پژوهنده (مجله پژوهشي دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي)
سال سيزدهم, شماره ۲ , پي در پي ۶۲ ، صفحات ۱۴۹ تا ۱۵۴
خرداد و تير ۱۳۸۷

تاريخ دريافت مقاله ۸۵/۱۱/
تاريخ تجديد نظر ۸۶/۵/۷
تاريخ پذيرش مقاله ۸۶/۸/۷

بررسي ماركرهاي**ki – 67** ، **PCNA** درفوليكول دندانی و كيست دنتي ژروس

دكتر فاطمه مشهدي عباس[۱] ، دكتر امير علا اغبالي[۲]، دكتر شيما نفر زاده[۳] *

چكيده

سابقه و هدف: *كيست دنتي ژروس شايع ترين كيست تكاملي /دنتوژنيک /است كه /از R.E.E منشأ مي گيرد و قابليت تبديل نئوپلاستيک به ضايعاتي نظير Ameloblastoma ، Mucoepidermoid carcinoma وSquamous cell carcinoma را دارد. ki- 67 ، PCNA دو ماركر پروليفراسيون سلولي مي باشند كه در كيست ها و تومورهايي با منشأ /پي تليالي قابل رديابي هستند. با توجه به شيوع /اين كيست و فوليكول دندان و عوارض شناخته شده آن ها و /اهميت /اطلاع /از ماركرهاي دخيل در بروز آن ها و هم چنين وجود گزارشاتي مبني بر مشاركت ماركرهاي Ki-67 ، PCNA درايجاد آن ها /اين تحقيق برروي نمونه هاي موجود در بخش پاتولوژي دانشكده دندانپزشكي شهيد بهشتي صورت گرفت.*

مواد و روش ها: */اين تحقيق با طراحي توصيفي /انجام گرفت. تعداد۲۰نمونه فوليكول دندانی و۲۰ نمونه كيست دنتي ژروس كه تشخيص قطعي داشتند /از فايل دانشكده خارج و ماركرهاي PCNA ki-67 با روشIHC و به كارگيري تكنيک streptavidin- avidin biotin در زيرميكروسكوپ نوري بررسي شدند. نتايج با روش هاي آمارتوصيفي و تحليلي مورد قضاوت آماري قرارگرفتند.*

يافته ها: */از۲۰ نمونه فوليكول دندانی ۲۵% براي ماركرKi-67 مثبت بودند /اين مقدار براي كيست دنتي ژروس ۷۰%بود. ماركر PCNA در ۳۵% فوليكول هاي دندانی و۸۰% كيست دنتي ژروس مثبت بود.*

نتيجه گيري: *به نظرمي رسدكه /افزايش بروز ماركرهاي ki-67 , PCNA درپاتوژنزكيست دنتي ژروس دخيل باشد. بررسي نقش آن ها را با تحقيقات تحليلي پيشنهاد مي كنيم.*

واژگان كليدي: *ماركر **ki – 67** ، ماركر **PCNA** ، فوليكول دندانی ، كيست دنتي ژروس*

مقدمه

فوليكول دنداني بخشي از جوانه دنداني با منشأ اكتومزانشيم است كه شامل دو بخش تاجي و ريشه اي است. فوليكول بخش تاجي از طريق REE به مينا چسبيده و نقش آن در رويش دندان است و پس از رويش دندان از بين مي رود و فقط بقاياي از آن در ناحيه ي CEJ (Cervicoenamel Junction) به جا مي ماند (۱). بخش ريشه اي هم پريودنشيوم را مي سازد. در دندان هاي نهفته فوليكول در اطراف تاج باقي مي ماند. اين بافت قابليت تغييرات كيستيک داشته و مي تواند به كيست دنتي ژروس تبديل شود. (۲ و۳)

