تحقیقی

مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان/ دوره ۲۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹، ۱۸۲-۱۸۹

بررسی ایمونوهیستوشیمیایی پروتئین‌های P_{53} و $ki\text{-}_{67}$ در نمونه‌هایی از کیست‌های ادنتوژنیک التهابی و تکاملی

دکتر مریم خلیلی[۱]- دکتر پوریا مطهری[۲]- دکتر مریم افشاریان‌زاده[۳]

۱- عضو مرکزتحقیقات دندانپزشکی و استادیار گروه آموزشی آسیب‌شناسی دهان وفک وصورت دانشکده‌دندانپزشکی‌دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- استادیار گروه آموزشی آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- دندانپزشک

چکیده

زمینه و هدف: *به نظر می‌رسد مکانیسم رشد و رفتار بیولوژیک متفاوت کیست‌های ادنتوژنیک ناشی از تفاوت در میزان تظاهرمولکول‌ها و پروتئین‌های مختلف باشد. هدف از مطالعه حاضر تعیین میزان اکسپرشن پروتئین‌های P_{53} و $ki\text{-}_{67}$ در کیست‌های رادیکولر (RC)، دانتی ژور ملتهب (IDC)، غیرملتهب (NIDC) و کراتوسیست (OKC) می‌باشد.*

روش بررسی: *در این مطالعه توصیفی مقطعی ۱۳ کیست رادیکولر، ده کیست دانتی ژور غیرملتهب، ۱۵ کیست ملتهب و ۱۹ OKC انتخاب و به روش ایمونوهیستوشیمی برای دومارکر $ki\text{-}_{67}$ و P_{53} رنگ آمیزی شدند. سلول‌های رنگ گرفته با بزرگنمایی ۴۰۰× میکروسکوپ نوری مورد شمارش قرار گرفتند. از آزمونهای آماری Kruskal-Wallis و Mann-Whitney برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید.*

یافته‌ها: *P_{53} در هیچ یک از نمونه‌های DC و RC دیده نشد و در ۶/۷٪ از SIDC و ۵۷/۹٪ از OKC مشاهده شد. میانگین بروز آن در OKC برابر ۲۷/۶۸ ±۱۷/۳۱و در IDC برابر ۱/۰۳ ± ۰/۲۷ درصد بود. بین OKC و سایر کیست‌ها تفاوت معنی‌داری از نظر بروز این پروتئین وجود داشت. (P=۰/۰۰۶) $ki\text{-}_{67}$ در ۸۴/۶٪، ۷۳/۷٪، ۶۶/۶٪ و ۴۴٪ از کیست‌های RC, OKC، IDC و NIDC دیده شد. بین کیست دانتی ژور غیرملتهب و OKC همچنین کیست دانتی ژور ملتهب و غیرملتهب (P=۰/۰۴۸) و نیز کیست رادیکولرو و دانتی ژور ملتهب از نظر بروز این پروتئین تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید. (P= ۰/۰۴۶)*

نتیجه‌گیری: *بر اساس نتایج مطالعه حاضر بروز نشانگرهای P_{53} و $ki\text{-}_{67}$ با رفتار بیولوژیک و همچنین فعالیت پرولیفراتیو کیست‌های ادونتوژنیک مرتبط می‌باشد.*

کلید واژه‌ها: *P53 ± Ki-67 ± کیست ادونتوژن ± کیست فکی.*

وصول مقاله: ۱۳۸۹/۱/۳۱ اصلاح نهایی: ۱۳۸۹/۴/۲۸ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۶/۱۶

نویسنده مسئول: دکتر مریم خلیلی، عضو مرکز تحقیقات دندانپزشکی و گروه آموزشی آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

e.mail:mkhalili@tums.ac.ir

مقدمه

کیست‌های ادنتوژن از جمله شایعترین ضایعات حفره دهان و استخوانهای فکین محسوب می‌شوند. این ضایعات بر اساس منشأ و پاتوژنز به دو دسته رشدی تکاملی و التهابی تقسیم‌بندی می‌گردند. کیست‌های ادنتوژنیک التهابی در نتیجه آماس ایجاد می‌شوند در صورتی که مکانیزم ایجاد کیست‌های رشدی تعاملی نامشخص است. (۱)، پرولیفراسیون اپی‌تلیال با منشأ ادنتوژن وجه مشترک تمامی این ضایعات است. سرعت و نحوه رشد و تکثیر اپی‌تلیوم می‌تواند مشخص کننده مشی بالینی کیست نیز باشد.

