

ارزیابی تراکم عروق خونی در کیست فولیکولار، تومور ادنتوژنیک کراتوسیست و آملوبلاستوما

صفورا سیفی**، شهریار شفاایه**، سیاوش قدیری***

* استادیار گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل

** استادیار گروه آسیب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل

*** دانشجوی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل

تاریخ ارائه مقاله: ۸۹/۸/۹ - تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۲۰

Evaluation of Microvessel Density in Follicular Cyst, Keratocystic Odontogenic Tumor, and Ameloblastoma

Safora Seifi**, Shahryar Shafaie**, Siavash Ghadiri***

* Assistant Professor, Dept of Oral & Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.

** Assistant Professor, Dept of Pathology, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.

*** Dental Student

Received: 31 October 2010; Accepted: 10 January 2011

Introduction: Ameloblastoma is a benign epithelial odontogenic tumor that exhibits a more aggressive behavior than follicular cyst and keratocystic odontogenic tumor. The purpose of the current study was detection and evaluation of microvessel density (MVD) effect on growth and clinical behavior of above odontogenic lesions with immunohistochemistry.

Materials & Methods: In this descriptive-analytic cross-sectional study, 45 paraffin blocks of mentioned lesions were selected and stained immunohistochemically with CD34. The mean MVD of each lesion in three microscopic fields was calculated separately and was evaluated in the two areas, adjacent and far from odontogenic epithelium and then were compared with one another. Mann-Whitney and Kruskal Wallis tests were used for the statistical analysis.

Results: Mean microvessel density was 40.8 ± 15.9 , 25.4 ± 5.3 , and 9.4 ± 3.52 in ameloblastoma, keratocystic odontogenic tumor, and follicular cyst, respectively. Mean microvessel density difference between the above mentioned lesions was statistically significant ($P < 0.001$). In all the odontogenic lesions, the microvessel density adjacent to odontogenic epithelium was higher than the areas far from the epithelium ($P = 0.001$).

Conclusion: The increase in microvessel density in ameloblastoma compared to keratocystic odontogenic tumor and follicular cyst can be one of the main factors in ameloblastoma aggressive behavior. Angiogenesis adjacent to odontogenic epithelium has a more prominent role in growth of follicular cyst and progression and aggressive behavior of odontogenic tumors.

Key words: Ameloblastoma, keratocystic odontogenic tumor, follicular cyst, immunohistochemistry, CD34.

Corresponding Author: sf_seify@yahoo.com

J Mash Dent Sch 2011; 35(1): 33-42.

چکیده

مقدمه: آملوبلاستوما تومور ادنتوژنیک خوش خیم اپی تلیالی بوده که رفتار تهاجمی تری نسبت به کیست فولیکولار و تومور ادنتوژنیک کراتوسیست دارد. هدف مطالعه حاضر تعیین و ارزیابی تاثیر تراکم عروق خونی بر رشد و رفتار بالینی ضایعات ادنتوژنیک فوق به روش ایمونوهیستوشیمی بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی-تحلیلی به روش مقطعی، ۴۵ بلوک پارافینه از ضایعات مذکور انتخاب شده و رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی با CD34 انجام شد. میانگین تراکم عروق خونی جهت هر ضایعه در سه فیلد میکروسکوپی و به طور جداگانه در دو ناحیه مجاور و دور از اپی تلیوم ادنتوژنیک جهت ضایعات فوق محاسبه و با یکدیگر مقایسه شد. نتایج با تست‌های آماری کروسکال والیس و من ویتنی تجزیه و تحلیل گردید.

مولف مسؤول، نشانی: بابل، دانشکده دندانپزشکی، گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت، تلفن: ۰۱۱۱ - ۲۲۹۲۴۹۸

E-mail: sf_seify@yahoo.com

یافته‌ها: میانگین تراکم عروق خونی در آمولوبلاستوما $40/8 \pm 15/9$ ، در تومور ادنتوزنیک کراتوسیست $25/4 \pm 5/3$ و در کیست فولیکولار $9/4 \pm 3/52$ بود. اختلاف آماری معنی‌داری در ارتباط با تراکم عروق خونی در ضایعات فوق مشاهده شد ($P < 0/001$). در تمامی ضایعات ادنتوزنیک، تراکم عروق خونی در نواحی مجاور به اپی‌تلیوم ادنتوزنیک بیشتر از نواحی دور از اپی‌تلیوم بود. ($P = 0/001$)

نتیجه‌گیری: از عوامل اصلی در رفتار تهاجمی تر آمولوبلاستوما نسبت به کیست فولیکولر و تومور ادنتوزنیک کراتوسیست ممکن است تراکم عروق خونی بیشتر آن باشد. آنژیوژنز مجاور به اپی‌تلیوم ادنتوزنیک نقش موثرتری در رشد کیست فولیکولر و پیشرفت و رفتار بالینی تهاجمی تر تومورهای ادنتوزنیک مذکور دارد.

واژه‌های کلیدی: آمولوبلاستوما، تومور ادنتوزنیک کراتوسیست، کیست فولیکولار، ایمونوهیستوشیمی، CD34.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۹۰ دوره ۳۵ / شماره ۱: ۴۲-۳۳.

