تحقیقی

مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان/ دوره ۲۰، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۷، ۳۰۹-۳۱۵

بررسی تأثیر التهاب بر بیان نشانگرهای Ki67 و BCL-2 در ادنتوژنیک کراتوسیست

دکتر صفورا سیفی[۱]- دکتر انسیه شفیق[۲] - دکتر علی بیژنی[۳]

۱- استادیار گروه آموزشی آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل

۲- استادیار گروه آموزشی آسیب‌شناسی عمومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل

۳- پزشک عمومی

چکیده

زمینه و هدف: *ادنتوژنیک کراتوسیست کیست ادننوژنیک تکاملی است ولی التهاب در دیواره بافت همبندی آن گزارش شده است. Ki67 نشانگر پرولیفراسیون بوده و BCL-2 پروتئین ضد آپوپتوز است. مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر التهاب بر بیان نشانگرهای Ki67 و BCL-2 در ادنتوژنیک کراتوسیست انجام شد.*

روش بررسی: *این مطالعه گذشته نگر و توصیفی – تحلیلی بر روی بیست نمونه ادنتوژنیک کراتوسیست که به دو گروه ده‌تایی، ملتهب و غیرملتهب تقسیم شدند، صورت گرفت. از هر نمونه برشهای پنج میکرون و سه میکرون جهت رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین و ایمونوهیستوشیمی تهیه و سپس رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی با آنتی‌بادی‌های Ki67 و BCL-2 انجام شد. تعداد هسته و سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیالی رنگ گرفته شده با نشانگرهای Ki67 و BCL-2 در هزار سلول اپی تلیالی پشت سرهم به عنوان Labeling Index (L.I) بیان شد. دانسیته سلول‌های التهابی در عمق یک فیلد مجاور به غشای پایه ثبت گردید. سپس برای هر نمونه متوسط دانسیته سلول‌های التهابی و L.I پوشش اپی تلیالی ارزیابی و با هم مقایسه شدند. داده‌های به دست آمده توسط آنالیز Roc Curve و T test تحلیل شد.*

یافته‌ها: *Ki67 (L.I) در کل پوشش اپی تلیالی در ادنتوژنیک کراتوسیست ملتهب (۰/۸۸٪ ± ۱۹/۸٪) و در غیرملتهب (۱/۰۳٪± ۱۷/۹٪) بود. BCL-2(L.I) در کل پوشش اپی‌تلیالی ادنتوژنیک کراتوسیست ملتهب (۱/۰۹٪ ± ۳۶/۰۶٪) غیرملتهب (۰/۷۵٪ ± ۳۷/۲٪) بود. اختلاف بیان BCL-2 و L.I Ki67 بین کیست‌های ملتهب و غیرملتهب معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵). در مقایسه هر فیلد، افزایش موضعی در بیان Ki67 و کاهش موضعی در بیان BCL-2 در کیست ملتهب نسبت به غیرملتهب مشاهده شد(p< ۰/۰۰۱).*

نتیجه‌گیری: *التهاب متوسط تا شدید بر فعالیت تکثیر کلی اپی تلیوم کراتوسیست مؤثر است و باعث افزایش بیان Ki67 و کاهش بیان BCL-2 به ویژه در مجاورت غشای پایه می‌گردد.*

کلید واژه‌ها: *کیست‌های ادنتوژنیک – ادنتوژنیک کراتوسیست – پروتئین Ki67 – پروتئین BCL-2 – التهاب.*

وصول مقاله: ۱۳۸۶/۱۱/۲۷ اصلاح نهایی: ۱۳۸۷/۵/۳۰ پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۸/۲۱

نویسنده مسئول: گروه آموزشی آسیب‌شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل e.mail:sf_seify@yahoo.com

مقدمه

ادنتوژنیک کراتوسیست، کیست تکاملی ادنتوژنیک است و توسط ویژگیهای هیستوپاتولوژیکی منحصر به فرد و رفتار بیولوژیکی مهاجم مشخص می‌گردد.(۱- ۲) رفتار بالینی مهاجم و تمایل به عود مکرر آن به دنبال کورتاژ بیان کننده آن است که پوشش اپی‌تلیالی این کیست ممکن است توان رشدی مجزایی داشته باشد.(۳-۴) هنگامی که التهاب در دیواره کیست وجود دارد، پوشش کیستیک آن از طرح کلاسیک به سنگفرشی مطبق غیر کراتینیزه که مشخصه کیست‌های التهابی است، تبدیل می‌شود.(۵)، التهاب موجود در دیواره کیست نه فقط مورفولوژی اپی‌تلیالی آن را تغییر