كيست دنتي ژروس شايع ترين كيست تكاملي ادنتوژنيک است. اين كيست ازREE منشأ مي گيرد و حدود ۲۰٪ از كيست هاي اپي تليالي فكين را شامل مي شود. پاتوژنز قطعي اين كيست ناشناخته است و برخي معتقدند كه از تجمع مايع در حد فاصل تاج دندان و فوليكول دنداني اطرافش ايجاد مي شود (۲و۳). دو ماركر ki- 67 و PCNA

۱ . استاديار ، گروه پاتولوژی ، دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي
۲ . استاديار ، گروه پاتولوژی ، دانشگاه علوم پزشكي تبريز
۳ * . نويسنده مسؤول : دستيار پاتولوژی ، دانشكده دندانپزشكي ، دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي . آدرس براي مكاتبه : تهران ، اوين ، بلوار دانشجو ، دانشكده دندانپزشكي ، بخش پاتولوژی . پست الكترونيک : **shima_nafar2004 @ yahoo.com**

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

در مقالات متعددي در کيست دنتي ژروس و فوليکول دنداني بررسي شده اند و بروز آن ها را در پاتوژنز کيست دنتي ژروس و فوليکول دندان دخيل مي دانند (۴). اگر از مارکرهاي واقعي دخيـل در ايجـاد آن ها اطلاع نداشته باشيم و کيست دنتي ژروس به موقع تشخيص داده نشود مي تواند مشکل ساز باشد زيرا اين کيست رفتار بيولوژيک ويژه اي دارد. معمولاً بدون علامت است و طي يک معاينه روتين دندانپزشکي کشف مي شود. اما گاهي موجب اتساع استخوان و درد مي گردد و در مواردي که خيلي بزرگ شود مي تواند موجب جابجايي دندان نهفته همراهش در فکين شود. نماي هيستوپاتولوژي ويژه اين ضايعه و حضور سلول هاي موکوسي و سباسه در اين کيست خصوصيت Multi Potential به اين کيست بخشـيده است به طوري که مواردي از ايجاد ضايعات تومورال نظيـر آملـو بلاستـوما، MEC (Mucoepidermoid Carcinoma)، SCC (Squamous Cell Carcinoma) در اين کيست گزارش شده است (۲و۳و۵). فرضيه منشأ پيدايش کيست دنتـي ژروس و تبديل فوليکول دنداني به اين کيست منجر به تحقيقات متعددي بر روي اين دو و بررسي خصوصيات بيـولوژيک و هيستـولوژيـک آن هـا شـده است. علـت رفتـار بيولوژيک فوليکول دنداني وکيست دنتي ژروس نامعلوم است. لذا يکي از اولويت هاي پژوهشي اطلاع از مارکرهاي دخيل در بروز اين دو مي باشد. Konstantinos اولين بار در سال ۲۰۰۰ مطـرح کردنـد که بروز مارکر67 -ki در سلول هاي لايه بازال اپي تليالي جدار کيست دنتي ژروس در ايجاد اين دخيل است (۶).

Matulova و همکاران در سال ۲۰۰۲ بروز PCNA را در جوانه دنداني در حال رشد بررسي کردند و دريافتند که در تمامي مراحل رشد جوانه اين مارکر بروز مي کند و همواره سلول هايي را که از فعاليت پرولیفراتيو برخوردارند رنگ مي کند (۷).

Piatelli و همـکاران در سـال ۲۰۰۲ ، 67 -ki را در کيست دنتي ژروس، آملوبلاستـوماي تـک کيستيک و آملوبلاستـوماي ايجاد شـده در جدار کيست دنتي ژروس رديابي کردند و نتيجه گرفتند که با تومورال شدن کيست دنتي ژروس ميزان بروز اين مارکر افزايش مي يابد (۵). Edematsu و همکاران در سال ۲۰۰۵ مارکرهاي PCNA و67 -ki را درکيست دنتي ژروس و فوليکول دنداني رديابي کرده اند و به اين نتيجه رسيدند که اين دو مارکر در هر دو بافت مذکور بروز مي کنند ولي بروز آن ها در کيست دنتي ژروس بيش تر است (۴).