مقدمه

ادنتوزنیک و استروما در بافت‌های تومورال ادنتوزنیک کمتر توجه شده است و تحقیقات قبلی منوط به اپی‌تلیوم و فاکتورهای موثر در پروليفراسیون و آپوپتوز شده است.^(۵) از عوامل اصلی جهت رشد اپی‌تلیوم ادنتوزنیک خونرسانی است. از آنجا که اپی‌تلیوم رگ خونی ندارد، در صورت عدم تامین خونرسانی از نسج همبندی دچار نکروز یا آپوپتوز می‌گردد.^(۶) در استرومای تومورال نیز میوفیبروبلاست‌ها و عروق خونی و سلول‌های آماسی وجود دارند. تومور جهت تهاجم و متاستاز معمولاً به حضور میوفیبروبلاست‌ها و عروق خونی وابسته است که در طی فرآیند توموروژنز افزایش می‌یابند.^(۷،۸)

آنژیوژنز عبارت است از تشکیل عروق خونی جدید از ساختار عروق خونی اولیه میزبان و مانند سرطان، فرایند پیچیده و چند مرحله‌ای است که شامل تخریب ماتریکس خارج سلولی، پروليفراسیون، مهاجرت سلول‌های آندوتلیالی، تمایز و آناستوموز عروق کوچک است.^(۹) در زمینه ملانوما^(۱۰)، کارسینوم سلول سنگفرشی^(۱۱)، تومورهای غدد بزاقی^(۱۲)، کارسینوم پستان^(۱۳) و کارسینوم پایپلری تیروئید^(۱۴) تحقیقاتی صورت گرفته است.

جهت سنجش تراکم عروق خونی در هر فیلد میکروسکوپی از نشانگرهای مختلف مانند CD34، CD31، CD105 و آنتی‌بادی‌هایی مانند VEGF، bFGF، Tek2 استفاده می‌شود. استفاده از نشانگرها در شناسایی عروق

کیست دانتی ژور (فولیکولار) از شایع‌ترین کیست‌های تکاملی ادنتوزنیک است که از تجمع مایع بین اپی‌تلیوم مینایی کاهش یافته و تاج دندان منشا می‌گیرد. درمان این کیست از طریق Eucleation است و دارای عود اندک بعد از درمان و پیش آگهی عالی است.^(۱)

ادنتوزنیک کراتوسیست، کیست ادنتوزنیک تکاملی منحصر به فرد از نظر هیستوپاتولوژی و بالینی بوده و دارای رفتار تهاجمی و تمایل به عود بالا است که در طبقه‌بندی جدید نوع پاراکراتینیزه آن به عنوان ضایعه ادنتوزنیک تومورال خوش‌خیم طبقه‌بندی شده است. مکانیسم رشد آن از طریق پروليفراسیون بالای اپی‌تلیالی و افزایش ماتریکس متالوپروتئین‌های همبندی است. درمان آن از طریق Eucleation و کورتاژ بوده و احتمال عود بعد از درمان در مطالعات مختلف ۶۲-۵٪ بیان شده است.^(۲،۳)

آمولوبلاستوما شایع‌ترین تومور خوش‌خیم اپی‌تلیالی ادنتوزنیک با رفتار تهاجمی موضعی است و برخی از محققان، آن را در رده تومورهای بینابینی طبقه‌بندی می‌کنند. درمان اصلی آن از طریق Marginal Resection (M.R) است و معمولاً نسبت به رادیوتراپی مقاوم بوده و احتمال عود بعد از M.R، ۱۵٪ گزارش شده است.^(۴)

به نظر می‌رسد امروزه به نسج همبندی در کیست‌های

هماتوکسیلین-اُوزین توسط پاتولوژیست دهان، اسلایدهایی که دارای بافت کافی و فیکساسیون مناسب بودند، انتخاب شدند. نمونه‌های با خونریزی و آماس زیاد و بافت ناکافی و مرتبط با عود ضایعات ادنتوزنیک فوق از مطالعه خارج شدند. کلیه ضایعات ادنتوزنیک فوق با بیوپسی اکسیژنال و تومور ادنتوزنیک کراتوسیست پاراکراتینیزه و غیرمرتبط با سندرم گورلین-گولتز در مطالعه وارد شدند.

بلوک‌های مناسب انتخاب شدند و جهت رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی با نشانگر CD34 برش‌های ۴ میکرونی از آنها تهیه شد. در مجموع ۴۵ بلوک پارافینه شامل ۱۵ مورد کیست فولیکولار، ۱۵ نمونه تومور ادنتوزنیک کراتوسیست و ۱۵ مورد آملوبلاستوما (۸ مورد فولیکولار و ۷ نمونه پلکسی فرم) انتخاب شدند که طبق تعاریف Neville^(۱۶) خصوصیات هیستوپاتولوژیکی ضایعات ادنتوزنیک فوق را دارا بودند. همچنین نمونه‌های دارای دو نوع شایع‌تر آملوبلاستوما (پلکسی فرم و فولیکولر) جهت مطالعه در نظر گرفته شدند. برش‌های بلوک‌های پارافینه ۴ میکرونی، ابتدا در گزین جهت پارافین‌زدایی و سپس برای آگیری در الکل با درجات مختلف قرار گرفتند و بعد از آن جهت بلوک فعالیت پراکسید، از داخلی در ۳٪ هیدروژن پراکساید با بافر فسفات قرار گرفتند. فرایند بازیافت آنتی ژن در میکروویو (پاناسونیک، ۱۳۸۰ وات) با فشار ۲ اتمسفر در ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت و تحت تاثیر آنتی‌بادی اولیه با Anti CD 34 (QBend 10, A/S, Glostrup, DAKO, Denmark) به مدت ۳۰ دقیقه و سپس آنتی‌بادی ثانویه (۱۵ دقیقه)، DAB (جهت واکنش رنگ‌پذیری)، هماتوکسیلین مایرز (جهت رنگ‌پذیری زمینه) قرار گرفت و بعد از هر مرحله در بافر فسفات قرار داده شد. بافت کارسینوم سلول