می‌دهد، بلکه ممکن است بر روی توان تکثیر پوشش اپی‌تلیالی کیست مؤثر باشد.(۶)، در فرآیند تکثیر سلولی نیاز به تقسیم سلول‌ها است که تحت کنترل مولکول‌های بیان شده در طی چرخه سلولی می‌باشد. بی نظمی و افزایش پرولیفراسیون سلول‌ها در ضایعات مختلفی مانند سرطانها و کیست‌ها ایجاد می‌شود.(۷)، توان پرولیفراسیون سلولی با روش ایمونوهیستوشیمی و به کاربردن نشانگر تکثیری Ki67 بررسی می‌گردد و اختلال در عملکرد چرخه سلولی موجب افزایش بیان نشانگرهای پرولیفراسیون مانند Ki67، PCNA می‌شود.(۸)، پروتوانکوژن BCL-2 عضوی از خانواده ژنی شامل متوقف کننده‌ها و آغازکننده‌های مرگ سلولی است. BCL-2 عامل مرتبط با آپوپتوز (مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی) است و باعث افزایش طول عمر سلول‌ها توسط تنظیم آپوپتوز و بدون افزایش تکثیر سلولی می‌گردد. این پروتئین ۲۶ کیلو دالتون می‌باشد.(۹)، Piatelli و همکاران گزارش کردند که ایمونوراکتیویتی بانشانگر BCL-2 در نواحی دارای ارتشاح التهابی در پوشش اپی‌تلیالی ادنتوژنیک کراتوسیست کاهش می‌یابد.(۱۰)، Kaplan و همکاران مطرح کردند که التهاب موجود در دیواره کراتوسیست بر فعالیت تکثیر کلی اپی‌تلیوم آن مؤثر نیست ولی باعث افزایش موضعی بیان Ki67 می‌شود.(۶)، همواره این سؤال مهم وجود داشته که آیا التهاب در دیواره ادنتوژنیک کراتوسیست ممکن است بر روی ویژگیهای رفتاری و روشهای درمانی مربوط به این کیست مؤثر باشد، بنابراین هدف مطالعه حاضر، ارزیابی اثر التهاب بر بیان ایمونوهیستوشیمیایی نشانگر پرولیفراسیون (Ki67) و ضد آپوپتوتیک (BCL-2) می‌باشد.

روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع گذشته نگر و توصیفی-تحلیلی است. برای انجام این مطالعه نمونه‌های بایگانی آزمایشگاه آسیب شناسی فک و دهان و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل در فاصله سالهای ۸۲ – ۸۶ مورد بررسی قرار گرفته و نمونه‌ها با تشخیص ادنتوژنیک کراتوسیست انتخاب شدند و برای تکمیل نمونه‌ها از بایگانی آزمایشگاه آسیب شناسی بیمارستان شهید بهشتی بابل در فاصله سالهای ۷۰– ۸۶ استفاده شد و جمعاً بیست بلوک پارافینه ادنتوژنیک کراتوسیست انتخاب شد. سپس اطلاعات بالینی در مورد سن، جنس، محل ضایعه از پرونده بیماران استخراج گردید، پس از آن از هر بلوک برش پنج میکرونی تهیه و با روش هماتوکسیلین– ائوزین جهت ارزیابی تشخیصی و بررسی میزان التهاب، رنگ‌آمیزی شده و مجدداً مورد بررسی قرار گرفت. سپس بلوک‌های مناسب محتوی حداکثر طول اپی‌تلیوم کیست انتخاب شده، از هر یک برش سه میکرونی جهت رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی تهیه شد و رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی با روش استاندارد Avidin biotine peroxidase در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بابل در تیرماه ۱۳۸۶ انجام گرفت. ابتدا برشهای مذکور، به مدت ۱۸ – ۲۴ ساعت در فور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و سپس بیست دقیقه در فور با دمای هشتاد درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، سپس برشها دو بار در گزیلن، فسفات بافرسالین با PH = ۷/۴ قرار داده شدند. همچنین به منظور حذف اتصالات غیراختصاصی از معرف بلاکینگ شرکت Dako استفاده شد. در مرحله بعد برشها دپارافینه و در درجات مختلف الکل رطوبت‌گیری شدند و برای بلوک فعالیت اندوژنوس پراکسید در ۰/۳٪ هیدروژن پراکساید به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند و سپس در PBS شسته شدند. جهت آشکارسازی آنتی ژن‌ها در اتوکلاو (۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، دو اتمسفر) به مدت ده دقیقه قرار گرفته و بعد از این مرحله و رسیدن به دمای آزمایشگاه، با بافر PBS و آنتی بادی اولیه Anti ki67 (DAKO, A/S, Glostrup, Denmark) و Anti Bcl2(Clone124,Sotype:IgG, Kappa, DAKO, Denmark) به مدت یک ساعت در حرارت مرطوب انکوبه شده و سپس در PBS شسته و مجدداً با Biotinylated anti mouse lgG به مدت ده دقیقه در درجه حرارت اتاق انکوبه شدند. برای مشاهده محصولات واکنش از DAB ´۳و ۳ (۳٪) یا دی آمینوبنزیدین هیدروکلراید استفاده شد و با هماتوکسیلین مایرز جهت رنگ زمینه مقاطع رنگ‌آمیزی و رطوبت‌گیری و در نهایت با لامل پوشیده شدند. برای کنترل مثبت در مورد نشانگر Ki67، کارسینوم سلول سنگفرشی حفره دهان و در مورد BCL-2، داکتال کارسینومای پستان در نظر گرفته شد و کنترل منفی استفاده از بافر PBS با PH = ۷/۴ به جای آنتی بادی منوکلونال بود.

