

Evaluation of the Expression Levels of Endothelin-1 and its Receptor (ETAR) in Dental Lamina during Different Stages of Development of Human Fetal Teeth

Soussan Irani^{1,*} , Shohreh Alimohammadi², Tahmineh Najafian³

¹ Associate Professor, Department of Oral Pathology, Dental Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

² Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

³ Dentist

* **Corresponding Author:** Soussan Irani, Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran. Email: irani@umsha.ac.ir

Abstract

Received: 15.05.2021

Accepted: 02.08.2021

How to Cite this Article:

Irani S, Alimohammadi SH, Najafian T. Evaluation of the Expression Levels of Endothelin-1 and its Receptor (ETAR) in Dental Lamina during Different Stages of Development of Human Fetal Teeth. *Avicenna J Clin Med.* 2021; 28(2): 79-86. DOI: 10.52547/ajcm.28.2.79

Background and Objective: Due to the significant importance of the teeth in mastication, speech, and aesthetics, it is necessary to identify all involved genes in the tooth development. Therefore, this study aimed to evaluate the role of endothelin-1 and its A receptor in dental lamina in different stages of tooth development.

Materials and Methods: This cross-sectional study included 33 fetal samples that were divided into three groups regarding gestational age. All samples were then stained by immunohistochemistry. Subsequently, the analysis was conducted in SPSS software (version 20) through the two-way ANOVA and Tukey's tests to examine the differences between the variables. A p-value less than 0.05 was considered statistically significant.

Results: There was a significant difference between the gestational age and the expression level of endothelin-1 in dental lamina ($P < 0.001$). In addition, a significant relationship was observed between age and anatomic area ($P < 0.001$). There was also a significant difference between the gestational age and the expression level of endothelin-1 receptor (ETAR) in dental lamina ($P < 0.001$). A significant association was found between gestational age and anatomic area ($P < 0.001$).

Conclusion: The expression levels of endothelin-1 and its receptor (ETAR) in each jaw were higher in anterior dental lamina, compared to posterior dental lamina. These results may confirm the role of endothelin-1 and its receptor in cell proliferation, differentiation of dental lamina, and calcium ion transport during tooth development.

Keywords: Endothelin-1, Endothelin-A Receptor, Fetus, Odontogenesis

بررسی میزان بیان پروتئین اندوتلین-۱ و گیرنده آن (ETAR) در تیغه دندانی در مراحل مختلف تکامل دندان جنین انسان

سوسن ایرانی^{۱*}، شهره علی محمدی^۲، تهیمینه نجفیان^۳

^۱ دانشیار، گروه پاتولوژی دهان فک و صورت، دانشکده دندان پزشکی، مرکز تحقیقات دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
^۲ دانشیار، گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
^۳ دندان پزشک

* نویسنده مسئول: سوسن ایرانی، گروه پاتولوژی دهان فک و صورت، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران. ایمیل: irani@umsha.ac.ir

چکیده

سابقه و هدف: به دلیل اهمیت چشمگیر دندان‌ها در جویدن، تکلم و زیبایی، لازم است ژن‌های درگیر در تکامل دندانی شناخته شوند. این مطالعه به منظور تعیین نقش اندوتلین-۱ و گیرنده A آن در تیغه دندانی در مراحل مختلف تکامل دندان طراحی شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی ابتدا ۳۳ نمونه جنین انتخاب شد. سپس از نظر سنی به سه گروه تقسیم شدند. تمام نمونه‌ها به روش ایمونوهیستوشیمی رنگ‌آمیزی شدند. سپس با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰، تحلیل آماری با استفاده از آزمون واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی توکی برای بررسی معنی‌داری بین نمونه‌ها انجام شد. تفاوت معناداری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: بین سن و میزان بیان اندوتلین-۱ در سلول‌های تیغه دندانی ارتباط معناداری وجود داشت ($P < 0/001$). همچنین تعامل سن جنین و ناحیه آناتومیک نیز معنادار بود ($P < 0/001$). بین سن و میزان بیان پروتئین گیرنده اندوتلین-۱ در سلول‌های تیغه دندانی ارتباط معناداری وجود داشت ($P < 0/001$). تعامل سن جنین و ناحیه آناتومیک نیز معنادار بود ($P < 0/001$).

نتیجه‌گیری: میزان بیان پروتئین اندوتلین-۱ و گیرنده آن ETAR در هر فک، در تیغه دندانی دندان‌های قدامی بیشتر از تیغه‌های دندانی دندان‌های خلفی بود. این نتایج ممکن است تأییدکننده نقش اندوتلین-۱ و گیرنده آن در تکثیر، تمایز سلول‌های تیغه دندانی و انتقال یون کلسیم طی تکامل دندان باشد.