خونی نسبت به آنتی‌بادی‌های دیگر کاربردی‌تر است.^(۹) رنگ‌پذیری CD34 قوی‌تر از CD31 بوده و احتمال خطا و اشتباه رنگ‌پذیری کمتر است. CD34 سیالوموسین و گلیکوپروتئین منومریک KD ۱۲۰-۱۱۰ بوده و به عنوان مولکول چسبندگی و نشانگر پان اندوتلیالی می‌باشد و معمولاً رنگ‌پذیری شدیدتری با سلول‌های آندوتلیالی دارد. اگرچه برخی از محققان معتقدند CD34 قادر به افتراق عروق خونی اولیه میزبان و رگسازی جدید نمی‌باشد ولی کاربرد وسیعی در تعیین تراکم عروق خونی در ضایعات تومورال دارد.^(۱۵) تا به امروز مطالعات محدود و اندکی در زمینه نقش آنژیوژنز در ضایعات ادنتوزنیک صورت گرفته است به طوری که آنژیوژنز در کیست‌ها و تومورهای ادنتوزنیک ناشناخته باقی مانده است. لذا هدف مطالعه حاضر ارزیابی تاثیر تراکم عروق خونی بر رشد و رفتار بالینی ضایعات ادنتوزنیک فوق به روش ایمونوهیستوشیمی بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی تحلیلی به روش مقطعی، از طریق سرشماری کلیه فایل‌های آرشیو دانشکده دندانپزشکی بابل از سال‌های ۸۸-۸۲ و فایل‌های بیمارستان آموزشی و درمانی شهید بهشتی بابل از سال‌های ۸۸-۷۰ مورد بررسی قرار گرفت و پرونده بیماران با تشخیص ضایعات ادنتوزنیک شامل کیست دانتی‌ژور (فولیکولار)، تومور ادنتوزنیک کراتوسیست و آملوبلاستوما (Solid) خارج شد. اطلاعات بالینی شامل سن، جنس و محل ضایعات از پرونده بیماران استخراج شد و در جداولی ثبت گردید و سپس بلوک‌های پارافینه نمونه‌های مربوط خارج شد و جهت تایید تشخیص و ورود به مطالعه، از آنها برش ۵ میکرون برای رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اُوزین تهیه شد. پس از مشاهده اسلایدهای

Hot spotsهایی که در محیط بافت و در حد ۲ فاصله جزایر تومورال از Invasive front قرار گرفته بودند و در مورد تومور ادنتوزنیک کراتوسیست و کیست فولیکولر مناطقی با تراکم عروق خونی زیاد که از نواحی انتهایی بافت همبندی و یا مجاور با تراپکول استخوانی حداکثر ۲ میلی متر فاصله داشته، نظر گرفته شد.^(۱۸)

مشاهده کلیه اسلایدهای ایمونوهیستوشیمی توسط دو پاتولوژیست با میکروسکوپ دو چشمی انجام شد و هر دو پاتولوژیست در شمارش عروق خونی توافق داشتند. نتایج با آنالیزهای آماری کروسکال والیس و من ویتنی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت و $P < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۸ مورد کیست فولیکولار در جنس مذکر و ۷ نمونه در جنس مونث، ۲ مورد در فک بالا و ۱۳ نمونه در فک پایین با میانگین سن درگیری $22/3 \pm 4/8$ سال وجود داشت. ۱۵ مورد تومور ادنتوزنیک کراتوسیست در فک پایین قرار داشت، ۱۲ نمونه در جنس مذکر و ۳ مورد در جنس مونث با میانگین سنی $28/2 \pm 2/3$ سال، مشاهده شد. ۱۴ نمونه آملوبلاستوما در فک پایین و ۱ مورد در فک بالا مشاهده شد که ۶ نمونه در جنس مذکر و ۹ مورد در جنس مونث با میانگین سنی $36/4 \pm 2/7$ سال بود. تصاویر ۴-۱ مربوط به رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی ضایعات فوق می‌باشد. نتایج مربوط به تراکم عروق خونی در ضایعات یاد شده در جدول ۱ خلاصه شده است.

در آملوبلاستوما عروق خونی به تعداد فراوان و با اندازه کوچک و بعضی با نمای آناستوموز دهنده بیشتر در اطراف جزایر تومورال آملوبلاستومایی مشاهده شدند در حالی که در کیست فولیکولار و تومور ادنتوزنیک کراتوسیست، تعداد عروق خونی کمتر با اندازه نسبتاً

سنگفرشی به عنوان شاهد مثبت و شاهد منفی حذف آنتی‌بادی اولیه و جایگزینی با PBS بود، همچنین از ۴ مورد مخاط نرمال دهان اطراف هیپرکراتوزیس به عنوان کنترل مثبت داخلی استفاده شد.

ارزیابی کمی عروق خونی طبق روش توصیف شده Weidner و همکاران^(۱۷) انجام شد. به طور خلاصه همه ضایعات با بزرگنمایی ۱۰ برابر میکروسکوپ نوری Olympus (BX41, Tokyo, Optical, Japan) مشاهده شدند. سه ناحیه که دارای بیشترین تعداد عروق خونی (Hot Spots) بودند، در نظر گرفته شدند و تعداد عروق خونی در هر فیلد با بزرگنمایی ۴۰ برابر بررسی شد. مساحت هر فیلد تقریباً 2mm^2 بود. تراکم کلی عروق خونی به صورت میانگین \pm انحراف معیار ثبت شد. در صورتی که سلول‌های اندوتلیال رنگ شده (قهوه‌ای رنگ) با CD34 تشکیل خوشه‌ای از سلول‌های اندوتلیال و لومن عروقی را داده بودند، به عنوان رگ خونی در نظر گرفته می‌شدند. عروق خونی با دیواره عضلانی از مطالعه حذف شدند.