تمامی اسلایدهای رنگ‌آمیزی شده توسط میکروسکوپ نوری Olympus (B X 41) با بزرگ نمایی (X ۴۰۰) مشاهده

شدند. در هر اسلاید HPF (High power Field) ۱۰ به صورت پشت سرهم مشاهده شد و تعداد کل سلول‌های اپی‌تلیالی در هر فیلد شمرده شد. همچنین تعداد هسته سلول‌های اپی‌تلیالی رنگ پذیر شده با Ki67 و تعداد سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیالی رنگ پذیر شده با BCL-2 شمارش و در نهایت تعداد سلول‌های رنگ پذیر شده به کل تعداد سلول‌های اپی‌تلیالی برای هر فیلد بررسی گردید و میانگین آنها به صورت Labeling Index (L.I) = (Mean ± SD%) در نظر گرفته شد.

دانسیته سلول‌های التهابی را توسط شمارش سلول‌های التهابی مجاور به اپی تلیوم تا عمق یک فیلد از غشای پایه در نظر گرفته و این دانسیته به صورت زیر Score بندی شد.(۶)

Grade o : (عدم التهاب) عدم مشاهده سلول‌های التهابی

Grade I : (التهاب خفیف) کمتر از ۱۵ سلول التهابی

Grade II : (التهاب متوسط) ۱۵- ۵۰ سلول التهابی

Grade III : (التهاب شدید) ۵۰ < سلول التهابی

Score التهابی برای هر فیلد به صورت جداگانه ثبت، سپس میانگین آن در لام مربوطه بررسی شد. کیست‌های غیر ملتهب رتبه صفر و یک و کیست‌های ملتهب رتبه دو و سه داشتند. در نهایت از آنالیز آماری Roc Curve جهت مقایسه لایه‌های مختلف اپی‌تلیوم کیست‌ها و از آزمون t برای مقایسه کل پوشش اپی‌تلیالی دو کیست ملتهب و غیرملتهب استفاده گردید.

یافته‌ها

از بین بیست نمونه ادنتوژنیک کراتوسیست انتخاب شده، ۱۴ مورد در جنس مذکر و شش مورد در جنس مؤنث بود. سن بیماران در ادنتوژنیک کراتوسیست از ۱۸- ۶۴ سال (۱۳ ± ۳۵/۱) بود. از نظر محل آناتومیکی ۱۶ مورد در فک پایین و چهار مورد در فک بالا مشاهده شدند. از بیست مورد ادنتوژنیک کراتوسیست، ده نمونه فاقد التهاب یا دارای التهاب خفیف بودند (رتبه صفر و یک) و ده نمونه دارای التهاب متوسط تا شدید (رتبه دو و سه) در دیواره کیست بودند. از نظر نمای هیستوپاتولوژی کراتوسیست‌های غیرملتهب دارای اپی‌تلیوم کلاسیک و کراتوسیست‌های ملتهب علاوه بر اپی‌تلیوم کلاسیک در مناطق التهاب متوسط تا شدید دارای اپی‌تلیوم سنگفرشی مطبق غیرکراتینیزه (متاپلاستیک) بودند.