با توجه به اين يافته ها و با توجه به شيوع کيست دنتـي ژروس و اهميت اين دو مارکر بر آن شديـم دو فاکتور رشدي PCNA و Ki-67 را در نمونه هاي داراي تشخيص قطعي کيست دنتـي ژروس و فوليـکول دندان در دانشکده دندانپزشکي شهيد بهشتي بررسي کنيم.

Ki- 67 يک پروتئين آمورف هسته اي غير هيستوني است که وزن مولکولي آن ۳۵۸ – ۳۱۹ کيلودالتون است. اين مارکر رشدي در هسته سلول هاي در حال رشد ارزيابي شده است. اين پروتئين براي سنتز DNA ضروري است و از اين مارکر به عنوان فاکتوري براي تعيين رشد و نحوه رشد استفاده مي شود.

PCNA يک پروتئين ۳۶ کيلو دالتوني هسته اي است و به عنوان يک پروتئين کمکي DNA- Polypeptidase است. Peak آن در مرحله G1/S (از مراحل چرخه سلولي) است و در فاز G2 تقسيم سلولي مقدار آن کاهش مي يابد. همين ويژگي موجب شده تا با رديابي آن ميزان، نحوه رشد و پروگنوز برخي ضايعات را مورد مطالعه و بررسي قرار دادند. براي رديابي اين مارکرها از روش هاي مختلف مي توان استفاده کرد و در اين مطالعه از روش رنگ آميزي Immunohistochemistry بهره گرفته شده است. اين روش با توجه به مطالعات مشابهي که به رديابي اين مارکرها پرداخته اند براي اين تحقيق برگزيده شده است. (۶-۹).

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

مواد و روش ها

این تحقیق به روش توصیفي صورت گرفت. حجم نمونه بر اساس يك مطالعه آزمايشي و اين كه مارکرKi-67 در۲۵% فوليكول دنداني و ۷۰% كيست دنتي ژروس با سطح اطمينان ۹۵% و توان آزمون۹۰% رنگ گرفت تعداد ۲۰ نمونه در هر گروه تعيين شد. با مراجعه به آرشيو بخش آسيب شناسي دهان و فک و صورت دانشكده دندانپزشكي شهيد بهشتي بلوک هايي كه اولاً تشخيص قطعي فوليكول دنداني و كيست دنتي ژروس داشتند و ثانياً از نظر مقدار كافي و به ظاهر سالم بودند به وسيله دستيار آسيب شناسي و زير نظر متخصص انتخاب شدند و نمونه گيري ادامه پيداكرد تا به تعداد مقرر نايل شديم.

بعد از انتخاب بلوک ها دو برش ۵ ميكروني از هر كدام تهيه شد و با رنگ آميزي IHC و به كارگيري روش Avidin- Biotin به شرح زير رنگ آميزي شدند.

پس ازپارافين گيري و آب گيري با الكل گراديانت با استفاده از محلول ۰/۳% H2O2 درمتانول، پراكسيداز داخلي غير فعال شد. نمونه هاي تهيه شده جهت Antigen retrival در محلول سيترات بافر در Microwave (700 watt) به مدت ۱۵ دقيقه قرار داده شدند. سپس آنتي بادي اوليه (PCNA clone :Pc10 و USA, DAKO, Ki-67 clone:MIB-1) با غلظت ۱/۱۰۰ بر روي هر نمونه اضافه شد و نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت انكوبه شدند.

نمونه ها با Biotinlated- antimouse immunoglobulin انكوبه شدند(Denmark, DAKO , Ko673). از محلول (D.A.B) diaminobenzidine tetrahydrocholoride به عنوان كروموژن استفاده شد و با Meyer’s hematoxilin counterstain به عنوان counter stain رنگ آميزي و سپس نمونه ها mount شدند. هر نمونه با ميكروسكوپ نوري مورد بررسي قرارگرفت.