برای مثال، ادنتوژنیک کراتوسیست و کیست دنتی جروس هر دو از کیست‌های رشدی تکاملی محسوب می‌شوند. معذالک کراتوسیست رفتار بیولوژیک کاملاً متفاوتی از خود نشان می‌دهد. هر چند دلیل قطعی برای عود بالای این کیست مشخص نشده است گفته شده که احتمالاً فعالیت پرولیفراتیو

Archive of SID

www.SID.ir

اپی تلیوم این کیست می‌تواند به عنوان یک عامل مهم محسوب گردد. (۲)، اخیراً شواهد و نشانه‌هایی دال بر رفتار نئوپلاستیک این کیست وجود دارد که باعث جداشدن آن از تقسیم بندی کیست‌ها در طبقه‌بندی اخیر WHO گردیده است. (۳)، مطالعات بسیاری به بررسی تفاوتهای موجود بین کیست‌های ادنتوژنیک و عوامل مولکولی دخیل در این مسئله پرداخته‌اند. از این دسته می‌توان به تحقیقهایی بر روی پروتئین‌های چرخه سلولی، عوامل مؤثر بر آپوپتوز، عوامل رشد و مارکرهای مختلف پرولیفراسیون سلولی اشاره کرد. (۴- ۸) بیشترین مطالعات بر روی P_{53} به عنوان پروتئینی با چندین نقش متفاوت صورت گرفته است. (۹- ۱۱)، علاوه برآن عوامل مؤثر در پرولیفراسیون سلولی نیز به روشهای مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌اند. مطالعاتی نیز به بررسی همزمان این دو عامل پرداخته‌اند. چرا که در حقیقت رشد و تکثیر سلولی متأثر از عوامل مختلفی است و به طور عمده حاصل برآیند نقش عوامل تکثیری و عوامل آپوپتوتیک می‌باشد. (۱۲- ۱۵)

به دلیل اهمیت بالینی کراتوسیست (OKC)، به بررسی و مقایسه این کیست با سایر کیست‌های ادنتوژنیک خصوصاً کیست‌های رشدی تکاملی نظیر دنتی جروس بیشتر پرداخته شده است. (۱۶- ۱۸)، البته مطالعاتی نیز بر روی کیست‌های ادنتوژنیک تکاملی و التهابی خصوصاً رادیکولر انجام شده است. معذالک در اکثر این مطالعات توجهی به فرآیند آماسی شدن کیست‌های رشدی تکاملی نشده است. کیست‌های رشدی تکاملی خصوصاً OKC و کیست دنتی جروس می‌توانند به طور ثانویه دچار التهاب گردند و این مسئله در پاره‌ای مواقع حتی تصویر هیستوپاتولوژیک ضایعه را دچار تغییر می‌سازد. (۱)، دیده شده که التهاب می‌تواند بر روی میزان بروز مارکرهای مولکولی نیز تأثیرگذار باشد. امّا اطلاعات در این زمینه اندک است. (۱۹- ۲۱)، با در نظر گرفتن موارد فوق مطالعه حاضر با هدف ارزیابی و مقایسه میزان Expression دو پروتئین P_{53} وki_{-67} در OKC، کیست دنتی جروس با و بدون التهاب و کیست رادیکولر انجام شد.

روش بررسی

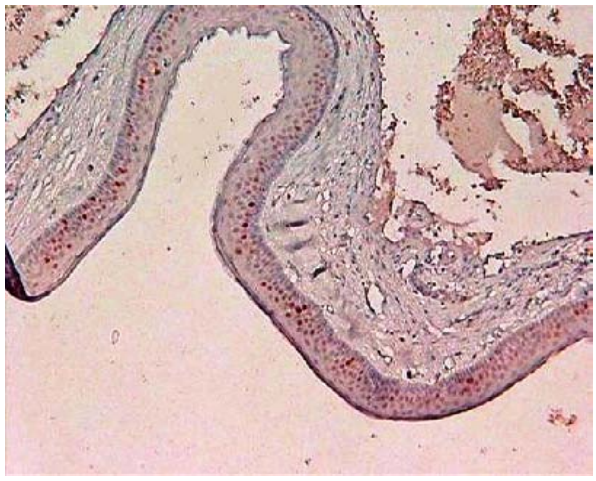
مطالعه حاضر به روش توصیفی و مقطعی انجام گردید. جامعه مورد مطالعه نمونه کیست‌های ادنتوژنیک موجود در بخش آسیب‌شناسی دهان و فک دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران بود. ابتدا کلیه پرونده‌های موجود در بایگانی بخش در فاصله سالهای ۱۳۷۶- ۱۳۸۴ مورد بررسی قرار گرفت و موارد کیست‌های مورد بررسی مجزا گردید. اسلایدهای H&E مربوط به این موارد مورد مطالعه قرار گرفت و تشخیص هیستوپاتولوژیک بر اساس معیارهای موجود تأیید شد. در مورد کیست دنتی جروس التهابی سعی شد از نمونه‌هایی استفاه شود که کاملاً مشابه یک کیست رادیکولر بوده و با فرض مشخص موجود نبودن اطلاعات بالینی و رادیوگرافیک تشخیص کیست التهابی برای آن در نظر گرفته شود. با در نظر گرفتن مواردی نظیر وجود بافت کافی در بلوک پارافینی، ضخامت و میزان کافی اپی‌تلیوم در نمونه رنگ‌آمیزی شده با H&E، وجود حداقل خونریزی و وجود اطلاعات مربوط به متغیرهای زمینه‌ای (سن، جنس و محل ضایعه) در نهایت ۵۷ مورد جهت رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی انتخاب شدند.