واژگان کلیدی: اندوتلین-۱، جنین انسان، دندان‌زایی، گیرنده A اندوتلین

مقدمه

حدود روز ۴۲ تا ۴۸ یعنی هفته‌های ششم تا هفتم است [۲]. تیغه دندانی در واقع یک صفحه است. از این مرحله به بعد تکامل دندان طی سه مرحله آغاز می‌شود [۳،۴]. مرحله اول یا مرحله جوانه‌ای (حدوداً هفته ۸) که حاصل تکثیر سلول‌های تیغه دندانی است با تشکیل جوانه اپی‌تلیالی مشخص می‌شود [۲]. حدود هفته‌های ۱۳ تا ۱۶ یعنی مرحله کلاهیکی، در اثر تکثیر سلولی، جوانه اپی‌تلیالی کلاهیکی شکل می‌شود. در فاصله هفته‌های ۱۶ تا ۲۱ با ادامه تکثیر و تمایز سلول‌ها، مرحله زنگوله‌ای ایجاد می‌شود که در اواخر این مرحله به علت تشکیل ادونتوبلاست‌ها و آملوبلاست‌ها، اولین لایه عاج و مینا در نوک کاسپ دندان‌های در حال تکامل رسوب می‌کند. به تدریج آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی‌شده) سلول‌های تیغه

بعد از انجام لقاح، مراحل مختلف تکامل جنین برای ایجاد بافت‌ها و ارگان‌های مختلف آغاز می‌شود. در ناحیه سر و صورت منشأ بافت هم‌بندی، بافت نوروکتودرم است و سلول‌های تیغه عصبی از این منبع به بافت‌های دیگر مهاجرت می‌کنند و به بافت اکتومزانسیم تمایز می‌یابند که برای تکامل ناحیه سر و صورت لازم است [۱، ۲]. در روز سی و هفتم تکامل جنینی، نوار ممتدی از اپی‌تلیوم ضخیم‌شده در اطراف دهان (در مندیبل و ماگزایلا) تشکیل می‌شود. این نوارها، نوار اپی‌تلیالی اولیه نامیده می‌شوند (هفته‌های ۵-۶) [۲]. مهم‌ترین مسئله برای آغاز تکامل دندان، شکل‌گیری و ضخیم‌شدگی‌های موضعی یا ایجاد پلاکودهایی در نوارهای اپی‌تلیالی اولیه است [۲]. طبق مطالعات قبلی، زمان تشکیل تیغه دندانی در انسان

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی بعد از گرفتن رضایت‌نامه از والدین، نمونه‌های جنین که در اثر سقط خودبه‌خود، دفع شده بودند و به تشخیص و تأیید متخصصان مربوطه در بیمارستان دچار نقص ژنتیکی نبودند و از نظر ظاهری نیز دچار نقص نبودند (از هفته سیزدهم جنینی تا هفته بیست و سوم جنینی) وارد مطالعه شدند. سن جنین با توجه به تاریخ آخرین پریود (عادت ماهانه) که در پرونده ذکر شده بود و البته با اندازه‌گیری اندازه کف پا یعنی فاصله پاشنه تا انگشت شست برآورد شد [۱۵]. برای بررسی صحت نتایج به‌دست‌آمده، ۳ جنین از هر هفته جنینی و جمعاً ۳۳ نمونه انتخاب شد. اطلاعات مربوط به جنین از نظر سن و جنس در جدول وارد شد.

با توجه به سیر مراحل رشد و تکامل دندان‌ها [۲] و برای تسهیل در تحلیل آماری، نمونه‌ها از نظر سنی به سه گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل هفته‌های جنینی ۱۳ تا ۱۵، گروه دوم شامل هفته‌های ۱۶ تا ۱۹ و گروه سوم شامل هفته‌های ۲۰ تا ۲۳ بود. سپس سر جنین‌ها جدا و از دو مسیر ساژیتال و افقی برش داده شد. به‌منظور نرم‌شدن قسمت‌های نسبتاً کلسیفیه که مشکلاتی را در برش و آماده‌سازی بافت ایجاد می‌کرد، نمونه‌ها ابتدا در اسید نیتریک ۱۰ درصد به مدت حداکثر ۳۰ ساعت و سپس داخل پارافین قرار گرفتند. سپس بلوک‌های پارافینی به ضخامت ۴ میکرون برش زده شد و برای رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی طبق دستورالعمل مطالعات قبلی آماده شدند [۱۶، ۱۷].

آنتی‌بادی‌های استفاده‌شده شامل آنتی‌بادی Anti-mouse: ET-1 (Abcam; 2786) و آنتی‌بادی Anti-rabbit: ET_AR (Abcam; 76259)، هر دو با غلظت ۱:۱۷۰ بودند. بیان پروتئین اندوتلین-۱ با رنگ‌پذیری سیتوپلاسم سلول‌ها و بیان پروتئین گیرنده آن با رنگ‌پذیری غشای سلول مشخص شد. از تیغه دندان‌ها هر نمونه عکس‌های متعددی گرفته شد. سپس تعداد سلول‌های رنگ‌گرفته توسط دو نفر (پاتولوژیست دهان و فک و صورت و همکار طرح که آموزش لازم را دیده بود) شمارش و وارد نرم‌افزار SPSS شد. به‌منظور کاهش خطای شمارش، تعداد سلول‌های هر عکس گرفته‌شده حداقل ۳ مرتبه شمارش شد و میانگین تعداد سلول‌ها برای هر نمونه یادداشت شد. پس از آن با استفاده از آزمون آماری واریانس دوطرفه با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ (Chicago, IL, USA) داده‌ها تجزیه و تحلیل شدند. تفاوت معناداری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از ۳۳ نمونه مطالعه، ۲۵ نمونه (۷۵/۸ درصد) پسر و ۸ نمونه (۲۴/۲ درصد) دختر بودند. میانگین سنی جنین‌ها ۱۸ هفته بود. همان‌گونه که در جدول ۱ دیده می‌شود، برای میزان بیان

دندانی و تکه‌تکه شدن آن شروع می‌شود و در انتهای تکامل دندان یعنی حدود هفته ۳۰ جنینی کاملاً از بین می‌رود [۵]. در مطالعات حیوانی بیان ژن‌های متفاوتی در مراحل اولیه تکامل دندان‌ها بررسی شده است [۶]، اما هنوز ناشناخته‌های زیادی درباره نقش عوامل، ژن‌های مختلف و مسیرهای سیگنال‌دهی وجود دارند که به بررسی نیاز دارد [۷].