آنتي بادي اوليه مورد استفاده در مورد anti PCNA، (Clone Sigma 1: 100 PC 10) PCNA و در مورد anti- ki-67 Ki-67 (Clone MIBI 1: 100) بود.

- روش ارزيابي هرلام:

لام هايي مثبت قلمداد شدند كه هسته سلول هاي اپي تليالي پوشش جدار كيست يا اپي تليوم پوشاننده فوليكول دنداني قهوه اي رنگ گرفته بودند. براي ارزيابي ميزان رنگ گرفتگي چهار ميدان ديد (shun) به صورت تصادفي انتخاب شدند و درصد سلول هاي رنگ گرفته اگر كم تر از ۲۵٪ بود (+) و اگر مابين ۲۵٪ تا ۷۵٪ بود (++) و اگر بالاي ۷۵٪ (+++) قلمداد مي شد. در مورد شدت رنگ گرفتگي مواردي كه با درشت نمائي X4 هسته ها ديده مي شدند (+++) مواردي كه با X10 ديده مي شدند (++) و مواردي كه با X40 ديده مي شدند (+) اتلاق گرديدند (۴).

يافته ها

الف – رنگ گرفتگي يا عدم رنگ گرفتگي بافت ها:

تحقيق روي ۲۰ نمونه فوليكول دنداني و۲۰ نمونه كيست دنتي ژروس انجام گرفت. فراواني مارکر برحسب نوع بافت در جدول ۱ ديده مي شود كه نشان مي دهد فوليكول هاي دنداني ۵ مورد (۲۵%) با مارکرKi-67 و كيست دنتي ژروس ۱۴ مورد(۷۰٪) با اين مارکر رنگ گرفتند آزمون مجذور كاي نشان داد كه اين اختلاف معني دار است (P<۰/۰۱).

جدول۱- توزيع بافت ها برحسب مارکرKi-67

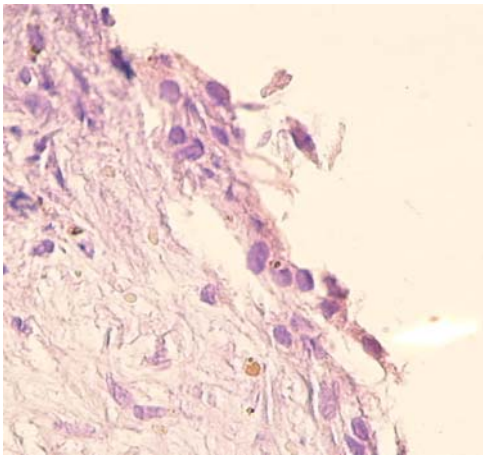
نوع بافت/ مارکرki-67	مثبت تعداد (%)	منفي تعداد (%)	جمع
فوليكول	۵ (۲۵)	۱۵(۷۵)	۲۰
دنتي ژروس	۱۴ (۷۰)	۶(۳۰)	۲۰

از نظر رنگ گرفتگي با مارکر PCNA ۷مورد (۳۵%) از فوليكول هاي دنداني و ۱۶ مورد (۸۰%) كيست هاي دنتي ژروس رنگ گرفتند (جدول ۲) و آزمون مجذور كاي نشان داد كه اين اختلاف معني دار است (P<۰/۰۱).