بعد از محاسبه میانگین تراکم عروق خونی در اسلایدهای میکروسکوپی و ثبت آن در جداول، اسلایدها از نظر هیستوپاتولوژی به دو ناحیه مجاور و دور از اپی‌تلیوم ادنتوزنیک تقسیم شدند و میانگین تراکم عروق خونی در هر ضایعه ادنتوزنیک، در سه فیلد میکروسکوپی محاسبه و با یکدیگر مقایسه شد. منظور از تراکم عروق خونی در نواحی مجاور اپی‌تلیوم ادنتوزنیک، Hot Spotsهایی بودند که در ناحیه مرکزی تومور و یا کیست ادنتوزنیک قرار داشته و در حد یک فیلد میکروسکوپی تقریباً 2mm^2 در زیر غشاء پایه اپی‌تلیوم بودند. تراکم عروق خونی در ناحیه دور از اپی‌تلیوم ادنتوزنیک در آملوبلاستوما، عبارت بودند از

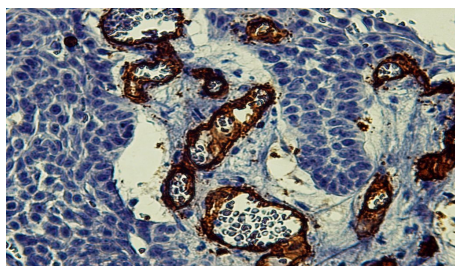
فولیکولر بیشتر از پلکسی فرم بود ($P < 0/001$).
عروق خونی در آملوبلاستومای فولیکولر به تعداد
بیشتر و کوچکتر و در آملوبلاستومای پلکسی فرم دیلاته‌تر
و منتشرتر و به تعداد کمتر بود.

بزرگتری به ویژه در نواحی مجاور با اپی‌تلیوم ادنتوژنیک
نمایان بودند. در آملوبلاستومای پلکسی فرم ($n=7$) تراکم
عروق خونی $27/5 \pm 7/6$ و در آملوبلاستومای فولیکولر
($n=8$) $52/4 \pm 11/1$ بود. تراکم عروق خونی در نوع

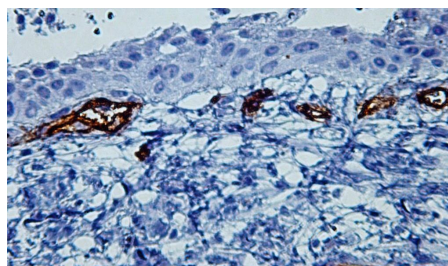
جدول ۱: میانگین و انحراف معیار تراکم عروق خونی در نواحی دور و مجاور از اپی‌تلیوم ادنتوژنیک و تراکم کلی عروق خونی (MVD) در

کیست دانتی‌ژور و تومور ادنتوژنیک کراتوسیست و آملوبلاستوما

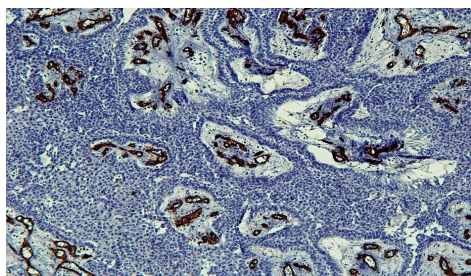
Minimum تراکم عروق خونی	Maximum تراکم عروق خونی	تراکم کلی عروق خونی MVD انحراف معیار ± میانگین	تراکم عروق خونی در ناحیه مجاور اپیتلیوم ادنتوژنیک انحراف معیار ± میانگین	تراکم عروق خونی در نواحی دور از اپیتلیوم ادنتوژنیک انحراف معیار ± میانگین	تعداد	نوع ضایعه
۵/۴	۱۹/۲	$9/4 \pm 3/52$	$7/7 \pm 1/6$	$1/8 \pm 1/5$	۱۵	کیست دانتی‌ژور
۱۸	۳۶	$25/3 \pm 5/4$	$18/1 \pm 2/2$	$7/3 \pm 1/6$	۱۵	تومور ادنتوژنیک کراتوسیست
۱۸/۶	۶۸/۳۰	$40/8 \pm 15/9$	$35/3 \pm 3/1$	$4 \pm 1/2$	۱۵	آملوبلاستوما
		$P < 0/001$	$P = 0/001$	$P = 0/001$		آزمون کروسکال-والیس



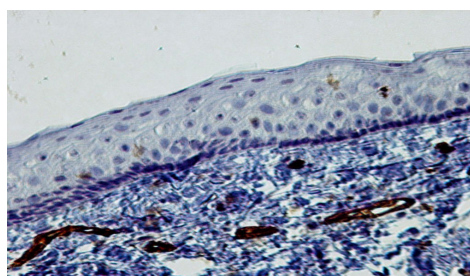
تصویر ۳: رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی با نشانگر CD34 در
آملوبلاستومای فولیکولر (X40)
رنگ‌پذیری عروق خونی با نشانگر CD34



تصویر ۱: رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی با نشانگر CD34 در
کیست دانتی‌ژور (X40)
رنگ‌پذیری عروق خونی در مجاورت اپی‌تلیوم ادنتوژنیک



تصویر ۴: رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی با نشانگر CD34 در
آملوبلاستومای پلکسی فرم (X10)
رنگ‌پذیری عروق خونی با نشانگر CD34



تصویر ۲: رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی با نشانگر CD34 در
تومور ادنتوژنیک کراتوسیست (X40)
رنگ‌پذیری عروق خونی در مجاورت اپی‌تلیوم ادنتوژنیک

بحث

در این مطالعه تراکم عروق خونی در آملوبلاستوما بیشتر از تومور ادنتوژنیک کراتوسیست و کیست فولیکولار بود که به نوعی توجه‌کننده رگ‌سازی بیشتر در ضایعات تومورال ادنتوژنیک جهت رفتار تهاجمی‌تر آن نسبت به کیست ادنتوژنیک مذکور می‌باشد. آنژیوژنز فرایند پیچیده‌ای بوده که هم در شرایط فیزیولوژیک و هم پاتولوژیک انجام می‌شود.^(۹) عملکرد آنژیوژنز در شرایط مختلف فرق می‌کند و مانند شمشیر دو لبه عمل کرده به طوری که در بافت‌های نرمال و شرایط فیزیولوژیک مفید است، اما در بافت‌های نئوپلاستیک و در شرایط انتهایی به عنوان فرایند مخرب و غیرقابل کنترل عمل می‌کند.^(۱۹)