پروتئین اندوتلین یک نوع پپتید با چندین عملکرد و حاوی ۲۱ آمینواسید است. این پروتئین در سلول‌های اندوتلیال بسیاری از بافت‌ها از جمله بافت‌های دهانی شناسایی شده است. به نظر می‌رسد نقش اصلی اندوتلین، برقراری هموستاز طی فرایندهای فیزیولوژیک، فرایند دردزایی و همچنین فرایندهای التهابی موضعی باشد [۸]. شایع‌ترین نوع اندوتلین یافت‌شده در بدن انسان، اندوتلین-۱ است. در شرایط فیزیولوژیک، اندوتلین-۱ در تنظیم عروق خونی نقش مهمی ایفا می‌کند. دو نوع گیرنده فیزیولوژیک برای اندوتلین وجود دارد: گیرنده اندوتلین A (ETAR) منحصرأً برای اندوتلین-۱ و گیرنده اندوتلین B (ETBR) که پاسخ یکسان در برابر هر سه نوع زیرگروه اندوتلین می‌دهد. اندوتلین-۱ و گیرنده A آن میتوژنیک است و در تمایز سلول‌های بنیادی نقش دارد. محور ET-1/ETAR در بافت‌های مجموعه‌ای صورت بیان می‌شود [۹].

از طرفی دیگر، اندوتلین-۱ با اثر بر سلول‌های تیغه عصبی و اثرات قابل توجه بر سیستم کادهرین و کنترل پدیده گذر از سلول اپی‌تلیالی به مزانشیمی (Epithelial-mesenchymal transition: EMT) در تکامل جنین از جمله تکامل ناحیه سر و صورت نقش مهمی دارد [۱۰، ۱۱]. این پدیده در بسیاری از مراحل تکامل از جمله تکامل ناحیه جمجمه و سر نقش اساسی بر عهده دارد. این پدیده در تشکیل محل اتصال مینا و عاج و بسیاری از مراحل کلسیفیه شدن دندان نیز دخالت دارد [۱۲]. ضمناً اندوتلین-۱ در افزایش غلظت و انتقال یون کلسیم از طریق گیرنده A دخیل است که در ساخت و تکامل دندان نقش اساسی دارد [۱۱، ۱۳]؛ به‌طور مثال، به دنبال افزایش بیان اندوتلین-۱، رهاسازی یون کلسیم توسط سلول‌های بنیادی داخل پالپ گزارش شده است [۱۳، ۱۴].

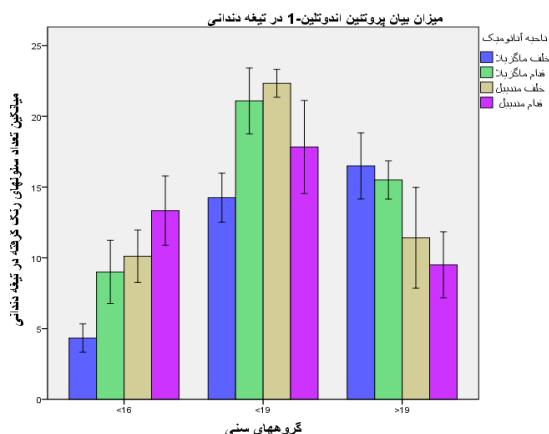
اگرچه نقش اندوتلین-۱ در برخی مراحل تکامل دندان‌ها آن هم به‌طور محدود بررسی شده است، هنوز بسیاری از ناشناخته‌ها درباره این مولکول و گیرنده آن حل‌نشده باقی مانده است. موتاسیون ژن‌ها منبع بالقوه‌ای برای بدشکلی‌های مادرزادی دندان‌ها هستند. همچنین به دلیل اهمیت چشمگیر دندان‌ها در جویدن، تکلم و زیبایی لازم است ژن‌های درگیر در تکامل دندان‌ها شناخته شوند. با توجه به اهمیت موارد ذکرشده، این مطالعه به‌منظور تعیین نقش اندوتلین-۱ و گیرنده آن در ناحیه تیغه دندان‌ها در مراحل مختلف تکامل دندان طراحی و اجرا شد.

جدول ۱: تحلیل واریانس دوطرفه میزان بیان پروتئین اندوتلین-۱ در ارتباط با سن جنین و ناحیه آناتومیک فکین

| منابع تغییر | مجموع مجذورات | درجه آزادی | میانگین مجذورات | F | سطح معناداری |
|-------------------------|---------------|------------|-----------------|---------|--------------|
| سن جنین | ۱۹۹۶/۲۶۸ | ۲ | ۹۹۸/۱۳۴ | ۷۶۶/۲۹۵ | ۰/۰۰۱ |
| ناحیه آناتومیک | ۲۳۰/۲۳۵ | ۳ | ۷۶/۷۴۵ | ۵۸/۹۱۹ | ۰/۰۰۱ |
| سن جنین* ناحیه آناتومیک | ۱۰۱۶/۱۵۳ | ۶ | ۱۶۹/۳۵۹ | ۱۳۰/۰۲۱ | ۰/۰۰۱ |