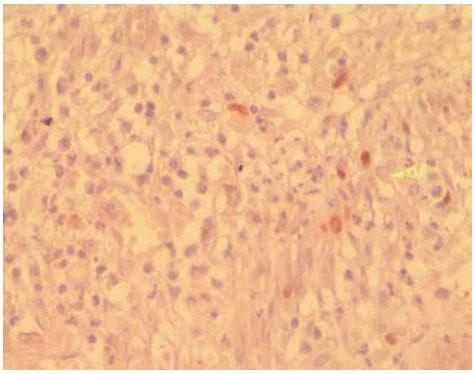
[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

جدول ۲- توزيع بافت ها برحسب مارکر PCNA

نوع بافت / مارکرPCNA	مثبت تعداد (%)	منفي تعداد (%)	جمع
فوليکول	۷ (۳۵)	۱۳ (۶۵)	۲۰
دنتيژروس	۱۶ (۸۰)	۴ (۴۰)	۲۰



تصوير ۱- رنگ گرفتگي فوليکول دنداني باPCNA



تصوير ۲- رنگ گرفتگي کيست دنتي ژروس باPCNA

ب – طرح رنگ گرفتگي بافت ها:

از نظر شدت رنگ گرفتگي با مارکر PCNA فوليکول دنداني ۱۰٪ (+) و ۱۵٪ (++) و کيست دنتي ژروس ۴۵٪ (+) و ۵٪ (++) و۲۰٪ (+++) بودند که آزمون مجذورکاي اختلاف معني داري را نشان داد (P<۰/۰۱). از نظر شدت رنگ گرفتگي با مارکر67 -ki فوليکول دنداني ۱۰٪ (+) و ۱۰٪ (++) و کيست دنتي ژروس ۲۵٪ (+) و ۲۵ ٪ (++) و ۲۰٪ (+++) بودند و با آزمون مجذور کاي اختلاف معني دار است (P<۰/۰۱).

از نظر ميزان رنگ گرفتگي با مارکر PCNA فوليکول دنداني در ۳۰٪ (+) و در ۵٪ (++) و کيست دنتي ژروس در ۵۵٪ (+) و۱۰٪ (++) و ۱۵٪ (+++) بود که با توجه به آزمون مجذور کاي اختلاف معني دار است (P<۰/۰۱).

از نظر ميزان رنگ گرفتگي با مارکر 67 -ki در فوليکول دنداني۲۰٪ (+) و ۵٪ (++) و در کيست دنتي ژروس ۴۵٪ (+) و ۵٪ (++) و ۲۰٪ (+++) بودندکه با آزمون مجذور کاي اختلاف معني دار است (P<۰/۰۱).

بحث

اين تحقيق نشان داد که مارکرهاي PCNA، Ki-67 در نمونه هاي کيست دنتي ژروس بيش تر از فوليکول دنداني بروز مي يابند.

نتايج اين تحقيق با نتايج تحقيق انجام شده توسط Edematsu مطابقت دارد. در تحقيق انجام گرفته توسط Edematsu معلوم شد که سلول هاي اپي تليالي فوليکول در تمامي مراحل تکامل، رنگ پذيري با چـه مارکـري را نشان مي دهند. از نظر طرح رنگ آميزي هم تشابه فراواني بين نتايج ما و Edematsu موجود است (۵) نتايج گرفته شده به وسيـله Matulva مشابه دو تحقيق فوق است (۷).

Tripi (۶) همانند تحقيقات ذکر شده فاکتورهاي PCNA ki- 67 را بر روي ضايعات ادونتوژنيک بررسي کرد. نتايج تحقيق مؤيد ايـن نکتـه بودند که اين مارکرها در ضايعات ادونتوژنيک ديگر هم بروز مي کند و با افزايش خاصيت پرولیفراتيو بروز آن ها هم بيش تر مي شود. از ۲۰ مورد کيست دنتي ژروس با مارکر PCNA ۱۶مورد (۸۰٪) مثبت و با مارکر 67 -ki، ۱۴ مورد (۷۰٪) مثبت بودند که نتايج مشابه تحقيق ما بود.

در مطالعـه Edematsu و همـکاران (۵) بروز مارکرهاي

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

PCNA وKi-67 در کيـست دنتـي ژروس مورد بررسي قرارگرفتند. او نتيجه گرفت که اين مارکرها در کيست دنتي ژروس بروز مي کنند و مي توان اين مسأله را به عنوان روشي براي بررسي پرولیفراسیون کیست دنتي ژروس به کار برد و بر روي شدت و ميزان رنگ گرفتگي کار انجام نگرفته که بتوان مقايسه کرد.

