌تلالی با سرعت تکثیر بالا بیان می‌شود EGFR. توسط دکتر استانی کوهن در سال ۱۹۶۲ کشف شد که نقش مهمی در بیولوژی تکامل، هموستاز بافتی، بقا، انتقال سیگنال، تراوایی غشای سلولی، کنترل تکثیر، مهاجرت و تمایز سلولی و بیولوژی سرطان دارد.^(۱۲)

مواد و روش ها:

در این مطالعه تجربی در مجموع ۴۹ نمونه (۲۳ عدد کیست دنتی ژروس و ۲۶ عدد ادنتوژنیک کراتوسیست) مورد بررسی قرار گرفت. از بافت اسکوآموس سل کارسینوم و مخاط نرمال دهان به عنوان کنترل مثبت و لاینینگ اندوتلیال عروق خونی، به عنوان کنترل منفی داخلی استفاده شد.^(۱۷)

از بلوک نمونه های دارای کیست های دنتی ژروس و ادنتوژنیک کراتوسیست، برش های ۵ میکرونی تهیه شد. پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین و مشاهده اسلایدها توسط دو پاتولوژیست دهان و فک و صورت، اسلایدهایی که دارای بافت کافی و فیکساسیون مناسب بودند، انتخاب شدند و نمونه های با خونریزی و آماس زیاد، التهاب و بافت ناکافی و یا مرتبط با عود ضایعات ادنتوژنیک از مطالعه خارج گردیدند.

آنالیز ایمنووهیستوشیمی EGFR با استفاده از تکنیک super sensitive one step polymer-HRP انجام شد. بلوک های پارافینی با ضخامت ۴-۵ میکرومتر برش داده شده و درون محلول ۳ (APES) aminopropylethoxysilane-قرار گرفتند. سپس مقاطع درون xylene و الکل با گرید پایین، پارافین زدایی و آبیگری مجدد شدند. در ۳ دوره ۸ دقیقه ای در حالی که مقاطع درون ظرف محتوی TRIS EDTA Buffer (PH - 8.0) در دمای ۹۶ درجه سانتی گراد قرار داشتند، با استفاده از سیستم commercial microwave antigen retrieval system، بازیابی آنتی ژن انجام شد. بعد از شستشو در PBC، مقاطع جهت ممانعت از فعالیت endogenous peroxidase، به مدت ۱۵ دقیقه در آب همراه با بلوک های peroxidase محتوی ۳ درصد H2O2، قرار گرفتند. این عمل با یک پاور بلاک ۲۰ دقیقه ای برای متوقف کردن هرگونه آنتی ژن غیراختصاصی در محل پیگیری شد و مقاطع به مدت یک ساعت در دمای اتاق با آنتی بادی optimally pre-diluted EGFR انکوبه شدند.

بعد از شست و شو با PBS، مجدداً با معرف polymer-HRP به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه سازی انجام شد و آشکارسازی با استفاده از DAB می که به تازگی آماده شده بود، صورت

پذیرفت (diaminobenzidine tetrahydrochloride).

در نهایت مقاطع با Harris hematoxylin رنگ آمیزی معکوس (counter-stained) شدند.^(۱۷)

ارزیابی بیان EGFR طبق روش توصیف شده Tie-Jun Li و همکاران انجام شد.^(۱۴) بر این اساس میانگین رنگ پذیری غشا و/یا سیتوپلاسم سلول های اپی تلیالی در ۵ شان تصادفی با درشت نمایی ۴۰۰ برابر بصورت درصد مثبت بیان می گردد و به شرح زیر رتبه بندی می شود:

5% <: عدم بیان نشانگر

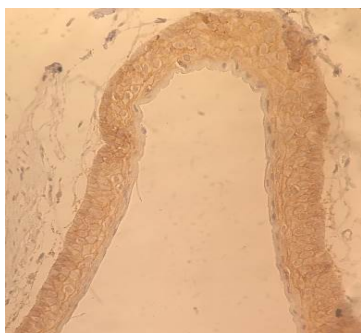
25%-5%: بیان ضعیف نشانگر

50%-26%: بیان متوسط نشانگر

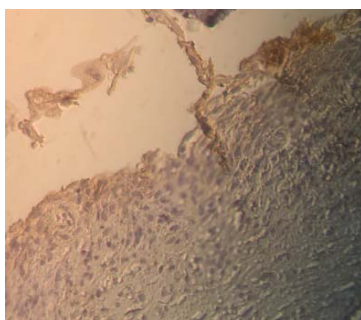
50% >: بیان شدید نشانگر

در ضمن رنگ پذیری سلول های اپی تلیالی بر اساس محل Basal layers (Basal layers & Suprabasal و All layers) در مقاطع میکروسکوپ ارزیابی گردید. (شکل ۱ و