جدول ۲: تحلیل واریانس دوطرفه میزان بیان پروتئین گیرنده اندوتلین-۱ در ارتباط با سن جنین و ناحیه آناتومیک فکین

| منابع تغییر | مجموع مجذورات | درجه آزادی | میانگین مجذورات | F | سطح معناداری |
|-------------------------|---------------|------------|-----------------|---------|--------------|
| سن جنین | ۱۹۴۸/۸۹۴ | ۲ | ۹۷۴/۴۴۷ | ۶۶۶/۵۰۰ | ۰/۰۰۱ |
| ناحیه آناتومیک | ۲۰۳/۴۰۶ | ۳ | ۶۷/۸۰۲ | ۴۶/۳۷۵ | ۰/۰۰۱ |
| سن جنین* ناحیه آناتومیک | ۹۳۶/۰۲۵ | ۶ | ۱۵۶/۰۰۴ | ۱۰۶/۷۰۳ | ۰/۰۰۱ |

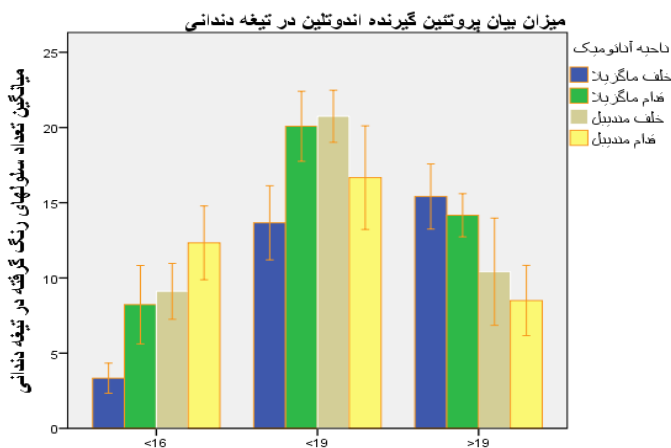


شکل ۱: میزان بیان پروتئین اندوتلین-۱ در تیغه دندان در گروههای سنی مختلف بر حسب ۴ ناحیه آناتومیک مختلف

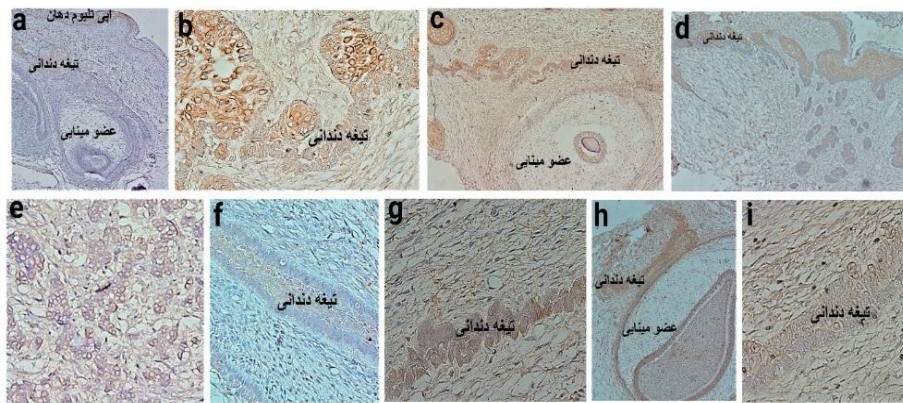
شکل‌های ۱ و ۲ میزان بیان پروتئین اندوتلین-۱ و گیرنده آن را در تیغه دندان در گروههای سنی مختلف بر حسب ۴ ناحیه آناتومیک مختلف نشان می‌دهد. بیان پروتئین اندوتلین-۱ در تیغه دندان در هفته‌های مختلف جنینی در شکل ۳ و بیان پروتئین گیرنده اندوتلین-۱ در تیغه دندان در هفته‌های مختلف جنینی در شکل ۴ مشاهده می‌شود.

پروتئین اندوتلین-۱، F به میزان ۷۶۶/۲۹۵ با درجه آزادی $df=2$ برای اثرات سن جنین و ناحیه آناتومیک ($P<0/001$) معنادار بود. همچنین تعامل سن جنین و ناحیه آناتومیک نیز معنادار بود ($P<0/001$). آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد از نظر میزان بیان پروتئین اندوتلین-۱ در سلول‌های تیغه دندان مناطق چهارگانه آناتومیک، بین قسمت قدامی مندیبل با قسمت خلفی ماگزایلا ($P<0/001$)، بین قسمت قدامی مندیبل با قسمت قدامی ماگزایلا ($P<0/001$) و بین قسمت قدامی مندیبل با قسمت خلفی مندیبل ($P<0/001$) تفاوت آماری معناداری وجود دارد.

همان‌گونه که در جدول ۲ آمده است، برای میزان بیان پروتئین گیرنده اندوتلین-۱، F به میزان ۶۶۶/۵۰۰ با درجه آزادی $df=2$ برای اثرات سن جنین و ناحیه آناتومیک ($P<0/001$) معنادار بود. همچنین تعامل سن جنین و ناحیه آناتومیک نیز معنادار بود ($P<0/001$). آزمون تعقیبی توکی نیز نشان داد از نظر میزان بیان پروتئین گیرنده اندوتلین-۱ در سلول‌های تیغه دندان مناطق چهارگانه آناتومیک، بین قسمت قدامی مندیبل با قسمت خلفی ماگزایلا ($P<0/004$)، بین قسمت قدامی مندیبل با قسمت قدامی ماگزایلا ($P<0/001$) و بین قسمت قدامی مندیبل با قسمت خلفی مندیبل ($P<0/001$) تفاوت آماری معناداری وجود دارد.