Sharshta و همکاران (۹) در مطالعه بر روي ضايعات ادونتوژنيک نتيجه گرفتند که لايه بازال همه کيست ها و اکثر تومورها با فاکتورهاي رشدي رنگ مي گيرند. نتايج گرفتـه شـده تـا حـدودي مطابـق نتـايج تحقيـق صورت گرفته توسط ما مي باشد و فقط رنگ گرفتن و عدم آن بررسي شده است. تفاوت هاي احتمالي در نتايج احتمالاً به دليل انتخاب حجم نمونه، فاکتور مورد بررسي (EGF)، جامعه مورد بررسي و چگونگي انتخاب نمونه ها مي باشد.

در نهايت تحقيق صورت گرفته توسط ما يك تحقيق توصيفي بوده و فقط يک گام اوليه مي باشد. نياز به بررسي بيش تر با مطالعات آناليتيکال و case-control و cohort مي باشد.

نتيجه گيري

به طور کلي از اين تحقيق نتيجه گرفته مي شود که فوليکول تا درصدي و دنتي ژروس هر دو فاکتورهاي رشدي Ki-67 و PCNA را بروز مي دهند و از فعاليت پرولیفراتيو برخوردارند و ايـن فعاليـت در کيست دنتـي ژروس بيش تر است. نتيـجه اين تحقيق را مي توان اين طور توجيه کرد که فوليکول دنداني يك ضايعه غيرپاتولوژيك اسـت و وقـتي سلول هاي پوشـاننده سطح داخلي آن تکثير پيدا مي کنند وارد مرحله precystic و cystic مي شود . شايد ايـن نتايج بتـواند فرضيه تبديل فوليکول دنداني به کيست دنتي ژروس را در دوره ي زمـاني تقويت کند. لذا با درمـان مناسب بايد جلوي تبـديل فوليـکول دنـداني به کيست دنتي ژروس گرفته شود.

REFERENCES

1. Ten Cate AR. Oral Histology: Development, structure and function RK 280. T96, 6th ed. St Louis: The CV Mosby. 2003; PP: 1-6.
2. Neville B, Damm D, Allen M, Bougot J. Oral and Maxillofacial Pathology. 2nd ed. WB Saunders. 2002; PP: 590-5.
3. Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan R. Clinical pathologic correlation. 4th ed. WB Saunders. 2003; PP: 246-8.
4. Edematsu M, Kumamoto H, Ooya K, Echigo S. Apoptosis - related factor in the epithelial components of dental follicle and dentigerous cysts associated with impacted third molar of mandible. Am J Oral Surg Oral Pathol Endod 2005; 99: 17-23.
5. Piatelli AD, Lezzi G, Fioroni MA, Santinellr AL, Fubini MM, Santinelli AF, et al. Ki- 67 expression in dentigerous cyst, unicystic ameloblastoma and ameloblastona arising in dentigerous cyst. Am J Endodon 2002; 128: 56-62.
6. Konstantinos J, Karantza E, Karantza AN. Immunohistohemical study of bel-2 protein, Ki-67 and P53 protein in epithelial of glandular odontogenic cyst and dentigerous cyst. Am J Oral Pathol Med 2000; 29: 139- 44.
7. Matulova P, Witter K, Misek J. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression in tooth primordial in the fide vole (microtus agrestis Rodentia). Connect Tissue Res 2002; 43: 138-42.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]

8. Trippi TR, Bonaccorso A, Rapisarda F, Bartoloni G. Proliferative activity in periapical lesion. Aus J Endod 2003; 29: 31-3.

9. Sharshta P, Yamada K, Higa S, Mori M. Epidermal growth factor receptor in odontogenic cyst and tumors. Am J Oral Pathol Med 1992; 21: 314-7.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-11-18]