(۲)



شکل ۱- بیان EGFR در کیست ادنتوژنیک با درشتنمایی ۱۰۰ برابر



شکل ۲- بیان EGFR در کیست دنتی ژروس با درشتنمایی ۴۰۰ برابر

در ادنتوزنیک کراتوسیست کمترین میزان درصد رنگ پذیری EGFR، ۲۳/۱ درصد و بیشترین میزان درصد رنگ پذیری ۹۸/۴ درصد بوده است. میانگین درصد رنگ پذیری در ادنتوزنیک کراتوسیست $78/05 \pm 19/27$ درصد می باشد.

جهت تحلیل آماری یافته‌ها از آزمون‌های Mann-U-Whitney، T-test و Chi-Square استفاده شد و حد معنی دار کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۱- توزیع فراوانی رنگ پذیری در دو ضایعه کیست دنتی

ژروس و ادنتوزنیک کراتوسیست

نوع ضایعه	تعداد نمونه	کمترین میزان رنگ پذیری	بیشترین میزان رنگ پذیری	میزان رنگ پذیری معیار (درصد)
کیست دنتی ژروس	۲۳	۱۱/۲	۸۲/۲	۵۸/۲۰۰
ادنتوزنیک کراتوسیست	۲۶	۲۳/۱	۹۸/۴	۷۸/۰۵۴

یافته‌ها:

در مطالعه حاضر مشاهده شد که از ۴۹ نمونه مورد بررسی میانگین درصد بروز EGFR در ۲۳ نمونه مربوط به کیست دنتی ژروس برابر با $58/20 \pm 17/97$ و در ۲۶ نمونه مربوط به ادنتوزنیک کراتوسیست برابر با $78/05 \pm 19/27$ بود. میزان بروز EGFR در این دو کیست طبق آزمون آماری T-test دارای اختلاف معناداری بود، بدین معنا که درصد بروز EGFR در ادنتوزنیک کراتوسیست به طور معناداری بیشتر از کیست دنتی ژروس بود. ($P=0/001$)

همانطور که در جدول ۱ نمایش داده شده است:

در کیست دنتی ژروس کمترین میزان درصد رنگ پذیری EGFR، ۱۱/۲ درصد و بیشترین میزان درصد رنگ پذیری ۸۲/۲ درصد بوده است. میانگین درصد رنگ پذیری در این ضایعه $58/20 \pm 17/97$ درصد می باشد.

مقایسه بیان EGFR براساس Score بندی نشانگر EGFR

نیز در بین ۴۹ نمونه موجود، مورد بررسی قرار گرفت.

همانطور که در جدول ۲ نمایش داده شده است:

جدول ۲: بررسی فراوانی و درصد نمونه براساس معیار Score بندی نشانگر EGFR در دو ضایعه کیست دنتی ژروس و ادنتوزنیک کراتوسیست

نوع ضایعه	تعداد	%>۵	%۲۵-۵	%۲۶-۵۰	%<۵۰	جمع کل
کیست دنتی ژروس (n=۲۳)	تعداد	۰	۱	۸	۱۴	۲۳
	درصد	%۰	%۴/۳	۳۴/۸	%۶۰/۹	%۱۰۰
ادنتوزنیک کراتوسیست (n=۲۶)	تعداد	۰	۱	۴	۲۱	۲۶
	درصد	%۰	%۳/۸	%۱۵/۴	۸۰/۸	%۱۰۰
جمع کل (n=۴۹)	تعداد	۰	۲	۱۲	۳۵	۴۹
	درصد	%۰	%۴/۱	%۲۴/۵	%۷۱/۴	%۱۰۰