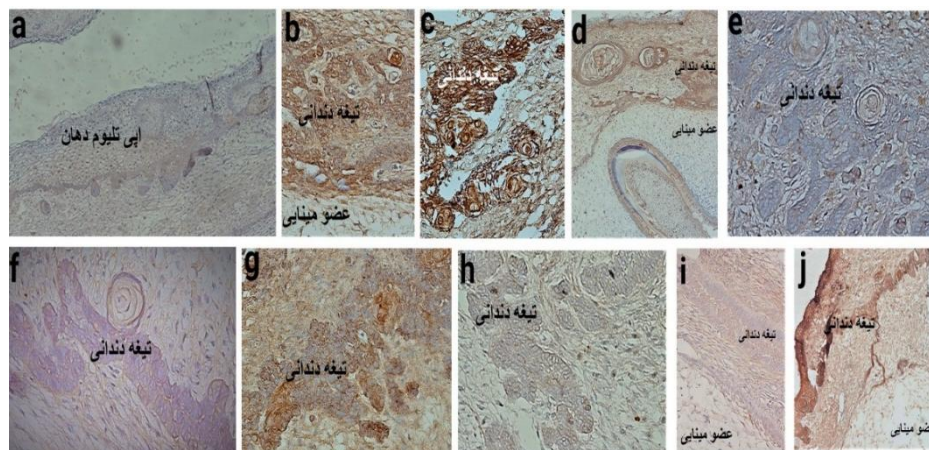


شکل ۲: میزان بیان پروتئین گیرنده اندوتلین-۱ در تیغه دندان در گروههای سنی مختلف بر حسب ۴ ناحیه آناتومیک مختلف



شکل ۳: بیان پروتئین اندوتلین-۱ در تیغه دندان، در هفته‌های مختلف دوران جنینی و نواحی آناتومیک مختلف

- a: در قدام مندیبل در هفته ۱۳، تیغه دندان متصل به عضو مینایی دیده می‌شود. (X100)
- b: تیغه دندان در قدام مندیبل در هفته ۱۷ مشهود است. افزایش بیان پروتئین در مقایسه با هفته ۱۳ چشمگیر است. (X100)
- c: تیغه دندان در قدام مندیبل در هفته ۱۸ متصل به عضو مینایی دندان در حال تشکیل (در وسط) دیده می‌شود. نوارهایی از ماتریس مینایی و پیش‌عاج در وسط عضو مینایی مشهود است. (X100)
- d: تیغه دندان در قدام مندیبل در هفته ۱۹ دیده می‌شود. آغاز تکه‌تکه شدن تیغه دندان در این مرحله مشهود است. (X100)
- e: تکه‌های جدا شده تیغه دندان در قدام مندیبل در هفته ۲۳ دیده می‌شوند. کاهش میزان بیان پروتئین اندوتلین-۱ کاملاً مشهود است. (X400)
- f: تیغه دندان در قسمت خلفی مندیبل در هفته ۱۷ به چشم می‌خورد. (X250)
- g: تیغه دندان در قدام ماگزایلا در هفته ۱۸ به چشم می‌خورد. (X100)
- h: تیغه دندان متصل به عضو مینایی در قدام ماگزایلا در هفته ۱۹ دیده می‌شود. (X100)
- i: تیغه دندان در قسمت خلفی ماگزایلا در هفته ۲۳ دیده می‌شود. (X100)



شکل ۴: بیان پروتئین گیرنده اندوتلین-۱ در تیغه دندان در هفته‌های مختلف جنینی و نواحی آناتومیک مختلف

- a: جوانه‌های دندان که مرحله اول تکامل را سیر می‌کنند، متصل به اپی‌تلیوم دهانی به‌صورت خوشه‌های آویزان در هفته ۱۴ در مندیبل دیده می‌شوند. (X100)
- b: تیغه دندان متصل به عضو مینایی در قدام مندیبل در هفته ۱۷ دیده می‌شود. (X100)
- c: تیغه دندان در قدام مندیبل در هفته ۱۸ مشهود است. (X100)
- d: تیغه دندان در قدام مندیبل در هفته ۲۱ جنینی در کنار عضو مینایی به چشم می‌خورد. تیغه دندان در مرحله تکه‌تکه شدن است. (X100)
- e: تیغه دندان که در آغاز مرحله تکه‌تکه شدن است، در قدام مندیبل در هفته ۲۳ به چشم می‌خورد. کاهش بیان پروتئین در تیغه دندان چشمگیر است. (X100)
- f: تیغه دندان در قدام ماگزایلا در هفته ۱۷ دیده می‌شود. (X100)
- g: تیغه دندان در قدام ماگزایلا در هفته ۱۹ دیده می‌شود. (X100)
- h: تیغه دندان در خلف ماگزایلا در هفته ۱۷ دیده می‌شود. (X100)
- i: تیغه دندان در خلف ماگزایلا در هفته ۲۰ جنینی متصل به عضو مینایی مشهود است. (X100)
- j: در خلف ماگزایلا در هفته ۲۳ جنینی، تیغه دندان متصل به عضو مینایی به چشم می‌خورد. (X100)

زنگوله‌ای انجام می‌شود. اختلال در هر مرحله به نقص ساختمانی، ظاهری و عملکرد دندان‌ها منجر می‌شود [۱۲]. تحقیقات قبلی نشان می‌دهند محور ET-1/ ETAR در تکامل قوس‌های حلقی و سلول‌های تیغه عصبی نقش اساسی به عهده

بحث

ژن‌ها و فاکتورهای سیگنال‌دهنده متعددی در تکامل و رویش دندان‌ها نقش دارند. شروع تشکیل دندان با شکل‌گیری تیغه دندان در فکین انسان طی سه مرحله جوانه‌ای، کلاهکی و

دندانی انتقال می‌دهد [۶]. به این ترتیب تیغه دندانی نیز حامل سلول‌های بنیادی و منشأ ساخت قسمت‌های مختلف دندان است [۲۳].