رنگ پذیری با نشانگر Ki67 در لایه بازال کراتوسیست غیرملتهب و ملتهب به ترتیب ۰/۹۴٪ ± ۱۲/۳٪ و ۱/۱۷٪ ± ۱۶/۴٪ بود. رنگ پذیری با نشانگر Ki67 در لایه سوپرابازال کراتوسیست‌های غیرملتهب و ملتهب به ترتیب ۲/۱۷٪ ± ۴۱/۴٪ و۱/۴۷٪± ۴۳/۲٪ بود. اما در لایه‌های سطحی کراتوسیست‌های ملتهب و غیرملتهب عدم رنگ پذیری با نشانگر Ki67 مشاهده شد. Ki67 (L.I) در کل پوشش اپی تلیوم کیست‌های غیرملتهب ۱/۰۳٪± ۱۷/۹٪ و در کیست‌های ملتهب (۰/۸۸٪± ۱۹/۸٪) بود. اختلاف آماری معنی‌داری در بیان نشانگر Ki67 در لایه‌های مختلف اپی تلیوم و کل پوشش اپی‌تلیالی کیست‌های ملتهب و غیرملتهب مشاهده شد. (P< ۰/۰۵) (جدول ۱)

رنگ پذیری با نشانگر BCL-2 در لایه بازال ادنتوژنیک کراتوسیست غیرملتهب و ملتهب به ترتیب ۱/۲۴٪± ۹۹٪ و ۱/۹۱٪± ۹۷/۱٪ بود. رنگ پذیری با نشانگر BCL-2 در لایه سوپرابازال ادنتوژنیک کراتوسیست غیر ملتهب و ملتهب به ترتیب ۱/۰۳٪± ۱۲/۸٪ و ۱/۳۷٪ ± ۱۱/۱٪ بود. اما در لایه‌های سطحی ادنتوژنیک کراتوسیست ملتهب و غیرملتهب عدم رنگ پذیری با نشانگر BCL-2 مشاهده شد.

BCL-2 (L.I) در کل پوشش اپی‌تلیوم کراتوسیست‌های غیر ملتهب ۰/۷۵٪ ± ۳۷/۲٪ و در کیست‌های ملتهب۱/۰۹٪ ± ۳۶/۰۶٪ بود. اختلاف آماری معنی‌داری در بیان نشانگر BCL-2 در لایه‌های مختلف اپی‌تلیوم و کل پوشش اپی‌تلیالی کیست‌های ملتهب و غیرملتهب مشاهده شد. (P< ۰/۰۵) (جدول ۱)

رنگ‌پذیری با نشانگر Ki67 در کیست‌های ملتهب و غیر ملتهب بیشتر در هسته سلول‌های اپی‌تلیالی لایه سوپرابازال و بعضاً در ناحیه بازال مشاهده شد. رنگ‌پذیری با نشانگر BCL-2 در کیست‌های غیرملتهب و ملتهب بیشتر در سیتوپلاسم سلول‌های اپی تلیالی بازال و بعضاً در ناحیه سوپرابازال مشاهده شد.

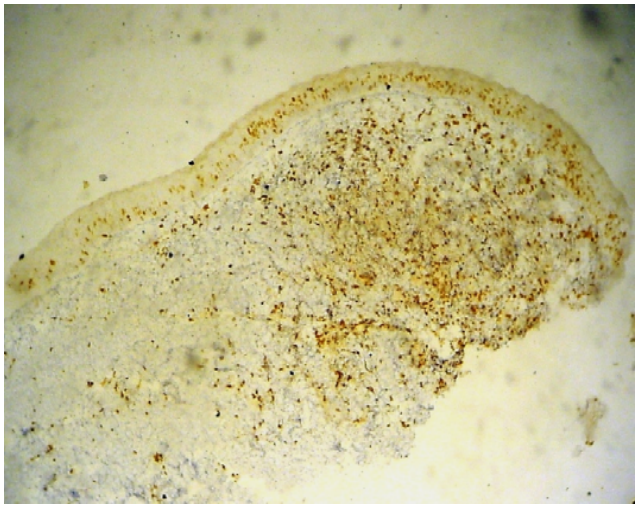
در دانسیته التهابی بالا (متوسط تا شدید) در مقایسه هر فیلد در کراتوسیست‌های ملتهب در لایه‌های مختلف اپی‌تلیوم و درکل پوشش اپی‌تلیالی آنها بیان Ki67 افزایش و بیان BCL-2 کاهش نشان داد. (P< ۰/۰۰۱) (شکل ۱ و ۲) همچنین بر طبق آنالیز Roc Curve سطح زیر منحنی با نشانگر Ki67 در لایه بازال برابر یک (CI ۰/۹۵) بوده و سطح زیر منحنی در لایه سوپرابازال با نشانگر Ki67 ، ۰/۷۷۵ (۰/۹۸۹ - ۰/۵۶۱