استروما از عوامل اصلی جهت حفظ بافت‌های اپی‌تلیالی است. هرگونه تغییر در اپی‌تلیوم باعث ایجاد تغییراتی در استروما می‌گردد. تغییرات استرومای میزبان به دلیل عدم تعادل در ترشح سایتوکاین و تغییر در تعداد عروق خونی است.^(۷،۸) از عوامل اصلی در رشد اپی‌تلیوم، عروق خونی موجود در استروما است.^(۱۷) تومور جهت رشد و رفتار تهاجمی و متاستاز نیاز به تغذیه و اکسیژن دارد که از طریق عروق خونی تامین می‌شود. در صورتی که اندازه تومور بیشتر از ۲cm گردد، تومور قادر به رشد نخواهد بود. رگ‌سازی تومور از طریق عروق خونی میزبان صورت می‌گیرد به این صورت که سلول‌های تومورال با ترشح ماتریکس متالوپروتئینازها باعث تخریب عروق خونی میزبان، تکثیر سلول‌های آندوتلیالی، مهاجرت آنها و تشکیل لومن عروقی جدید می‌شوند.^(۸،۲۰)

در این مطالعه تراکم عروق خونی در تومور ادنتوژنیک کراتوسیست از کیست فولیکولار بیشتر بود که به نوعی نمایانگر نیاز بیشتر تومور ادنتوژنیک فوق به خون‌رسانی نسبت به کیست دانتی‌ژور برای رشد و پیشرفت بالینی می‌باشد. مکانیسم رشد کراتوسیست متفاوت از کیست

فولیکولار می‌باشد. برخی از تحقیقات افزایش عوامل ضدآپاتوتیک در اپی‌تلیوم و افزایش ماتریکس متالوپروتئینازهای همبندی را در رشد کراتوسیست موثر می‌دانند. به نظر می‌رسد عوامل موثر در افزایش رگ‌سازی در تومور ادنتوژنیک کراتوسیست نسبت به کیست فولیکولار را بتوان به افزایش میزان متالوپروتئینازهای همبندی به عنوان عوامل موثر در رگ‌سازی کراتوسیست نسبت داد.^(۲۳)

کیست فولیکولار دارای پیش‌آگهی عالی و عود اندک بعد از درمان است^(۱) که رفتار این کیست با میزان رگ‌سازی پایین‌تر آن در نسج همبندی نسبت به کراتوسیست و آملوبلاستوما آن را توجه می‌کند. مطالعات مختلف بیان ماتریکس متالوپروتئیناز و القاء‌کننده‌های آن را در بافت همبندی کیست فولیکولر و استرومای تومور ادنتوژنیک کراتوسیست و آملوبلاستوما گزارش کرده‌اند، اما میزان آن در آملوبلاستوما بیشتر از تومور ادنتوژنیک کراتوسیست و کیست دانتی‌ژور مطرح شده است. در عین حال برخی از مطالعات قبلی ارتباط مثبتی در بیان القاء‌کننده ماتریکس متالوپروتئیناز و تراکم عروق خونی بیان کرده‌اند. از آنجا که وجود ماتریکس متالوپروتئیناز جهت رگ‌سازی ضروری است، لذا بیان بیشتر آن در آملوبلاستوما ممکن است در رگ‌سازی بیشتر و رفتار تهاجمی‌تر بالینی آن نقش داشته باشد.^(۲۱،۲۲)

Alaeddini و همکاران، آنژیوژنز را در ادنتوژنیک کراتوسیست (۲۰ مورد)، کیست دانتی‌ژور (۱۴ مورد) و آملوبلاستوما (۲۰ نمونه) با نشانگر CD34 و استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی بررسی و مقایسه کرده‌اند. تراکم عروق خونی^(۱) (MVD) در آملوبلاستوما بیشتر از تومور ادنتوژنیک کراتوسیست و کیست فولیکولار بود.^(۲۳) نتایج

خونی در ناحیه داخلی تومور می‌توان به عنوان عامل کاربردی در پیشگویی ریلپس و یا تهاجم و متاستاز تومور استفاده کرد^(۲۶)، ولی عده‌ای دیگر تعداد عروق خونی در حاشیه (مارژین) و داخل تومور را یکسان دانسته و در پیش‌گویی رفتار تهاجمی و عود آن مطرح نمی‌دانند.^(۱۱)

نتایج مطالعه ما با نتایج مطالعه گروه اول منطبق است. در سال ۲۰۰۹، Chen و همکاران نیز بیان CD34 و VEGF^۱، INOS^۲ را با روش ایمونوهیستوشیمی در ۳۵ نمونه آملوبلاستوما (تومور اولیه، عودکننده و بدخیم) و کراتوسیست بررسی کردند. آنها گزارش نمودند که تراکم عروق خونی به ترتیب از کراتوسیست تا آملوبلاستومای عودکننده و بدخیم افزایش می‌یابد و تراکم عروق خونی در آملوبلاستوما بیشتر از کراتوسیست است که نتایج مطالعه آنها به نوعی تاییدکننده نتایج مطالعه مذکور است.^(۲۷)

در آملوبلاستوما با وجود اینکه تعداد عروق خونی بیشتر است اما اندازه آنها کوچک‌تر و بعضاً نمای آناستوموزدهنده دارند ولی در تومور ادنتوژنیک کراتوسیست و کیست فولیکولار به ترتیب تعداد عروق خونی کمتر اما اندازه آنها بزرگ‌تر به نظر می‌رسد، البته بهتر است با روش هیستومورفومتری سطح مقطع و قطر عروق خونی محاسبه گردد تا نقش سطح مقطع عروق خونی در رفتار تهاجمی ضایعات ادنتوژنیک بررسی شود. در انتخاب بلوک‌های پارافینه کیست فولیکولار، تومور ادنتوژنیک کراتوسیست و آملوبلاستوما در صورت مشاهده آماس شدید از مطالعه حذف شدند. چرا که آماس به نوعی بر تراکم عروق خونی موثر است. ولی در آملوبلاستوما در مناطقی که میزان آماس در استروما به

این مطالعه به نوعی در راستای مطالعه علاءالدینی و همکاران است. با این حال آنها مقایسه‌ای جهت بررسی تراکم عروق خونی در نواحی مجاور و دور از اپی‌تلیوم ادنتوژنیک انجام ندادند.