مطالعه‌ای روی میزان بیان Ki67 (مارکر نشان‌دهنده میزان تکثیر سلول‌ها) در قوس دندانی فک پایین نشان داد میزان بیان Ki67 در مرحله جوانه‌ای بیشترین مقدار را در تیغه دندانی داشته و در مراحل بعدی از میزان بیان کم شده است. به طوری که در اولین دندان مولر شیری در هفته ۱۶ جنینی، میزان رنگ‌پذیری کمی کاهش یافته و در مرحله زنگوله‌ای، در هفته ۲۱ با ادامه تکه‌تکه شدن تیغه دندانی فقط تعدادی از سلول‌ها در تیغه دندانی رنگ‌پذیری داشته و در هفته ۳۰ تیغه دندانی کاملاً از بین رفته است [۵].

پدیده دیگری که در زمان تکامل دندان بررسی شده، پدیده EMT است. نقش EMT در تکامل ناحیه سر و صورت به اثبات رسیده است. اندوتلین-۱ و گیرنده آن عامل مهمی در پدیده EMT هستند. پدیده EMT در تشکیل محل اتصال عاج و مینا و معدنی‌شدن عاج و مینا نیز نقش مهمی ایفا می‌کند [۱۵]. کاهش بیان E-Cadherin و افزایش بیان Matrix Metalloproteinase-2 (MMP2) در سلول‌های تیغه دندانی در حال اضمحلال و تکه‌تکه شدن آن به اثبات رسیده است [۲۲]. همچنین کاهش بیان لامینین که اتصال سلول‌های غشای پایه تیغه دندانی را سبب می‌شود، موجب تجزیه غشای پایه و در نتیجه مهاجرت سلول‌های تیغه دندانی به بافت اکتو مزانشیم اطراف و در نهایت سبب تجزیه تیغه دندانی می‌شود که بیانگر نقش پدیده EMT در تکامل دندان‌هاست [۲۲]. با توجه به نتایج ذکر شده و کاهش میزان بیان دو پروتئین اندوتلین-۱ و گیرنده آن در تیغه دندانی در حال اضمحلال شاید بتوان اذعان کرد که احتمالاً پدیده EMT در مراحل مختلف تکامل سر و صورت و دندان‌ها از طریق محور ET-1/ETAR انجام می‌شود.

از دیگر نتایج این مطالعه تفاوت معنی‌دار آماری بین میزان بیان دو پروتئین در نواحی آناتومیک مختلف فکین است. میزان بیان پروتئین اندوتلین-۱ و پروتئین گیرنده آن ETAR در جوانه‌های دندانی قدامی بیشتر از جوانه‌های دندانی خلفی و در جوانه‌های دندانی فک پایین بیشتر از جوانه‌های دندانی فک بالا بوده است. این نتایج احتمالاً تأییدکننده نقش پروتئین‌های اندوتلین-۱ و گیرنده آن در کنترل جریان خون، تکثیر و تمایز سلول‌ها و همچنین در افزایش غلظت و انتقال یون کلسیم است [۱۱]. البته باید اذعان داشت که با توجه به تقدم تکامل دندان‌ها در قدام فک پایین به نسبت دندان‌های خلفی پایین و نسبت به دندان‌های فک بالا (ابتدا دندان‌های قدامی و سپس دندان‌های خلفی) [۲] حصول نتایج فوق دور از انتظار نیست.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر میزان بیان پروتئین اندوتلین-۱ و پروتئین

دارد [۱۸]. بیان محور ET-1/ ETAR در سلول‌های تیغه عصبی و سپس مهاجرت این سلول‌ها به اطراف به‌خصوص به داخل قوس‌های حلقی در تکامل ساختمان‌های مرتبط از جمله ساختارهای دو فک مندیبل و ماگزایلا از وقایع مهم تکامل است [۱۹].

در این مطالعه میزان بیان پروتئین‌های اندوتلین-۱ و گیرنده آن در تیغه دندانی بررسی شده است. از آنجاکه تعداد مطالعات در زمینه نقش پروتئین‌های اندوتلین-۱ و گیرنده آن در ساخت و تکامل دندان‌ها بسیار اندک است، مقایسه نتایج بسیار محدود است. در مطالعه حاضر بیان پروتئین اندوتلین-۱ و پروتئین گیرنده آن در تیغه دندانی هفته‌های مختلف جنینی یافت شد، اما به‌وضوح در هفته‌های کمتر دوران جنینی این میزان بیشتر بوده که نشان‌دهنده نیاز کلی بافت‌های جنینی به پروتئین‌های اندوتلین-۱ و گیرنده آن برای کنترل رشد و تکامل دندان‌هاست. همچنین کاهش بیان این دو پروتئین در هفته‌های بیشتر نشان‌دهنده کاهش میزان تکثیر سلول‌های تیغه دندانی و متعاقب آن افزایش میزان آپوپتوز در این سلول‌هاست. یادآور می‌شود که در روز ۴۴ دوران جنینی، تیغه دندانی به‌صورت یک منطقه یکپارچه و ممتد دیده می‌شود [۶]. مطالعه‌ای نشان داده است قدرت تکثیر سلول‌ها در تیغه دندانی در مرحله جوانه‌ای زیاد است، اما به‌تدریج در مراحل بعدی کاهش می‌یابد و در انتهای مرحله زنگوله‌ای تیغه دندانی به‌تدریج مضمحل می‌شود [۲۰]. در مطالعه حاضر میزان بیان محور ET-1/ETAR در مرحله کلاهیکی و در ابتدای مرحله زنگوله‌ای به حداکثر رسید و سپس به‌تدریج کاهش یافت. این یافته‌ها احتمالاً بر نقش میتوژنیک اندوتلین-۱ در ناحیه تیغه دندانی دلالت دارند. در قسمت‌های مختلف عضو مینایی کاهش قدرت تکثیر بیانگر کاهش تمایز است، اما در تیغه دندانی کاهش قدرت تکثیر به‌منزله آغاز مرحله تکه‌تکه شدن تا محو کامل در آخر مرحله زنگوله‌ای است [۲۱]. تکه‌تکه شدن تیغه دندانی همراه با تکه‌تکه شدن غشای پایه و پراکنده شدن سلول‌های تیغه دندانی مرتبط است. در این زمان عروق کوچکی در اطراف تیغه دندانی ایجاد می‌شود. این دو پدیده احتمالاً موجب اضمحلال و تغییر فرم سلول‌های تیغه دندانی می‌شوند [۲۲].