CI ۰/۹۵) می‌باشد. سطح زیر منحنی آنالیز Roc curve با نشانگر BCL-2 در لایه بازال، ۰/۷۸۵ (۰/۹۹۶ – ۰/۵۷۴ CI ۰/۹۵) بوده و سطح زیر منحنی در لایه سوپرابازال با این نشانگر ۰/۸۳۵(۱/۰۱–۰/۶۶۰ CI ۰/۹۵) می‌باشد. به عبارتی دیگر در مقایسه لایه‌های مختلف اپی‌تلیوم کراتوسیست‌های ملتهب و غیرملتهب اختلاف آماری معنی‌داری از نظر بیان BCL-2 و Ki67 مشاهده شد. ($p< ۰/۰۵$)

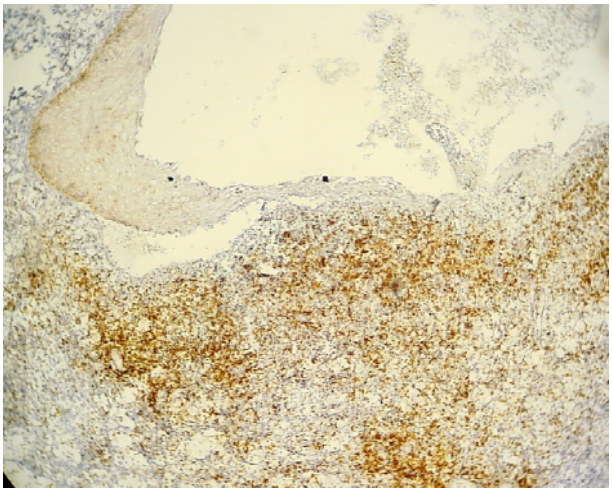
جدول ۱: بیان نشانگرهای Ki67 و BCL-2 در لایه‌های مختلف اپی‌تلیوم ادنتوژنیک کراتوسیست ملتهب و غیرملتهب

—	BCL-2	Ki67
لایه بازال		
Okc غیر ملتهب	٪۹۹ ± ٪۱/۲۴	٪۱۲/۳ ± ٪۰/۹۴
Okc ملتهب	٪۹۷/۱ ± ٪۱/۹۱	٪۱۶/۴ ± ٪۱/۱۷
لایه سوپرا بازال		
Okc غیر ملتهب	٪۱۲/۸ ± ٪۱/۰۳	٪۴۱/۴ ± ٪۲/۱۷
Okc ملتهب	٪۱۱/۱ ± ٪۱/۳۷	٪۴۳/۲ ± ٪۱/۴۷
کل پوشش اپی‌تلیالی		
Okc غیر ملتهب	* ٪ ۳۷/۲ ± ٪۰/۷۵	** ۱۷/۹ ± ٪۱/۰۳
Okc ملتهب	*٪۳۶/۰۶ ± ٪۱/۰۹	**٪ ۱۹/۸ ± ٪۰/۸۸

*،** P <۰/۰۵



شکل ۱: رنگ آمیزی ایمونو هیستو شیمی با نشانگر Ki67 در ادنتوژنیک کراتوسیست (X ۱۰)
در کراتوسیست ملتهب، با افزایش التهاب، بیان نشانگر Ki67 در موضع افزایش می یابد



شکل ۲: رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی با نشانگر BCL-2 در ادنتوژنیک کراتوسیست (X ۱۰)
در کراتوسیست ملتهب، با افزایش التهاب، بیان نشانگر BCL-2 در موضع کاهش می یابد