Gadbail و همکاران ارتباط فعالیت پرولیفراتیو در اپی‌تلیوم تومور ادنتوژنیک کراتوسیست و کیست فولیکولر و مخاط نرمال دهان را با آنژیوژنز بررسی کردند آنها جهت بررسی آنژیوژنز از نشانگر CD105 استفاده نمودند. نتایج آنها بیان بالاتر CD105 در تومور ادنتوژنیک کراتوسیست را نسبت به کیست دانتی‌ژور گزارش کرد و بیان کرد که استرومای تومور ادنتوژنیک کراتوسیست در رفتار نئوپلاستیک آن نقش دارد.^(۲۴)

توزیع عروق خونی در تمام نواحی یک ضایعه ادنتوژنیک یکسان نیست. در مطالعه مذکور، بیشترین میزان رگسازي در مجاورت اپی‌تلیوم ادنتوژنیک و در اطراف جزائر تومورال آملوبلاستومايي مشاهده شد و در نواحی دور از اپی‌تلیوم (حاشیه) و آملوبلاستوما رگسازي کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان داد. به نظر می‌رسد که اپی‌تلیوم ضایعات ادنتوژنیک نقش اصلی در القاء رگسازي در بافت همبندی دارد و به عنوان راهبر جهت تغییرات ایجادشده در نسج همبندی عمل می‌نماید. اگرچه در ضایعات نئوپلاستیک انتظار داریم جهت عود و رفتار تهاجمی در حاشیه تومور رگسازي بیشتر باشد^(۲۵)، ولی در این مطالعه به عکس تراکم عروق خونی در نواحی مجاور اپی‌تلیوم ادنتوژنیک بیشتر از نواحی دور از اپی‌تلیوم ادنتوژنیک است و این نشانگر فعالیت سلول‌های تومورال آملوبلاستوما جهت القاء رگسازي می‌باشد. به نظر می‌رسد تجمع عروق خونی در اطراف اپی‌تلیوم ادنتوژنیک جهت تامین اکسیژن و مواد غذایی لازم جهت رشد کیست‌ها و تومورهای ادنتوژنیک ضروری است.

برخی از محققان عقیده دارند که از تراکم عروق

1. Vascular Epithelial Growth Factor
2. Inducible Nitric Oxide

معنی داری بین دو گروه دیده نشد. آنها در آملوبلاستومای بازال سل کمترین تعداد عروق خونی را گزارش کردند.

اگرچه مکانیسم رشدی کیست دانتی ژور متفاوت از تومور ادنتوژنیک کراتوسیست بوده و از طریق افزایش فشار اسمزی است^(۹)، ولی به نظر می‌رسد نقش اولیه در تکامل و رشد کیست فولیکولر از طریق آنژیوژنز باشد و در صورت عدم وجود عروق خونی در ناحیه مجاور اپی تلیوم کیست قادر به رشد نخواهد بود. به عبارت دیگر آنژیوژنز از مکانیسم‌های اولیه قبل از افزایش فشار اسمزی و موثر در رشد و پیشرفت کیست فولیکولر است و با توجه به افزایش تراکم عروق خونی در نواحی مجاور اپی تلیوم ادنتوژنیک در تومور ادنتوژنیک کراتوسیست و آملوبلاستوما به نظر می‌رسد در مراحل اولیه، مکانیسم رشد کیست فولیکولر و تومور ادنتوژنیک کراتوسیست و آملوبلاستوما مشابه یکدیگر و بیشتر وابسته به عروق خونی مجاور به اپی تلیوم ادنتوژنیک باشد، اما تراکم عروق خونی و سطح مقطع آنها در این ضایعات ادنتوژنیک متفاوت به نظر می‌رسد. Gadbaill و همکاران سطح مقطع بزرگ‌تر عروق خونی را در تومور ادنتوژنیک کراتوسیست نسبت به کیست دانتی ژور گزارش کردند.^(۲۴)

در بحث مطالعه مذکور به دلیل تعداد کم مطالعات انجام شده در ارتباط با آنژیوژنز ضایعات ادنتوژنیک محدودیت‌هایی وجود دارد، اما در مجموع مطالعات انجام شده اکثراً تاییدکننده نقش آنژیوژنز به عنوان عامل مهم و برجسته در رفتار تهاجمی ضایعات ادنتوژنیک می‌باشند.^(۲۳ و ۲۴) در مطالعه El-labban^(۳۰) و همکاران، در بررسی هیستومورفومتری و فوق ساختاری هیچ تفاوتی در تراکم عروق خونی بین کیست دانتی ژور و ادنتوژنیک کراتوسیست یافت نشد که شاید به دلیل تفاوت تکنیک بکار برده شده در تعیین تراکم عروق خونی باشد. Rubini و همکاران با روش ایمونوهیستوشیمی بیان

صورت کانونی افزایش داشت، تراکم عروق خونی به طور موضعی افزایش نشان می‌داد که ممکن است بیانگر آن باشد که سلول‌های آماسی جهت فعالیت خود نیاز به منبع تغذیه‌ای نیاز دارند.