پروتئین‌های اندوتلین-۱ و گیرنده آن روی سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های عضلانی صاف رگ‌های خونی بیان می‌شوند، در نتیجه محور ET-1/ ETAR ضمن ایجاد انقباض عروقی، پتانسیل میتوژنیک بر سایر سلول‌ها از جمله بافت‌های اپی‌تلیالی دارد. تیغه دندانی از اپی‌تلیوم دهانی مشتق می‌شود و ناحیه بازال این اپی‌تلیوم مملو از سلول‌های بنیادی با قابلیت تکثیر و تمایز است. همان‌طور که می‌دانیم قابلیت تکثیر سلول‌های بازال اپی‌تلیوم دهانی تا آخر عمر ادامه دارد [۲]. نوار اپیتلیالی اولیه، سلول بنیادی را از اپی‌تلیوم دهانی می‌گیرد و به

ملاحظات اخلاقی

این پروژه در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان با شناسه IR.UMSHA.REC.1398.712 تصویب شده است. همچنین از تمام والدین جنین‌ها قبل از ورود به مطالعه رضایت‌نامه کتبی آگاهانه گرفته شد.

سهم نویسندگان

نویسنده اول (پژوهشگر اصلی): مسئول مکاتبات، طراحی پروژه، تدوین بخش‌های مختلف طرح، رنگ‌آمیزی اسلایدها و نگارش و ویرایش مقاله ۶۰ درصد؛ نویسنده دوم (پژوهشگر اصلی): مشاور علمی طرح، معرفی و جمع‌آوری نمونه‌ها، مشارکت در نگارش مقاله ۲۰ درصد؛ نویسنده سوم (پژوهشگر اصلی): نوشتن پروپوزال، بازنگری متون، کمک در جمع‌آوری نمونه‌ها و شمارش سلول‌های رنگ‌شده ۲۰ درصد.

حمایت مالی

این پروژه از سوی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان حمایت مالی شده است.

گیرنده آن ETAR در تیغه‌های دندان‌های مختلف جنینی نشان داد که در شروع مراحل ساخت دندان‌ها، اپی‌تلیوم دهانی و تیغه‌های دندان‌های زیاد از این دو پروتئین را بیان می‌کنند. این یافته احتمالاً نشان می‌دهد سلول‌های تیغه‌های دندان‌های برای تکثیر و مهاجرت به سمت بافت اکتومزانسیم زیرین به اندوتلین-۱ و البته رسپتور آن نیاز دارند. کاهش میزان بیان اندوتلین-۱ و گیرنده آن در انتهای مرحله زنگوله‌ای بیانگر کاهش خاصیت میتوژنیک در تیغه‌های دندان‌های در مرحله بعد آپوپتوزیس سلول‌های آن و در نهایت تجزیه و اضمحلال این بافت است.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دوره دکتری حرفه‌ای دندان‌پزشکی مصوب دانشگاه علوم پزشکی همدان به شماره ۹۸۰۹۲۶۷۲۶۶ است. بدین‌وسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه و تمام افرادی که با همکاری و زحماتشان شرایط انجام این مطالعه را فراهم کردند، اعلام می‌دارند.

تضاد منافع

نتایج این مطالعه با منافع نویسندگان تعارض ندارد.