از بلوک‌های پارافینی هر نمونه دو مقطع به ضخامت پنج میکرون تهیه و بر روی لام شیشه‌ای آماده شده با پلی‌الایزین قرارگرفت. برای رنگ‌آمیزی از روش استاندارد Streptavidin- immunoperoxidase-Biotin استفاده شد. به طور خلاصه، ابتدا مقاطع تهیه شده توسط گزیلن دپارافینه و با استفاده از محلولهای الکلی رقیق شده رهیدراته شدند. از فعالیت پراکسیداز اندوژن به وسیله انکوباسیون نمونه‌ها با پراکسیدهیدروژن ۳٪ در متانول به مدت سی دقیقه ممانعت به عمل آمد. برای Antigen retrieval نمونه‌ها ۱۵ دقیقه در بافر سیترات ۰/۰۱ مولار و ۶= Ph با درجه بالا میکروویو شدند. پس از آن شستشو برای سه بار متوالی هر بار به مدت پنج دقیقه با Tris Buffer Sulfate انجام گردید. برای جلوگیری از واکنشهای غیراختصاصی مقاطع با سرم ۱۰٪ به مدت ده دقیقه انکوبه شدند. سپس واکنش با آنتی‌بادی‌های

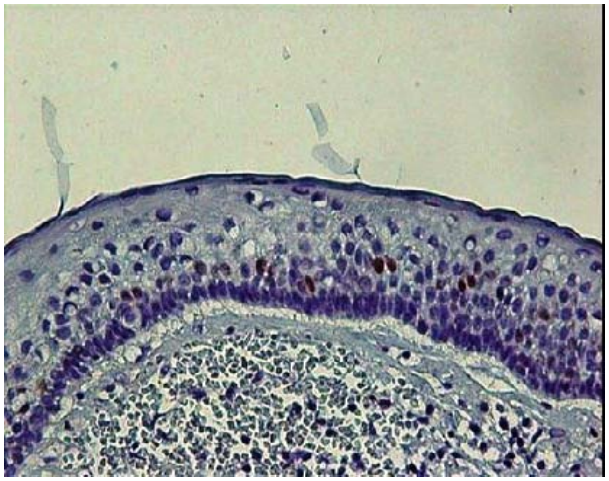
Archive of SID
www.SID.ir

P_{53}, ki_{-67}, (Prediluted , Dako, Copenhagen , Denmark) به مدت یک ساعت در دمای اتاق انجام شد. در مرحله بعد نمونه‌ها با PBS در سه نوبت پنج دقیقه‌ای شستشو داده شدند. واکنش با آنتی‌بادی ثانویه در دمای اتاق به مدت سی دقیقه صورت گرفت و مجدداً شستشو با PBS انجام گردید. پس از آن نمونه‌ها با DAB به مدت ۵- ۱۰ دقیقه انکوبه و با هماتوکسیلین Mayer's به عنوان Counterstain رنگ‌آمیزی شدند. کنترل مثبت برای هر دو مارکر نمونه مثبت شده‌ای از کارسینوم پستان بود. کنترل منفی با جایگزینی سرم موشی non- reactive به جای آنتی‌بادی اولیّه حاصل گردید.