Graziani و همکاران، ارتباط التهاب و آنژیوژنز در کیست‌های رادیکولر را با آنتی‌بادی VEGF بررسی کردند و گزارش نمودند که با افزایش میزان التهاب، تراکم عروق خونی (MVD) افزایش نشان می‌دهد.^(۲۸)

اگرچه برخی از محققان نوع هیستوپاتولوژیکی آملوبلاستوما را در میزان رفتار تهاجمی آن موثر نمی‌دانند و پیش‌آگهی انواع فولیکولر و پلکسی فرم را مطرح می‌شد^(۱۶)، اما در مطالعه مذکور با وجود کم بودن تعداد اسلایدهای میکروسکوپی انواع فولیکولر و پلکسی فرم، کاهش تراکم عروق خونی در نوع پلکسی فرم نسبت به نوع فولیکولر قابل تامل است که شاید بازگوکننده رفتار تهاجمی‌تر نوع فولیکولر نسبت به انواع پلکسی فرم باشد. به عبارت دیگر شاید بیان CD34 و میانگین تراکم عروق خونی، به عنوان عامل تعیین‌کننده در پیش‌آگهی و پیشگویی‌کننده پیشرفت تومورهای ادنتوژنیک در نظر گرفته شود.

در مطالعه Kumamoto و همکاران در ارتباط با بررسی آنژیوژنز در آملوبلاستوما، تراکم عروق خونی در انواع هیستوپاتولوژیکی فولیکولر و پلکسی فرم هیچ تفاوتی نشان نداد^(۹)، اما در مطالعه ما مطابق با مطالعه Tete و همکاران، MVD (تراکم عروق خونی) در انواع فولیکولر بیشتر از پلکسی فرم گزارش شد.^(۲۹) به نظر می‌رسد شاید از علل تفاوت این مطالعه با مطالعه Kumamoto و همکاران^(۹)، حجم نمونه بررسی شده و اختلاف در متدولوژی باشد. در مطالعه Kumamoto^(۹)، عروق خونی کوچکتر و به تعداد بیشتر در نوع فولیکولر نسبت به پلکسی فرم دیده شد اما از نظر آماری اختلاف آماری

اپی‌تلیوم مشاهده نشد. در مجموع به نظر می‌رسد تراکم عروق خونی از کیست دانتی‌ژور به ادنتوژنیک کراتوسیست و آملوبلاستوما افزایش می‌یابد که این موارد منعکس‌کننده نقش اصلی آنژیوژنز در رفتار تهاجمی ضایعات ادنتوژنیک مذکور است. آنژیوژنز مجاور به اپی‌تلیوم ادنتوژنیک نقش برجسته‌تری در رفتار تهاجمی آملوبلاستوما نسبت به کیست‌های ادنتوژنیک دارد. به عبارت دیگر مکانیسم رشد و پیشرفت کیست فولیکولر، تومور ادنتوژنیک کراتوسیست و آملوبلاستوما در مراحل اولیه مشابه یکدیگر و مرتبط با آنژیوژنز مجاور به اپی‌تلیوم ادنتوژنیک است.

نتیجه‌گیری

تراکم عروق خونی بیشتر می‌تواند از عوامل اصلی در رفتار تهاجمی تر آملوبلاستوما نسبت به کیست فولیکولر و تومور ادنتوژنیک کراتوسیست ممکن است باشد. آنژیوژنز مجاور به اپی‌تلیوم ادنتوژنیک نقش موثرتری در رشد کیست فولیکولر و پیشرفت و رفتار بالینی تهاجمی تر تومورهای ادنتوژنیک مذکور دارد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از حمایت‌های معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل تقدیر و تشکر می‌گردد.

VEGF (آنتی‌بادی عروقی) را در کیست دانتی‌ژور و کراتوسیست ارتوو پاراکراتینیزه بررسی کردند. بیان VEGF در کراتوسیست بیشتر از کیست دانتی‌ژور بود و در ۸۸٪ موارد ادنتوژنیک کراتوسیست پاراکراتینیزه و ۶۸٪ انواع ارتوکراتینیزه بیشتر از ۵۰٪ سلول‌های آندوتلیالی جهت VEGF رنگ‌پذیر بودند. آنها آنژیوژنز را به عنوان مکانیسم فعال در رفتار تهاجمی کراتوسیست پاراکراتینیزه نسبت به سایر کیست‌های ادنتوژنیک گزارش کردند. نتایج این مطالعه، از نظر بیشتر بودن تراکم عروق خونی در آملوبلاستوما نسبت به تومور ادنتوژنیک کراتوسیست مشابه مطالعه حاضر است.

Tete و همکاران با رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی با نشانگر CD31 در کیست‌های رادیکولر و ادنتوژنیک کراتوسیست رنگ‌پذیری مثبت را در همه موارد مشاهده کردند. آنها گزارش کردند که آنژیوژنز نقش اولیه در تکامل کیست‌های فکی دارد.^(۲۹)

Alaeddini و همکاران رنگ‌پذیری ضعیف با نشانگر CD34 را در اپی‌تلیوم ضایعات ادنتوژنیک (کیست دانتی‌ژور، کراتوسیست و آملوبلاستوما) مشاهده کردند^(۳۳) که شاید به عنوان رنگ‌پذیری غیراختصاصی در نظر گرفته شود. اما در مطالعه مذکور ایمونوراکتیویتی ضعیف در

منابع

1. Zhang LL, Yang R, Zhang L, Li W, MacDonald-Jankowshic D, Poh CF. Dentigerous cyst: A retrospective clinicopathological analysis of 2082 dentigerous cysts in British Columbia, Canada. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010; 39(9): 878-82.
2. Gaitan-Cepeda LA, Quezada-Rivera D, Tenorio-Rocha F, Leyva-Huerta ER. Reclassification of odontogenic keratocyst as tumor. Impact on the odontogenic tumors prevalence. *Oral Dis* 2010; 16(2): 185-7.
3. Kolar Z, Geierova M, Bouchal J, Pazdera J, Zboril V, Tvrdy P. Immunohistochemical analysis of the biological potential of odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol Med* 2006; 35(2): 75-80.
4. Gomes CC, Duarte AP, Diniz MG, Gomes RS. Review article: Current concepts of ameloblastoma pathogenesis. *J Oral Pathol Med* 2010; 39(8): 585-91.
5. Kichi E, Enokiya Y, Muramatsu T, Hashimoto S, Inoue T, Abiko Y, et al. Cell proliferation, apoptosis and apoptosis-related factors in odontogenic keratocysts and in dentigerous cysts. *J Oral Pathol Med* 2005; 34(5): 280-6.