محل بروز نشانگر نیز در دو ضایعه مورد بررسی قرار گرفته است و همان طور که در جدول ۳ نمایش داده شده است: در کیست دنتی ژروس بیش از نیمی از نمونه های موجود بیان نشانگر EGFR را در تمامی لایه ها نشان دادند ۷ نمونه بیان نشانگر را در لایه های بازال و سوپرابازال نشان دادند. و تنها یک نمونه از میان ۲۳ نمونه مورد بررسی بیان نشانگر EGFR را تنها در لایه بازال نشان داد. در نمونه های مربوط به ادنتوژنیک کراتوسیست، بیش از نیمی از نمونه های موجود بیان نشانگر EGFR را در تمامی لایه ها نشان دادند ۷ نمونه بیان نشانگر را در لایه های بازال و سوپرابازال نشان دادند و هیچ یک از نمونه های مورد بررسی بیان نشانگر EGFR را تنها در لایه بازال نشان نداد.

در ۲۳ نمونه کیست دنتی ژروس، هیچ یک از نمونه ها EGFR را کمتر از ۵ درصد بیان نمودند. در یک نمونه (۳/۴٪) بیان EGFR بین ۵ تا ۲۵ درصد بود. در ۸ نمونه (۳۴/۸٪) بیان EGFR بین ۲۶ تا ۵۰ درصد بود و تعداد ۱۴ نمونه (۶۰/۹٪) EGFR را بیش از ۵۰ درصد بیان نمودند. در ۲۶ نمونه ادنتوژنیک کراتوسیست نیز هیچ یک از نمونه ها EGFR را کمتر از ۵ درصد بیان نمودند. در یک نمونه (۳/۸٪) بیان EGFR بین ۵ تا ۲۵ درصد بود. در ۴ نمونه (۱۵/۴٪) بیان EGFR بین ۲۶ تا ۵۰ درصد بود و در ۲۱ نمونه (۸۰/۸٪) EGFR بیش از ۵۰ درصد بیان شده بود. بر اساس آزمون آماری Mann-U-Whitney، اختلاف آماری معناداری بین کیست دنتی ژروس و ادنتوژنیک کراتوسیست از لحاظ EGFR Score وجود نداشت. (P=۰/۱۴۴)

جدول ۳: بررسی فراوانی و درصد نمونه ها براساس محل بروز نشانگر EGFR در دو ضایعه کیست دنتی ژروس و ادنتوژنیک کراتوسیست

EGFR محل بروز نشانگر		لایه بازال	لایه بازال و سوپرابازال	تمام لایه ها	جمع کل
کیست دنتی ژروس	تعداد	۱	۷	۱۵	۲۳
	درصد	۴/۳٪	۳۰/۴٪	۶۵/۲٪	۱۰۰٪
ادنتوژنیک کراتوسیست	تعداد	۰	۷	۱۹	۲۶
	درصد	۰/۰٪	۲۶/۹٪	۷۳/۱٪	۱۰۰٪
جمع کل	تعداد	۱	۱۴	۳۴	۴۹
	درصد	۲/۰٪	۲۸/۶٪	۶۹/۴٪	۱۰۰٪

score «+++» قرار می گیرند و با توجه به اینکه در مطالعه حاضر اکثر نمونه های هر دو ضایعه دنتی ژروس و ادنتوژنیک کراتوسیست، درصد رنگ پذیری بیش از ۵۰ درصد را نشان داده اند (۱۴ نمونه از ۲۳ نمونه کیست دنتی ژروس (۶۰/۹٪) و ۲۱ نمونه از ۲۶ نمونه ادنتوژنیک کراتوسیست (۸۰/۸٪)، اکثریت نمونه ها در score مشابه قرار گرفته اند و به نظر می رسد که عدم وجود اختلاف معنا دار از لحاظ EGFR score بدین دلیل باشد و در صورت مقایسه به صورت درصدی اختلاف معناداری میان بیان نشانگر در دو ضایعه وجود خواهد داشت اما در صورت مقایسه بیان نشانگر از لحاظ EGFR Score اختلاف معناداری میان دو ضایعه وجود ندارد که این مهم، خود نقدی بر نحوه score بندی مطالعه Tie-Jun Li و همکاران خواهد بود.