مقاطع رنگ‌آمیزی شده برای پروتئین‌های P_{53} و ki_{-67} در زیر میکروسکوپ نوری مورد مشاهده قرار گرفت و سلولهای به رنگ قهوه‌ای به‌عنوان مثبت در نظر گرفته شدند. (شکل ۱و۲) شمارش سلولی در بزرگنمایی ۴۰۰ x انجام و به دو روش کمی یا LI (Labeling index) شامل نسبت سلول‌های رنگ گرفته به هزار سلول (۲۲) و غیر کمی شامل نسبت سلول‌های رنگ گرفته به کل سلول‌ها انجام شد. بر این اساس میزان سلول‌های رنگ‌گرفته ۰٪- ۵٪ منفی، ۵٪- ۲۵٪ +، ۲۵٪ - ۵۰٪ ++ و بیش از ۵۰٪ +++ در نظر گرفته شد. (۲۳) جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون Kolmogorov- Smirnov استفاده شد. به دلیل غیرنرمال



شکل ۱: رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیا یی ki-67 در OKC سلول‌های تیره رنگ مثبت در نظر گرفته می شوند (بزرگنمایی صد برابر)



شکل ۲: Expression پروتئین ki-67 در OKC (بزرگنمایی چهارصد برابر)

بودن توزیع داده‌ها از آزمونهای آماری غیرپارامتری Kruskall-Wallis (برای به دست آوردن مرتبه میانی هر یک از پروتئین‌ها) و Mann-Whitney (برای ارزیابی همبستگی بین پروتئین‌ها) با $P< ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری استفاده گردید.

یافته‌ها

پس از رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی با مارکرهای ki_{-67} و P_{53} در چهار کیست OKC. رادیکولر (RC)، دانتی‌ژور با و بدون التهاب (به ترتیب IDC وNIDC) نتایج زیر به دست آمد:

الف) یافته‌های بالینی:

در این مطالعه ۱۳ کیست رادیکولر، OKC۱۹، ده مورد کیست دانتی‌ژور بدون التهاب و ۱۵ نمونه کیست دانتی ژور ملتهب مورد بررسی قرار گرفت. اطلاعات مربوط به سن، جنس و محل ضایعات در جداول ۱- ۳ قابل مشاهده است.

ب) یافته‌های مربوط به IHC:

- نتایج مربوط به پروتئین P_{53}:

در هیچ یک از کیست‌های رادیکولر پروتئین P_{53} مشاهده نشد. بروز این پروتئین در ۵۷/۹ از موارد OKC دیده شد. هیچ یک از موارد کیست دانتی‌ژور غیرملتهب این پروتئین را

Archive of SID
www.SID.ir

نشان ندادند. امّا Expression پروتئین در ۶/۷٪ معادل یک مورد از نمونه‌های کیست دانتی‌ژور ملتهب دیده شد. از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین OKC و سایر کیست‌ها وجود داشت. (P=۰ /۰۰۶) بین سایر کیست‌ها از نظر بروز این پروتئین اختلاف آماری مشاهده نشد.

– نتایج مربوط به پروتئین ki_{-67}:

Expression این پروتئین در ۸۴/۶٪ از کیست‌های رادیکولر معادل ۱۱ مورد از ۱۳ نمونه، ۷۳/۷٪ از OKC برابر۱۴ مورد از ۱۹ نمونه،۴۴٪ از DC و ۶۶/۶٪ از IDCها مشاهده شد. بین DC و DC،OKC و IDC (P=۰/۰۴۸)و IDC و کیست رادیکولر (P=۰/۰۴۶) تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد. همچنین در هیچ یک از کیست‌های مورد مطالعه ارتباط آماری معنی‌داری بین دو مارکر P_{53} و ki_{-67} مشاهده نگردید. مقادیر کمی Expression مارکرهای مورد بررسی در جدول ۴ قابل مشاهده است.

جدول ۱: توزیع فراوانی کیست‌های ادنتوژنیک بر حسب محل ضایعه

محل / ضایعه	قدام فک بالا n	قدام فک بالا ٪	خلف فک بالا n	خلف فک بالا ٪	قدام فک پایین n	قدام فک پایین ٪	خلف فک پایین n	خلف فک پایین ٪	جمع n	جمع ٪
کیست رادیکولر	۱	۷/۷	۲	۷/۷	۰	۰	۱۱	۸۴/۶	۱۳	۱۰۰
ادنتوژنیک کراتوسیست	۴	۲۱/۱	۲	۱۰/۵	۱	۵/۳	۱۱	۵۷/۹	۱۸*	۹۴/۷
دانتی ژور بدون التهاب	۳	۳۰	۳	۳۰/۰	۰	۰	۴	۴۰/۰	۱۰	۱۰۰
کیست دانتی ژور ملتهب	۲	۱۳/۳	۳	۱۳/۳	۶	۴۰	۵	۳۳/۳	۱۵	۱۰۰

* در یک مورد محل قید نشده بود.