6. Gupta MK, Qin RY. Mechanism of its regulation of tumor-induced angiogenesis. *World J Gastroenterol* 2003; 9(6): 1144-55.
7. Seifi S, Shafaei S, Shafigh E, Sahabi SM, Ghasemi H. Myofibroblast stromal presence and distribution in squamous epithelial carcinomas, oral dysplasia and hyperkeratosis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2010; 11(2): 359-64.
8. Kademani D, Lewis JT, Lamb DH, Rallis DJ, Harrington JR. Angiogenesis and CD34 expression as a predictor of recurrence in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67(9): 1800-5.
9. Kumamoto H, Ohki K, Ooya K. Association between vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and tumor angiogenesis in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2002; 31(1): 28-34.
10. Mahabeleshwar GH, Byzova TV. Angiogenesis in melanoma. *Semin Oncol* 2007; 34(6): 555-65.
11. Margaritescu C, Pirici D, Stinga A, Simionescu C, Raica M, Mogoanta L, et al. VEGF expression and angiogenesis in oral squamous cell carcinoma: An immunohistochemical and morphometric study. *Clin Exp Med* 2010; 10(4): 209-14.
12. Soares AB, de Araujo VC, Juliano PB, Altemani A. Angiogenic and Lymphangiogenic microvessel density in recurrent pleomorphic adenoma. *J Oral Pathol Med* 2009; 38(8): 623-9.
13. Teo NB, Shoker BS, Jarvis C, Martin L, Sloane JP, Holcombe C. Vascular density and phenotype around ductal carcinoma in situ (DCIS) of the breast. *Br J Cancer* 2002; 86(6): 905-11.
14. Stabenow E, Tavares MR, Abisaber AM, Parra-Cuentas ER, de Matos LL, Eher EM, et al. Angiogenesis as an indicator of metastatic potential in papillary thyroid carcinoma. *Clinics (Sao Paulo)* 2005; 60(3): 233-40.
15. Lanza F, Healy L, Sutherland DR. Structural and functional features of the CD34 antigen: An update. *J Biol Regul Homoset Agents* 2001; 15(1): 1-13.
16. Neville BW, Dam DD, Allen CM, Bouquot JE. *Oral and Maxillofacial Pathology*. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co; 2009. P. 680-1.
17. Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol* 1995; 147(1): 9-19.
18. Wang XL, Fang JP, Tang RY, Chen XM. Different significance between intratumoral and peritumoral lymphatic vessel density in gastric cancer: A retrospective study of 123 cases. *BMC Cancer* 2010; 10: 299.
19. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Robbins, Cotran C. *Pathologic Basis of Disease*. 7th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co; 2005. P. 310-3.
20. Inda AM, Andrini LB, Garcia MN, Garcia AL, Fernandez Blanco A, Furnus CC, et al. Evaluation of angiogenesis with the expression of VEGF and CD34 in human non- small cell lung cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2007; 26(3): 375-8.
21. Ali MA. Expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer in odontogenic cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; 106(2): 258-63.
22. Jiang LJ, Shao CK, He D, Li WG, Wu XZ, Cai DZ. Correlations of extracellular matrix metalloproteinase inducer and microvessel density to invasiveness of ameloblastoma. *Ai Zhong* 2008; 27(12): 1263-6.
23. Alaeddini M, Salah S, Dehghan F, Eshghyar N, Etemad-Moghadam S. Comparison of angiogenesis in keratocyst odontogenic tumors, dentigerous cysts and ameloblastomas. *Oral Dis* 2009; 15(6): 422-7.
24. Gadbail AR, Hande A, Ghaudhary M, Nikam A, Gawande M, Patil S, et al. Tumor angiogenesis in keratocystic odontogenic tumor assessed by using CD105 antigen. *J Oral Pathol Med* 2010.
25. Dunstan S, Power DG, Wilkinson M, Pearson J, Hewitt RE. The stroma of oral squamous cell carcinomas show increased vascularity compared with adjacent host tissue. *Br J Cancer* 1997; 75(4): 559-65.
26. Kim SH, Cho NH, Kim K, Lee JS, Koo BS, Kim JH, et al. Correlations of oral tongue cancer invasion with matrix metalloproteinases (MMPs) and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression. *J Surg Oncol* 2006; 93(4): 330-7.
27. Chen WL, Ouyang KX, Li HG, Huang ZQ, Li JS, Wang JG. Expression of inducible nitric oxide synthase and vascular endothelial growth factor in ameloblastoma. *J Craniofac Surg* 2009; 20(1): 171-5.
28. Graziani F, Vano M, Viacava P, Itró A, Tartaro G, Gabriele M. Microvessel density and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human radicular cysts. *Am J Dent* 2006; 19(1): 11-4.
29. Tete S, Mastrangelo F, Grimaldi S, Costanzo G, Salini L, Speranza L, et al. Immunohistochemical evaluation of CD31 in human cystic radicular lesions and in keratocyst. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2005; 18(3): 39-45.
30. El-Labban NG, Aghabeigi B. A comparative stereologic and ultrastructural study of blood vessels in odontogenic keratocyst and dentigerous cyst. *J Oral Pathol Med* 1990; 19(10): 442-6.
31. Rubini C, Artese L, Zizzi A, Fioroni M, Ascani G, Goteri G, et al. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in different types of odontogenic cysts. *Clin Oral Investig* 2010.