در دو مطالعه Ma'rcia Gaiger de Oliveira و همکاران و Juan-Carlos de-Vicente و همکاران نیز که هر دو در سال ۲۰۱۰ انجام شده اند، نتایجی مشابه با مطالعه حاضر از نظر درصد بیان EGFR در دو ضایعه OKC و DC مشاهده می گردد. اما در مطالعه Ma'rcia Gaiger de Oliveira و همکاران، بر خلاف مطالعه حاضر، بیان نشانگر EGFR در سیتوپلاسم سلول های بازال و سوپرابازال OKC به طور معناداری بیش از DC بوده است که این اختلاف در لایه بازال دو ضایعه بارزتر است. در این مطالعه نشان داده شده است که اپی تلیوم OKC دارای بیشترین فعالیت پرولیفراتیو در مقایسه با DC و فولیکول پری کروئال است^(۱۸)

در مطالعه Juan-Carlos de-Vicente و همکاران نیز هم راستابا مطالعه حاضر، بیان نشانگر EGFR در ۷۳٪ از OKCها و تنها در ۴۰٪ از نمونه های DC مثبت بود. در این مطالعه بعد از بررسی بیان نشانگرهای EGFR، cyclin D1، Ki-67، p-53 و carcinoembryonic antigen (CEA) در نمونه های مربوط به ادنتوژنیک کراتوسیست، کیست دنتی ژروس، کیست رادیکولار و آملوبلاستوما برخی یافته ها می توانند از تئوری OKC به عنوان یک ضایعه نئوپلاستیک حمایت کنند و برخی دیگر از نتایج به وضوح تایید می کنند که این ضایعه یک

بر اساس آزمون آماری Chi-Square تفاوتی از لحاظ بروز EGFR در لایه بازال، لایه سوپرابازال و تمامی لایه ها در کیست دنتی ژروس و ادنتوژنیک کراتوسیست وجود نداشت. ($P=0/524$)

بحث:

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که درصد بروز نشانگر EGFR در ادنتوژنیک کراتوسیست به طور معناداری بیشتر از کیست دنتی ژروس است اما اختلاف آماری معناداری بین کیست دنتی ژروس و ادنتوژنیک کراتوسیست از نظر EGFR Score وجود نداشت. همچنین، تفاوتی از نظر بروز EGFR در لایه بازال، لایه بازال و سوپرابازال و تمامی لایه ها در کیست دنتی ژروس و ادنتوژنیک کراتوسیست مشاهده نشد.

در مطالعه Li و همکاران در سال ۱۹۹۳ مجموعاً ۳۵ عدد کیست ادنتوژنیک، ۶ عدد آملوبلاستوما و ۷ عدد پری آپیکال گرانولوما مورد بررسی قرار گرفت و بطور کلی با حرکت از لایه بازال به سمت لایه های سطحی تر پوشش کیست یا centre of epithelial rests و جزایر تومور، رنگ پذیری سلول های اپی تلیالی بطور پیشرونده ای کاهش یافت.^(۱۴) از این نظر، در مطالعه حاضر تفاوتی مشاهده نشد که این تفاوت می تواند ناشی از نحوه بررسی در مطالعه حاضر باشد بدین معنا که ما هر لایه را بصورت تفکیک شده مورد بررسی قرار نداده پس از لایه بازال، لایه بازال به همراه سوپرابازال و در نهایت تمام لایه ها با هم بررسی شده اند که روش بررسی متفاوتی نسبت به مطالعات پیشین می باشد.

همچنین در مطالعه Li و همکاران از ۳ کلون متفاوت از EGFR استفاده شده است و در هر سه کلون مشابه با مطالعه حاضر، نمونه های مربوط به OKC درصد و شدت رنگ پذیری بیشتری را نسبت به کیست دنتی ژروس بروز دادند.^(۱۴)

بر طبق معیار score بندی مطالعه Li و همکاران تمامی نمونه های با رنگ پذیری بیش از ۵۰ درصد سلول ها در

هیچ یک از نمونه های یک گروه مورد بررسی قابل تامل به نظر می رسد.