جدول ۲: اطلاعات مربوط به سن در نمونه‌های مورد مطالعه (بر حسب سال)

ضایعه	تعداد	بیشینه	کمینه	متوسط	انحراف معیار
کیست رادیکولر	۱۳	۶۷/۰۰	۸/۰۰	۴۰/۰۰۰	۱۷/۵۴۵۱
کراتوسیست	۱۹	۶۸/۰۰	۱۰/۰۰	۳۳/۲۱۰۵	۱۵/۴۲۵۷
دانتی ژور بدون التهاب	۱۰	۵۷/۰۰	۱۶/۰۰	۳۳/۱۲۵۰	۱۴/۷۴۰۰
کیست دانتی ژور ملتهب	۱۵	۵۴/۰۰	۹/۰۰	۲۳/۰۶۶۷	۱۳/۰۵۷۳

جدول ۳: اطلاعات مربوط به جنس در نمونه‌های مورد مطالعه

جنس / ضایعه	زن تعداد	زن درصد	مرد تعداد	مرد درصد	جمع تعداد	جمع درصد
کیست رادیکولر	۹	۶۹/۲	۴	۳۰/۸	۱۳	۱۰۰
کراتوسیست	۵	۲۶/۳	۱۳	۶۸/۴	۱۸*	*۹۴/۷
دانتی ژور بدون التهاب	۲	۲۰/.	۸	۸۰/۰	۱۰	۱۰۰
کیست دانتی ژور ملتهب	۸	۵۳/۳	۷	۴۶/۷	۱۵	۱۰۰

* در یک مورد جنس بیمار قید نشده بود.

www.SID.ir

جدول ۴: میزان Expression پروتئین‌های مورد بررسی به تفکیک هر ضایعه به صورت کمّی (درصد)

ضایعه	نوع مارکر	تعداد	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار
رادیکولر	P_{53}	۱۳	۰	۰	۰/۰	۰/۰
	Ki_{67}	۱۳	۰	۵۰	۱۷/۳۰	۱۶/۵۳
OKC	P_{53}	۱۹	۰	۱۰۰	۱۷/۳۱	۲۷/۶۸
	Ki_{67}	۱۹	۰	۱۰۰	۱۷/۷۸	۲۳/۹۴
DC	P_{53}	۱۰	۰	۰	۰	۰/۰
	Ki_{67}	۹	۰	۱۰	۲/۴۴	۳/۴۳
IDC	P_{53}	۱۵	۰	۴	۰/۲۷	۱/۰۳
	Ki_{67}	۱۵	۰	۲۵	۱۱/۳۳	۱۰/۰۸

بحث

مطالعات بسیاری به بررسی نقش P_{53} در ضایعات مختلف پرداخته‌اند. این پروتئین دارای نقشهای متفاوتی می‌باشد و در هنگام آسیب DNA از طریق سایر مولکول‌ها باعث دو روند جدا از هم یعنی توقف چرخه سلولی و آپوپتوز می‌شود. پروتئین P_{53} نیمه عمر کوتاهی در حد بیست دقیقه دارد. بنابراین آنچه به عنوان این پروتئین توسط تکنیک ایمونوهیستوشیمی مورد بررسی قرار می‌گیرد، پروتئین غیر نرمال است که به علت موتاسیون در ژن مربوطه و یا به علت تجمع پروتئین غیرفانکشنال اتفاق می‌افتد. نتایج مطالعه حاضر نشانگر تفاوت Expression این پروتئین در OKC نسبت به سایر کیست‌های مورد بررسی است. Ogden و همکاران در سال ۱۹۹۲ نشان دادند که OKC دارای سلول‌های P_{53}^{+} است در حالی‌که کیست رادیکولر و کیست دانتی‌ژور فاقد آن می‌باشند. (۲۳)، همچنین نتیجه مطالعات Li نشان داد که سلول‌های P_{53}^{+} در هر سه کیست OKC، رادیکولر و دنتی جروس وجود دارد امّا شدت رنگ پذیری در OKC به طور قابل توجهی از سایر کیست‌ها بیشتر است. (۶)، پس از آن Piattelli وهمکاران ضمن بیان همین نتیجه در مطالعه خود تفاوت Expression این پروتئین را در OKC با و بدون دیسپلازی نیز نشان دادند. (۹)، نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات قبلی هماهنگ می‌باشد با این تفاوت که در این مطالعه شمارش سلول‌های مثبت بدون توجه به شدت رنگ‌پذیری انجام شد. همچنین بین بروز P_{53} و ki_{67} ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نشد. Slootweg و همکاران شدت رنگ‌پذیری سلولها را نیز در نظر گرفتند و به این نتیجه رسیدند که سلولهای P_{53} مثبت با رنگ‌پذیری بالاتر دارای پرولیفراسیون بیشتری نیز می‌باشند. (۱۳)، Ozveren و همکاران نیز تفاوت Expression این پروتئین را در بین کیست‌های مختلف ادنتوژنیک بررسی کردند و به نتایج مشابهی دست یافتند. (۱۱)، اخیراً Poomsawat و همکاران نیز در مطالعه خود افزایش بروز P_{53} را در OKC نشان دادند. (۱۰)، امّا نتایج بررسی Carvalhais و همکاران بر روی کیست‌ها و تومورهای ادنتوژنیک حاکی از آن بود که بروز P_{53} در ضایعات ادنتوژنیک متفاوت نمی‌باشد. (۵)