بحث

در مطالعه حاضر در ادنتوژنیک کراتوسیست‌های ملتهب، اپی تلیوم متاپلاستیک (سنگفرشی مطبق هیپرپلاستیک) مشاهده شد که این یافته خود بیان کننده ارتباط بین التهاب و مورفولوژی پوشش اپی‌تلیالی در ادنتوژنیک کراتوسیست می‌باشد. Li و همکاران مشاهده کردند که بیان عوامل رشدی اپیدرمال توسط ادنتوژنیک کراتوسیست و کیست دنتی‌ژروس و مشاهده بقایای اپی‌تلیالی ادنتوژنیک، مرتبط با وجود التهاب در دیواره بافت همبندی مجاور آنها می‌باشد. (۴)، در این مطالعه درLabeling Index Ki67, BCL-2 ادنتوژنیک کراتوسیست ملتهب و غیرملتهب اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. آنالیز نتایج مطالعه حاضر نشان داد که التهاب مجاور به پوشش اپی‌تلیالی ادنتوژنیک کراتوسیست علاوه بر اثر موضعی، باعث افزایش بیان Ki67 و کاهش بیان BCL-2در کل پوشش اپی‌تلیالی کراتوسیست می‌گردد. اما بدون در نظر گرفتن التهاب این افزایش یا کاهش موضعی(L.I) بر روی متوسط کل L.I Ki67, BCL-2 پوشش اپی تلیالی کراتوسیست مؤثر است و می‌توان این‌گونه بیان کرد که گاهی اوقات تبدیل اپی‌تلیوم کلاسیک ادنتوژنیک کراتوسیست به اپی‌تلیوم متاپلاستیک مرتبط با کاهش در (L.I) (در مورد BCL-2) نسبت به افزایش آن می‌باشد.

Scharffetter و همکاران با روش اتورادیوگرافی اثر التهاب را به صورت موضعی در تکثیر سلول‌های پوشش اپی‌تلیالی ادنتوژنیک کراتوسیست مطرح کردند اما آنالیز سلول‌های التهابی را انجام نداند. (۱۱)، چندین مطالعه دیگر اثر مستقیم التهاب را روی سلول‌های اپی‌تلیالی یافتند که از طریق اتصال مستقیم سلول‌های التهابی بوده یا آن را به پاسخ غیر مستقیم گروهی از سایتوکاین‌ها یا کموکاین‌های تولید شده توسط سلول‌های التهابی نسبت دادند. (۱۲– ۱۴)، در حقیقت عوامل رشدی، سایتوکاین‌های آزاد شده توسط سلول‌های التهابی موجود در دیواره ادنتوژنیک کراتوسیست ممکن است باعث افزایش فرایند تکثیری سلول‌های پوشش اپی‌تلیالی در کراتوسیست ملتهب نسبت به غیرملتهب گردد ولی اختلاف مرتبط با التهاب در بیان نشانگرهای Ki67 و BCL-2 ممکن است مرتبط با مکانیسم‌های مختلف تنظیم کننده نشانگرهای مذکور باشد. در فرآیند تکثیر سلولی نیاز به تقسیم سلولی بوده که تحت کنترل مولکول‌های بیان شده در طی چرخه سلولی می‌باشد (۱۵) و دارای مسیرهای متفاوت و عوامل تنظیم کننده مختلف بوده (۶) به همین دلیل ممکن است بیان Ki67 درکیست‌های ملتهب‌افزایش وبیان BCL-2در کیست‌های ملتهب کاهش را نشان دهد.

اگرچه ادنتوژنیک کراتوسیست، کیست ادنتوژنیک تکاملی است ولی التهاب در دیواره بافت همبندی آن در ۷۵٪ موارد گزارش شده است.(۱۶)، وجود التهاب در دیواره کیست ممکن است باعث پرفوراسیون استخوان متراکم فک شده و در اتصال مخاط دهان به اپی‌تلیوم کیست مؤثر باشد.(۱۷)، هایپرپلازی اپی‌تلیالی در پاسخ به تحریک التهابی، فرآیند کاملاً شناخته شده‌ای به ویژه در کیست‌هایی با منشأ التهابی مانند رادیکولار کیست است اما در کیست‌های ادنتوژنیک تکاملی این تغییر به دلیل وجود تحریک التهابی در نتیجه عفونت یا تروما مشاهده می‌شود. Shear و همکاران مطرح کردند در صورت برداشته شدن محرکهای التهابی در کراتوسیست سطوح بالای نشانگرهای Ki67 و PCNA کاهش می‌یابند.(۱۸)