همچنین در مطالعه Fatemeh Asareh و همکاران در سال ۲۰۱۶ که با هدف بررسی HER2/NEU (یکی از گیرنده های عضو خانواده EGFR) در OKC و فولیکول دندانی صورت پذیرفته است، مشاهده شد که در میان ۱۳ نمونه OKC، تنها یک نمونه بیان متوسط و ۳ نمونه بیان ضعیف این نشانگر را داشته اند و در باقی نمونه ها و ۱۵ نمونه فولیکول دندانی بیان این نشانگر مشاهده نشده است و ایشان نتیجه گرفتند که این عضو از خانواده EGFR نقشی در پیشرفت و تکامل این ضایعات نداشته باشد.^(۲۱)

EGFR گیرنده ای است که در پاتوژنز بسیاری از سرطان ها دخیل شناخته شده است. بیان بیش از حد ژن های مرتبط با این گیرنده در بسیاری از نئوپلاسم ها مشاهده می شود. با توجه به ماهیت عملکردی EGFR به عنوان گیرنده ای سطح سلولی که توانایی بالقوه جهت کنترل مسیرهای مربوط به پرولیفراسیون سلولی، حیات و بقای سلول دارد؛ چنین به نظر می رسد که بیان بیشتر آن در ضایعه ای چون ادنتوژنیک کراتوسیست با رفتار تهاجمی و تمایل به عود بالا که حتی برای سالیان طولانی توسط برخی محققین به عنوان یک تومور ادنتوژنیک و یک نئوپلاسم خوش خیم شناخته می شده است، در مقایسه با کیست دنتی ژروس که به عنوان ضایعه ای شایع اما با پیش آگهی عالی و تمایل به عود اندک شناخته می شود، تاییدی بر قابلیت رشد فزاینده این ضایعه پاتولوژیک باشد.
(۱۵-۱۲، ۷)

در برخی مطالعات از جمله مطالعه حاضر، ادنتوژنیک کراتوسیست، همچنین در مقایسه با کیست دنتی ژروس و فولیکول پری کرومال دارای بالاترین میزان پرولیفراسیون سلولی بوده است.^(۱۸) در واقع اپی تلیوم OKC، واکنشی مثبت به EGFR نشان داده و تمایل شدید لایه های آن برای رنگ پذیری در مقایسه با دنتی ژروس منجر به این استنتاج می شود که OKC یک پتانسیل رشد ذاتی در مقایسه با دیگر کیست های ادنتوژنیک داشته باشد.^(۲۲) همچنین، سایر

ضایعه رشدی- تکاملی با برخی از خصوصیات نئوپلاستیک به دلیل پتانسیل بالای رشد ذاتی است.^(۱۹)

از سوی دیگر در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۲ توسط Cláudia Kallás GONÇALVES و همکاران انجام شده است، طی بررسی ۲۲ عدد کیست دنتی ژروس، ۱۷ عدد KOT و ۳۵ عدد کیست رادیکولار، همه نمونه ها به طور مشخص EGFR، p63 و Notch-1 را بیان کرده اند و ارتباط مثبتی میان این ایمونومارکرها مشاهده گردیده است اما ۹۴/۱۲ درصد از نمونه های OKC و ۹۵/۲۴ درصد کیست های دنتی ژروس بیشترین بیان EGFR را نشان دادند. همچنین ۷۵ درصد OKC ها و ۷۶/۱۹ درصد DC ها، EGFR را به صورت شدیدی بیان نمودند و به نظر می رسد که اختلافی از نظر بیان و شدت بروز این نشانگر در دو ضایعه وجود نداشته باشد و حتی DCها بیان و شدتی کمی بیش از OKC ها نمایش داده باشند که مغایر با نتایج مطالعه حاضر می باشد و به نظر می رسد تفاوت در تعداد نمونه های دو گروه و همچنین در نظر نگرفتن score حد واسط برای مقایسه و تنها اکتفا کردن به سه score جهت مقایسه درصد بیان (عدم بیان، بیان کم، بیان زیاد) و تنها دو score برای مقایسه شدت بیان نشانگر (ضعیف و شدید)، موجب مقایسه ای ناکافی و نتایج حاصل شده باشد. همچنین یافته های این مطالعه نمایانگر مشارکت EGFR، p63 و Notch-1 در تکامل، پایداری و یکپارچگی اپی تلیوم کیست های ادنتوژنیک بود.^(۲۰)