از مجموع مطالعات فوق می‌توان نتیجه گرفت که پروتئین P_{53} ممکن است نقش مهم ومؤثری در روند تشکیل کیست‌های ادنتوژنیک ایفا نماید. افزایش قابل توجه این پروتئین در OKC می‌تواند توجیه کننده مشی بالینی متفاوت این کیست باشد. از طرف دیگر با توجه به نقش اثبات شده این پروتئین در تومورهای ادنتوژنیک و غیر ادنتوژنیک، می‌تواند ماهیت نئوپلاستیک این ضایعه را تأیید نماید. این فرضیه توسط Agaram و همکاران، همچنین Shear و همکاران مورد تأیید قرار گرفته است. (۳، ۱۶)

اخیراً Gurgel و همکاران نیز با بررسی بروز ki_{67} و P_{53} و P_{63} در OKC به این نتیجه رسیدند که روند پرولیفراسیون

www.SID.ir

اپی تلیال در این کیست بیشتر به نفع ماهیت تومورال ضایعه می‌باشد. (۱۸)، البته باید خاطر نشان ساخت که در مطالعه حاضر مقایسه بین کیست‌ها و تومورها انجام نپذیرفته است. بنابراین نتیجه‌گیری مستقیم در رابطه با ماهیت تومورال OKC از این مطالعه امکان پذیر نمی‌باشد. امّا با توجه به عدم بروز این پروتئین در تمامی کیست‌ها به جز OKC تفاوت مشی بیولوژیک این ضایعه را می‌توان توجیه کرد.

همان‌طور که گفته شد مهمترین تفاوت مطالعه حاضر با مطالعاتی که در این زمینه انجام شده‌اند مقایسه کیست دانتی‌ژور ملتهب و غیر ملتهب می‌باشد. از آنجایی‌که تفاوت آماری معنی‌داری بین کیست‌های التهابی و غیرالتهابی دانتی‌ژور و نیز کیست رادیکولر مشاهده نشد، می‌توان نتیجه گرفت که التهاب و مدیاتورهای آماسی بر روی این پروتئین اثری نداشته یا اثر یکدیگر را متعادل می‌نمایند. به عبارت دیگر ممکن است چندین مدیاتور آماسی در این زمینه مداخله نمایند و اثر تداخلی آنها منجر به عدم تأثیر بر روی Expression پروتئین P_{53} گردد. نتایج این مطالعه با نتایج حاصل از مطالعه Clark و همکاران مطابقت دارد. (۲۱)