Rodu و همکاران گزارش کردند هنگامی که التهاب در دیواره کراتوسیست وجود دارد باعث تغییر در پوشش اپی تلیالی کیست مثل کیست‌های ادنتوژنیک التهابی می‌گردد و موجب تغییر در رفتار بیولوژیکی کیست مذکور می‌شود.(۵) Singh و همکاران اختلاف در بیان انکوپروتئین BCL-2را در کراتوسیست ملتهب نسبت به غیرملتهب گزارش کردند (۱۹) De Paula و همکاران تعداد کل سلول‌های اپی‌تلیالی و نیز سلول‌های اپی‌تلیالی رنگ‌پذیر شده با Ki67 و PCNA و AgNOR بیشتری را در کیست ادنتوژنیک ملتهب در مقایسه با غیرملتهب گزارش کردند.(۲۰)، در مطالعه حاضر میانگین L.I با نشانگرهای Ki67 و BCL-2درلایه‌های مختلف و کل پوشش اپی‌تلیالی درکیست‌های ملتهب و غیرملتهب تفاوت معنی‌داری را نشان داد که نتایج مطالعه Paula و همکاران به نوعی در توافق با این مطالعه می‌باشد، اما Kaplan و همکاران التهاب موجود در دیواره کراتوسیست را بر روی فعالیت تکثیری کلی اپی تلیوم آن مؤثر ندانستند و تنها تأثیر موضعی التهاب را بر روی فعالیت تکثیری اپی تلیوم کیست تأیید کردند.(۶)، شاید از دلایل تفاوت نتایج مطالعه حاضر با مطالعات دیگر به دلیل اختلاف در روش کار و متدولوژی باشد.

التهاب دارای اثرات متفاوتی بر روی پوشش اپی‌تلیالی ارگان‌های مختلف است. در چندین ضایعه پاتولوژیک، التهاب موجب پرولیفراسیون اپی‌تلیالی معده (۲۱) هیپرپلازی پروستات (۲۲) متاپلازی در اپی‌تلیوم بینی (۲۳) و پولیپ متاپلاستیک کولون(۲۴) شده است. Mc Donald و Fletcher مطرح کردند که بیان سیتوکراتین در کراتوسیست به طور موضعی در محلهای دارای التهاب شدید تغییرمی‌کند. (۲۵) در این مطالعه به ویژه در کراتوسیست‌های ملتهب بیان Ki67 در لایه‌های میانی نسبت به بازال اپی‌تلیوم کیست افزایش نشان داد که به نوعی بیان کننده اختلال ایجاد شده در پوشش اپی‌تلیالی کراتوسیست است.