در مطالعه ی Razavy و همکاران در سال ۲۰۱۵ نیز، در مقایسه بیان Bcl-2 و EGFR در OKC، DC و آملوبلاستوما، هیچ یک از نمونه های مربوط به OKC نشانگر EGFR را بروز نداد و بیان EGFR در لایه پریفرال آملوبلاستوما و لایه بازال دنتی ژروس بیشترین مقدار بود.^(۱۶) تفاوت مشاهده شده در نتایج حاصل از این مطالعه با مطالعه حاضر می تواند ناشی از تفاوت در تکنیک های رنگ آمیزی مربوطه باشد. در مطالعه مذکور از تکنیک Biotin-Stereotavidin و در مطالعه حاضر از تکنیک super sensitive one step polymer-HRP استفاده شده است. اما با این وجود عدم بیان این نشانگر در

پرولیفراسیون سلولی و حیات سلول ها، در این ضایعه نیز می تواند بر روند رشد فزاینده آن موثر باشد. نتیجه گیری:

در مطالعه حاضر، میزان بیان نشانگر EGFR در ادنتوژنیک کراتوسیست به طور معناداری بیشتر از کیست دنتی ژروس بوده است که می تواند یکپارچه موارد توجیه کننده پتانسیل رشدی فزاینده ادنتوژنیک کراتو سیست باشد؛ هرچند بررسی سایر فاکتورهای رشدی موثر نیز ضروری می باشد.

References:

1. P b, G dao, M f, L s, V a, Gi, et al. Surgical Management of Large Odontogenic Cysts of the Mandible. *J Craniofac Surg*. 2019;30(7):e658-e61.
2. K A, CS S, KS E. Pediatric Odontogenic Cysts of the Jaws. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2016;28(1):21-30.
3. Kondamari SK, Taneeru S, Guttikonda VR, Masabattula GK. Ameloblastoma arising in the wall of dentigerous cyst: Report of a rare entity. *J Oral Maxillofac Pathol* 2018;22(Suppl 1):S7-S10.
4. V M, M K, A N. Convolutions of dentigerous cyst: An institutional experience. *J Exp Ther Oncol*. 2019;13(1):65-70.
5. Ö Ö, AE S, T Y. Huge Dentigerous Cyst in the Maxillary Sinus: A Rare Case in Childhood. *Turk Arch Otorhinolaryngol*. 2019;57(1):54-56.
6. MA B, J K, J N, RG B. The dentigerous cyst: two different treatment options illustrated by two cases. *Swiss Dent J*. 2019;129(3):193-203.
7. Brad W. Neville, Damm DD, Allen CM, Chi AC. *Oral and Maxillofacial Pathology*. 4th ed: Elsevier; 2016.
8. D s, F s, S f, Z s, Z m. Angiogenesis concept in odontogenic keratocyst: A comparative study. *Indian J Dent Res*. 2017;28(3):275.
9. D S, S F, Z S, S S. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Odontogenic Cysts: Is There Any Impression on Clinical Outcome? *Open Dent J*. 2016;10:752-9.
10. NP A, BM C, L B, D L, D A, P S, et al. Molecular analysis to demonstrate that odontogenic keratocysts are neoplastic. *Arch Pathol Lab Med*. 2004;128(3):313-7.
11. YH C, ES C, HE K, J2 K, W N, HJ K, et al. Frequent oncogenic BRAF V600E mutation in odontogenic keratocyst. *Oral oncology*. 2017;74:62-67.
12. Rajaram P, Chandra P, Ticku S, Pallavi B, Rudresh K, Mansabdar P. Epidermal growth factor receptor: Role in human cancer. *Indian Journal of Dental Research* 2017;28(6):687-94.