اگرچه P_{53} به طور غیرمستقیم در پرولیفراسیون سلولی نقش دارد امّا برای اندازه‌گیری میزان فعالیت پرولیفراتیو سلول‌ها روشهای مختلفی پیشنهاد شده است. بر این اساس دو مارکر PCNA و ki_{-67} در کیست‌های ادنتوژنیک بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. نکته بسیار مهم در مطالعه حاضر افزایش قابل ملاحظه بروز ki_{-67} در کیست دانتی‌ژور ملتهب نسبت به غیرملتهب بود. همچنین میزان Expression این پروتئین در کیست رادیکولر از سایر انواع کیست‌ها بیشتر بود. در نتیجه مسئله تأثیر التهاب بر روی پرولیفراسیون سلولی مطرح می‌گردد. از آنجایی که آماس و ترمیم دو فرآیند وابسته به هم می‌باشند افزایش مدیاتورهای آماسی با تأثیر بر چرخه سلولی باعث افزایش پرولیفراسیون می‌گردد. نتایج حاصل از مطالعه Suzuki و همکاران نیز مؤید همین مسئله است. (۲۲)، Kaplan و همکاران Expression آنتی‌ژن ki_{-67} را در OKC و رابطهٔ آن را با آماس مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که افزایش کانونی بروز این آنتی ژن در مناطق با آماس متوسط تا شدید وجود دارد. امّا تأثیری بر روی میزان پرولیفراسیون در کل ضایعه ندارد. (۲۰)، نتایج مشابهی نیز در مطالعه Clark و همکاران دیده شد. (۲۱)، معذالک Batista de Paula و همکاران در مطالعه خود به منظور تعیین نقش آماس در پرولیفراسیون سلولی، Expression هر دو مارکر PCNA و ki_{-67} را در OKC های آماسی و غیر آماسی بررسی کرده و نتیجه گرفتند که فعالیت پرولیفراتیو سلول‌های اپی تلیالی در OKC التهابی بالاتر می‌باشد. (۱۹)، در مطالعه حاضر، افزایش ki_{-67} در OKC نیز دیده شد که تحت تأثیر مکانیزمی جداگانه از آماس و به دلیل ماهیت و مشی کلینیکی متفاوت این کیست می‌باشد. Slootweg و همکاران با مطالعه این مارکر در کیست‌ها و تومورهای ادنتوژنیک نیتجه گرفتند که این پروتئین در آملوبلا ستوما و OKC مشابه بوده و از کیست رادیکولر و دنتی جروس بیشتر شده است. (۱۳)، مطالعات Kichi و همکاران و Sun و همکاران نیز در همین راستا می‌باشد. (۷و۱۲)، de Oliviera و همکاران نیز میزان بروز PCNA در کیست رادیکولر و دنتی جروس را علی‌رغم منشأ متفاوت آنها یکسان گزارش کردند. در این مطالعه OKC بالاترین میزان بروز PCNA را نشان داد. (۱۴)، البته در این مطالعه نیز همانند سایر مطالعات ملتهب یا غیرملتهب بودن کیست دنتی جروس مورد بررسی قرار نگرفته بود و نتایج حاصل از مطالعه حاضر بررسی جدا کردن دو ضایعه مزبور می‌تواند به واقعیت نزدیکتر باشد. اخیراً Gadbail و همکاران ایندکس پرولیفراسیون واقعی Actual proliferating index کیست‌های ادنتوژنیک را با اندازه‌گیری LI ki_{-67} و شمارش AgNOR محاسبه کردند و به این نتیجه رسیدند که شمارش AgNOR و بروز پروتئین P_{53} در ضایعات ادنتوژنیک می‌تواند عامل مهمی در پیش‌آگهی و مشی بالینی محسوب گردد. (۱۵)، در مطالعه حاضر ارتباطی بین دو مارکر مشاهده نشد و به نظر می‌رسد که این مسئله حاکی از دو مسیر متفاوت عملکرد این دو عامل در پرولیفراسیون سلولی باشد. Ogden و همکاران با رنگ‌آمیزی با PCNA نشان دادند که سلولهای P_{53}^{+}

Archive of SID
www.SID.ir

فعالانه در حال تقسیم می‌باشند. (۲۳)، Slootweg و همکاران نیز توزیع مکانی مشابهی برای سلولهای $ki\text{-}67^{+}$ و P_{53}^{+} مشاهده کردند. (۱۳)، به نظر می‌رسد که مکانیزم این روند به دلیل مهار نقش محدود کننده رشد P_{53} نرمال و به دنبال آن افزایش فعالیت پرولیفراتیو سلولی می‌باشد. البته ممکن است عوامل واسطه‌ای نیز در این میان نقش داشته باشند که ضرورت مطالعات بیشتر را خاطر نشان می‌سازد.

نتیجه‌گیری

بالاتر بودن P_{53} و $ki\text{-}67$ در مطالعه حاضر می‌تواند توجیهی برای مشی بالینی متفاوت این ضایعه باشد. همچنین نتایج در رابطه با $ki\text{-}67$ نمایانگر نقش آماس در افزایش فعالیت پرولیفراتیو جدار کیست‌ها می‌باشد. چنین نقشی در رابطه با P_{53} مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۲۹۷۰ و با پشتیبانی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام پذیرفت. ضمناً از آقای دکتر محمد جواد خرازی‌فرد مشاور آماری طرح تشکر و قدر دانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Neville B , Damm DD, Allen CM , Bouquot J. Oral & Maxillofacial Pathology. WB Saunders: St Louis; 2009, 678-688.
2. Kim DK, Ahn SG, Kim J, Yoon JH. Comparative Ki-67 expression and apoptosis in the odontogenic keratocyst associated with or without an impacted tooth in addition to unilocular and multilocular varieties. Yonsei Med J. 2003 Oct; 44(5):841-6.
3. Shear M.The aggressive nature of the odontogenic keratocyst: Is it a benign cystic neoplasm? Part 2. Proliferation and genetic studies. Oral Oncol. 2002 Jun; 38(4):323-31.
4. Moreira PR, Guimarães MM, Guimarães AL, Diniz MG, Gomes CC, Brito JA, Gomez RS. Methylation of P16, P21, P27, RB1 and P53 genes in odontogenic keratocysts. J Oral Pathol Med. 2009 Jan; 38(1):99-103.
5. Carvalhais J, Aguiar M, Araújo V, Araújo N, Gomez R. P53 and MDM2 expression in odontogenic cysts and tumours. Oral Dis. 1999 Jul; 5(3):218-22.
6. Li TJ, Browne RM, Matthews JB. Immunocytochemical expression of growth factors by odontogenic jaw cysts. 0 RCB DMRO) HE ±
7. Kichi E, Enokiya Y, Muramatsu T, Hashimoto S, Inoue T, Abiko Y,Shimono M. Cell proliferation, apoptosis and apoptosis-related factors in odontogenic keratocysts and in dentigerous cysts. J Oral Pathol Med. 2005 May; 34(5):280-6.
8. Kimi K, Kumamoto H, Ooya K, Motegi K. Immunohistochemical analysis of cell-cycle- and apoptosis-related factors in lining epithelium of odontogenic keratocysts. J Oral Pathol Med. 2001 Aug; 30(7):434-42.
9. Piattelli A, Fioroni M, Santinelli A, Rubini C. P53 protein expression in odontogenic cysts. J Endod. 2001 Jul; 27(7):459-61.
10. Poomsawat S, Punyasingh J, Vejchapipat P. Immuno-histochemical expression of p53 protein and iNOS in odontogenic cysts. J Med Assoc Thai. 2009 Jul; 92(7):952-60.