نتیجه‌گیری

التهاب متوسط تا شدید بر فعالیت تکثیر کلی اپی‌تلیوم ادنتوژنیک کراتوسیست مؤثر بوده و موجب افزایش در بیان Ki67 و کاهش در بیان BCL-2گردید که احتمالاً بسته به عملکرد نشانگرها در مسیر چرخه سلولی و مکانیسم‌های مختلف تنظیم کننده آنها نسبت به التهاب متفاوت می‌باشد و خود ممکن است دلیلی بر وجود اختلال در پوشش اپی تلیالی ادنتوژنیک کراتوسیست و توجیه کننده عود و تهاجم موضعی این کیست باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی است که در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بابل انجام شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل و کلیه همکاران دخیل در انجام آزمایش ایمونوهیستوشیمی تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Stoelinga PJ. Long-term follow-up on keratocysts treated according to a defined protocol. Int J Oral Maxillofac Surg. 2001 Feb; 30 (1): 14-25.
2. EL-Hajj G, Anneroth G. Odontogenic keratocyst- a retrospective clinical and histologic study. Int J Oral Maxillofac Surg. 1996 Apr; 25(2): 124-9.
3. Shear M. The Aggressive nature of odontogenic keratocyst: Is it a benign cystic neoplasm? Part 1: clinical and early experimental evidence of aggressive behavior. Oral Oncol. 2002 Apr; 38(3): 219-26.
4. Li T-J, Browne RM, Matthews JB. Quantification of $PCNA^{+}$ cells within odontogenic jaw cyst epithelium. J Oral Pathol Med. 1994 Apr; 23(4): 184-9.
5. Rodu B, Tate AL, Martinez MG Jr. The Implications of inflammation in odontogenic keratocysts. J Oral Pathol. 1987 Nov; 16(10): 518-21.
6. Kaplan I, Hirshberg A. The correlation between epithelial cell proliferation and inflammation in odontogenic keratocyst. Oral Oncology 2004 Nov; 40(10): 985-91.
7. Saracoglu U, Kurt B, Gunhan O. Gunven O. Expression in odontogenic epithelial rests, epithelium of healthy oral mucosa and epithelium of selected odontogenic cysts. An immunohistochemical study. Int J Oral Maxillofac Surg. 2005 Jun; 34 (4): 432-35.
8. Brown, DC, Gatter KC. Ki67 protein: the immaculate deception? Histo Pathology. 2002 Jan; 40(1):2-11.
9. Kichi E, Enokiya Y, Muramatsu T, Hashimoto S, Inoue T, Abiko Y et al. Cell proliferation, apoptosis and apoptosis-related factor in odontogenic keratocysts and in dentigerous cyst. J Oral Pathol Med. 2005 May; 34 (5): 280-6.
10. Piatelli A, Femni M, Rubini C. Differentiation of odontogenic keratocysts from other odontogenic cysts by the expression of bcl2 immunoreactivity. Oral oncology 1998 Sep; 34 (5): 404-407.
11. Schaffetter K, Bal Z- Herrmann C, Lagrange W, Koberg W, Mittermayer Ch. Proliferation kinetics study of the growth of keratocysts. Morpho – Functional explantation for recurrences. J Craniomaxillofac Surg. 1989 Jul; 17 (5): 226-33.
12. Parkos CA. Cell adhesion and migration. 1. Neutrophil adhesive interaction with intestinal epithelium. Am J Physiol. 1997 Oct; 273(4pt1): 763-68.
13. Murdoch C, Monk PN, Finn A. Functional expression of chemokine receptor CXCR4 on humon epithelial cells. Immunology 1999 Sep; 98 (1): 36-41.
14. Tanaka Y, Kojima H, Miyazaki M, Koga T, Moriyama H. Roles of cytokines and cell cycle regulating substances in proliferation cholesteatoma epithelium. Laryngoscope. 1999 Jul; 109(7pt1): 1102-7.
15. Dunphy WG, Newport JW. Unravelling of mitotic control mechanisms cell. 1988 Dec; 55 (6): 925-28.

16. Woolgar JA, Rippin JW, Browne RM. A comparative study of the clinical and histological features of recurrent and non recurrent odontogenic keratocysts. J Oral Pathol. 1987 Mar; 16(3): 124-8.
17. Frossell K. The primordial cyst. A clinical and radiographic study. Proc Fin Dent Soc. 1980 Nov; 76(3): 129-74.
18. Shear M. The aggressive nature of the odontogenic keratocyst, is it a benign cystic neoplasm? Part2. Proliferation and genetic studies. Oral Oncology 2002 June; 38(4): 323-331.
19. Singh B, Chandler JR, Coughman G, Whitaker B, Zunt S. Immunohistochemical status of Bcl2 oncoprotein in the odontogenic keratocyst. Oral Surg Oral Med Oral Pathal Oral Radiol Endod. 1998 Feb; 86 (1):214.
20. De Paula AM, Carvalhais JN, Domingues MG, Barret Dc, Mesquita RA. Cell proliferation markers in the odontogenic keratocyst: Effect of inflammation. J Oral pathol Med. 2000 Nov; 29 (10). 477-82.
21. Jang TJ, Kim JR. Proliferation and apoptosis in gastric antral epithelial cells of patients infected with helicobacter pylori. J Gastroenterol. 2000 Apr; 35(4): 265-71.
22. Kessler OJ, Keisari Y, Servadio C, Abramovici A. Role of chronic inflammation in the promotion of prostatic hyperplasia in rats. J Urol. 1998 Mar; 159 (3): 1049-53.
23. Nakagawa T, Yamane H, Nakai Y, Shigeta T, Takashima T, Takeda Z. Comparative assessment of cell proliferation and accumulation of extracellular matrix in nasal polyps. Acta Otolaryngol Suppl. 1998 Apr; 538 (1): 205-8.
24. Higaki S, Akazawa A, NaKamura H, Yanai H, Yashida T, Okita K. Metaplastic polyp of the colon develops in response to inflammation. J Gasteoenterol Hepatol. 1999 Jul; 14 (7): 709-14.
25. MacDonald AW, Feletcher A. Expression of cytokeratin in the epithelium of dentigerous cysts and odontogenic keratocysts: An aid to diagaesis. J Clin PathoL. 1990 Jul; 42 (7): 736-9.