نشانه‌های رشدی و عروقی همچون P53, Ki67, TGF α , Cyclin D1, VEGFR و CD34 نیز در OKC در مقایسه با کیست دنتی ژروس بیان بیشتری از خود نشان می دهند که می تواند حمایت کننده فرضیه ارائه شده باشد. (۸، ۱۸، ۱۹، ۲۳) در توجیه علمی می توان گفت TGF α و EGF هر دو در سلول های اندوتلیال، فیروبلاست ها و سلول های التهابی بروز می یابند و بروز افتراقی TGF و EGF بین انواع مختلف کیست ها می تواند نمایانگر نقش این فاکتورهای رشدی (چه از طریق اتوکراین، پاراکراین و یا هر دو) در پاتوژنز آن ها باشد. (۲۳) ادنتوژنیک کراتوسیست یک شکل منحصر به فرد از کیست های ادنتوژنیک رشدی تکاملی است چرا که ویژگی های هیستوپاتولوژیک و رفتار کلینیکی ویژه ای نشان می دهد. این ضایعه با پتانسیل رفتاری تهاجمی و عود بالا نیازمند توجه ویژه ای می باشد. (۷، ۱۰) مدیریت بالینی حال حاضر برای OKC کاملاً وابسته به رویکرد جراحی است. در حالی که تغییرات ژنتیکی مختلفی از قبیل جهش در ژن PTCH1 و از بین رفتن هتروزیگوزیتی در ژن های سرکوبگر تومور در این ضایعه گزارش شده است اما پس زمینه مولکولی OKC به خوبی درک نگردیده است. شناسایی اخیر جهش BRAF V600E و متعاقب آن فعال شدن مسیر پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن (mitogen-activated protein kinase (MAPK)) در آملوبلاستوما و تومورهای ادنتوژنیک، گزینه های اضافی را برای درمان های targeted therapeutics فراهم می کند، اما پس زمینه مولکولی ادنتوژنیک کراتوسیست هنوز هم ناشناخته باقی مانده است. (۱۱) و نیازمند بررسی های بیشتر است.

شناخت فاکتورهای دخیل در رشد و تکامل این ضایعه می تواند کمک شایانی در پیشگیری و شناسایی زودهنگام آن نماید و همچنین با فراهم ساختن فاکتورها و مسیرهای جدید برای مقابله با رشد و تکامل، افق های جدیدی را در درمان به روی ما خواهد گشود. در این خصوص، نظر به این که در مطالعه حاضر بیان EGFR در سلول های OKC درصد بالاتری را نسبت به کیست دنتی ژروس نشان داد، به نظر می رسد EGFR با اثر بر

13. BA S, AB M, SA J, MN Y, D D, OG Y, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) is overexpressed in anaplastic thyroid cancer, and the EGFR inhibitor gefitinib inhibits the growth of anaplastic thyroid cancer. *Clin Cancer Res*. 2004;10(24):8594-602.
14. Li T-J, Browne RM, Matthews JB. Expression of epidermal growth factor receptors by odontogenic jaw cysts. *Virchows Archiv A Pathol Anat*. 1993;423(2):137-44.
15. M I, N I, P H, A H, A G, R AdS, et al. Targeting Degradation of EGFR through the Allosteric Site Leads to Cancer Cell Detachment-Promoted Death. *Cancers (Basel)*. 2019 ;11(8):1094.
16. SM R, N T, MR M, S S, S G, S N. Expression of Bcl-2 and epithelial growth factor receptor proteins in keratocystic odontogenictumor in comparison with dentigerous cyst and ameloblastoma. *Dent Res J (Isfahan)*. 2015;12(4):342-7.
17. M BC, A PV. Quantitative and qualitative analysis of epidermal growth factor receptor expression in pericoronal follicles in predicting proliferative potential. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2014;33:908-16.
18. O MrGd, L IdS, C ACIM, R PV, F MSA. Odontogenic Epithelium: Immunolabeling of Ki-67, EGFR and Survivin in Pericoronal Follicles, Dentigerous Cysts and Keratocystic Odontogenic Tumors. *Head and Neck Pathology*. 2010: 5(1):1-7.
19. de-Vicente J-C, Torre-Iturraspe A, Gutiérrez A-M, Lequerica-Fernández P. Immunohistochemical comparative study of the odontogenic keratocysts and other odontogenic lesions. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010;15(5):e709-15.
20. G CK, F ER, L JE, S VSY, P DEdC. Immunohistochemical Expression of p63, Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) and Notch-1 in Radicular Cysts, Dentigerous Cysts and Keratocystic Odontogenic Tumors. *Braz Dent J*. 2012;23(4):337-43.
21. A f, H a, H Mh. The Immunohistochemical Expression Of HER2/NEU In Odontogenic Keratocyst (OKC) And Dental Follicle. *International Journal of Current Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences*. 2016;6(7):11-20.
22. Shear M. The aggressive nature of the odontogenic keratocyst: is it a benign cystic neoplasm? Part 3. Immunocytochemistry of cytokeratin and other epithelial cell markers. *Oral Oncology*. 2002;38(5):407-15.
23. Li T, Browne RM, Matthews JB. Immunocytochemical expression of growth factors by odontogenic jaw cysts. *J Clin Pathol: Mol Pathol*. 1997;50(1):21-7.