Archive of SID
www.SID.ir

11. Özveren A, Tuskan C, Yaltirik M, Atalay B , Erseven G. Expression of the tumour suppressor gene p53 in odontogenic cysts.Turk J Med Sci. 2003 Sep; 33(4):243-7.
12. Sun M, Liao X, Wang Cell proliferation in odontogenic jaw cyst epithelium. Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2001Jun; 19(3):144-5, 157.
13. Slootweg PJ. P53 protein and Ki-67 reactivity in epithelial odontogenic lesions. An immunohistochemical study. J Oral Pathol Med. 1995 Oct;24(9):393-7.
14. De Oliveira MG, Lauxen Ida S, Chaves AC, Rados PV, Sant'Ana Filho M. Immunohistochemical analysis of the patterns of p53 and PCNA expression in odontogenic cystic lesions. Oral Med Oral Pathol Oral Cir Bucal. 2008 May; 13(5):E275-80.
15. Gadbail AR, Chaudhary M, Patil S, Gawande M.Actual Proliferating Index and p53 protein expression as prognostic marker in odontogenic cysts. Oral Dis. 2009 Oct;15(7):490-8.
16. Agaram NP, Collins BM, Barnes L, Lomago D, Aldeeb D, Swalsky P, Finkelstein S, Hunt JL .Molecular analysis to demonstrate that odontogenic keratocysts are neoplastic. Arch Pathol Lab Med. 2004 Mar; 128(3):313-7.
17. Stoll C, Stollenwerk C, Riediger D, Mittermayer C, Alfer J. Cytokeratin expression patterns for distinction of odontogenic keratocysts from dentigerous and radicular cysts.Oral Pathol Med. 2005 Oct; 34(9):558-64.
18. Gurgel CA, Ramos EA, Azevedo RA, Sarmento VA, da Silva Carvalho AM, dos Santos JN. Expression of Ki-67, p53 and p63 proteins in keratocyst odontogenic tumours: an immunohistochemical study. J Mol Histol. 2008 Jun; 39(3):311-6. Epub 2008 Feb 7.
19. de Paula AM, Carvalhais JN, Domingues MG, Barreto DC, Mesquita RA. Cell proliferation markers in the odontogenic keratocyst: effect of inflammation. J Oral Pathol Med. 2000 Nov;29(10):477-82.
20. Kaplan I, Hirshberg A. The correlation between epithelial cell proliferation and inflammation in odontogenic keratocyst.Oral Oncol. 2004 Nov; 40(10):985-91.
21. Clark P, Marker P, Bastian HL, Krogdahl A. Expression of p53, Ki-67, and EGFR in odontogenic keratocysts before and after decompression. J Oral Pathol Med. 2006 Oct;35(9):568-72.
22. Suzuki T, Kumamoto H, Kunimori K, Ooya K. Immunohistochemical analysis of apoptosis-related factors in lining epithelium of radicular cysts. J Oral Pathol Med. 2005 Jan;34(1):46-52.
23. Ogden GR, Chisholm DM, Kiddie RA, Lane DP.p53 protein in odontogenic cysts: Increased expression in some odontogenic keratocysts. J Clin Pathol. 1992 Nov;45(11):1007-10.

Archive of SID

www.SID.ir