REFERENCES

- Frisdal A, Trainor PA. Development and evolution of the pharyngeal apparatus. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* 2014;3(6):403-18. PMID: 25176500 DOI: 10.1002/wdev.147
- Nanci A. Ten cate's oral histology-e-book: development, structure, and function. NewYork: Elsevier; 2017. P. 185-217.
- Honda MJ, Fong H, Iwatsuki S, Sumita Y, Sarikaya M. Tooth-forming potential in embryonic and postnatal tooth bud cells. *Med Mol Morphol.* 2008;41(4):183-92. PMID: 19107607 DOI: 10.1007/s00795-008-0416-9
- Fraser GJ, Standing A, Underwood C, Thiery AP. The dental lamina: an essential structure for perpetual tooth regeneration in sharks. *Integr Comp Biol.* 2020;60(3):644-55. PMID: 32663287 DOI: 10.1093/icb/icaa102
- Güven G, Günhan O, Akbulut E, Cehreli ZC. Investigation of proliferative activity in the developing human tooth using Ki-67 immunostaining. *Med Princ Pract.* 2007;16(6):454-9. PMID: 17917446 DOI: 10.1159/000107751
- Smith MM, Fraser GJ, Mitsiadis TA. Dental lamina as source of odontogenic stem cells: evolutionary origins and developmental control of tooth generation in gnathostomes. *J Exp Zool B Mol Dev Evol.* 2009;312B(4):260-80. PMID: 19156674 DOI: 10.1002/jez.b.21272
- Kawasaki K, Kawasaki M, Watanabe M, Idrus E, Nagai T, Oommen S, et al. Expression of Sox genes in tooth development. *Int Dev Biol.* 2015;59(10-12):471-8. PMID: 26864488 DOI: 10.1387/ijdb.150192ao
- Irani S, Salajegheh A, Smith RA, Lam AK. A review of the profile of endothelin axis in cancer and its management. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2014;89(2):314-21. PMID: 24035584 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2013.08.011
- Clouthier DE, Williams SC, Hammer RE, Richardson JA, Yanagisawa M. Cell-autonomous and nonautonomous actions of endothelin-A receptor signaling in craniofacial and cardiovascular development. *Dev Biol.* 2003;261(2):506-19. PMID: 14499656 DOI: 10.1016/s0012-1606(03)00128-3
- Pla P, Larue L. Involvement of endothelin receptors in normal and pathological development of neural crest cells. *Int Dev Biol.* 2003;47(5):315-25. PMID: 12895026
- Neuhaus SJ, Byers MR. Endothelin receptors and endothelin-1 in developing rat teeth. *Arch Oral Biol.* 2007;52(7):655-62. PMID: 17316550 DOI: 10.1016/j.archoralbio.2006.12.022
- Banerjee S, Mukherjee S, Nandini D, Sanjeeta N, Devi PA, Singhal P. Role of epithelial-mesenchymal transition in orofacial development-An insight. *J Adv Clin Res Ins.* 2019;6(3):83-5. DOI: 10.15713/ins.jcri.266
- Liu M, Zhao L, Hu J, Wang L, Li N, Wu D, et al. Endothelial cells and endothelin-1 promote the odontogenic differentiation of dental pulp stem cells. *Mol Med Rep.* 2018;18(1):893-901. PMID: 29845193 DOI: 10.3892/mmr.2018.9033
- Spath L, Rotilio V, Alessandrini M, Gambaro G, De Angelis L, Mancini M, et al. Explant-derived human dental pulp stem cells enhance differentiation and proliferation potentials. *J Cell Mol Med.* 2010;14(6b):1635-44. PMID: 19602052 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00848.x
- Wyk LV, Smith J. Postnatal foot length to determine gestational age: a pilot study. *J Trop Pediatr.* 2016; 62(2):144-51. PMID: 26758249 DOI: 10.1093/tropej/fmv093
- Irani S, Mohsenifar Z. Endocan, ET-1, and ETAR expression profiles in unicystic ameloblastoma, multicystic ameloblastoma, and ameloblastic carcinoma. *Middle East J Cancer.* 2019;10(3):167-74. DOI: 10.30476/MEJC.2019.78562
- Irani S, Salajegheh A, Gopalan V, Smith RA, Lam AK. Expression profile of endothelin 1 and its receptor endothelin receptor A in papillary thyroid carcinoma and their correlations with clinicopathologic characteristics. *Ann Diagn Pathol.* 2014;18(2):43-8. PMID: 24332749 DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2013.11.001
- Kim KS, Arima Y, Kitazawa T, Nishiyama K, Asai R, Uchijima Y, et al. Endothelin regulates neural crest deployment and fate to form great vessels through Dlx5/Dlx6-independent mechanisms. *Mech Dev.* 2013; 130(11-12):553-66. PMID: 23933587 DOI: 10.1016/j.mod.2013.07.005

19. Sato T, Kurihara Y, Asai R, Kawamura Y, Tonami K, Uchijima Y, et al. An endothelin-1 switch specifies maxillomandibular identity. *Proc Nat Acad Sci USA*. 2008;**105**(48):18806-11. [PMID: 19017795](#) [DOI: 10.1073/pnas.0807345105](#)
20. Setkova J, Lesot H, Matalova E, Witter K, Matulova P, Misek I. Proliferation and apoptosis in early molar morphogenesis-voles as models in odontogenesis. *Int J Dev Biol*. 2003; **50**(5):481-9. [PMID: 16586349](#) [DOI: 10.1387/ijdb.052067js](#)
21. Kero D, Novakovic J, Vukojevic K, Petricevic J, Govorko DK, Biocina-Lukenda D, et al. Expression of Ki-67, Oct-4, γ -tubulin and α -tubulin in human tooth development. *Arch Oral Biol*. 2014;**59**(11):1119-29. [PMID: 25062118](#) [DOI: 10.1016/j.archoralbio.2014.05.025](#)
22. Buchtová M, Stembírek J, Glocová K, Matalová E, Tucker AS. Early regression of the dental lamina underlies the development of diphyodont dentitions. *J Dent Res*. 2012;**91**(5):491-8. [PMID: 22442052](#) [DOI: 10.1177/0022034512442896](#)
23. Priya SP, Higuchi A, Fanas SA, Ling MP, Neela VK, Sunil P, et al. Odontogenic epithelial stem cells: hidden sources. *Lab Invest*. 2015;**95**(12):1344-52. [PMID: 26367485](#) [DOI: 10.1038/labinvest.2015.108](#)