

## Comparison of cathepsin-D expression in unicystic ameloblastoma, odontogenic keratocyst and orthokeratinized odontogenic cyst using an immunohistochemical method

Forooz Keshani<sup>1</sup>, Neda Kargahi<sup>2,\*</sup>, Maedeh Ommani<sup>3</sup>

1- Assistant Professor, Department of Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Member of Dental Research Center, Research Center Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Associate Professor, Department of Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Member of Dental Research Center, Research Center Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Dentist, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran; Member of Research Committee of Dental School, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

### Article Info

**Article type:**  
Original Article

**Article History:**  
Received: 28 Oct 2021  
Accepted: 1 Agu 2022  
Published: 4 Agu 2022

**Corresponding Author:**  
Neda Kargahi

Department of Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

(Email: kargahi@dnt.mui.ac.ir)

### Abstract

**Background and Aims:** Cathepsin-D is a well-known protease that promotes invasion in tumoral lesions. Considering the cystic neoplasm nature of odontogenic keratocyst (OKC), the aim of this study was to compare the expression of cathepsin-D in this lesion with the unicystic ameloblastoma (UA) and orthokeratinized odontogenic cyst (OOC) for better understanding of its behavior.

**Materials and Methods:** In this descriptive-analytical study, we used paraffin blocks available in the archives of oral and maxillofacial pathology department of dental school (8 unicystic ameloblastoma (UA), 8 odontogenic keratocyst (OKC) and 8 orthokeratinized odontogenic cysts (OOC)) which they were stained immunohistochemically with cathepsin-D. Then, the samples were observed simultaneously by two oral pathologists for detection of the intensity and pattern of epithelial and stromal cells staining. Data were analyzed by SPSS20 and Kruskal-Wallis, Mann-Whitney and Chi-square test ( $P < 0.05$ ).

**Results:** The staining intensity of the epithelial cells of UA group was significantly more than OOC and OKC ( $P = 0.02$ ). The staining intensity of the stromal cells of UA was more than the other two groups, although this difference was not statistically significant ( $P = 0.32$ ). The pattern of cell staining in epithelium and stroma did not show any significant difference between the three groups in this study ( $P = 0.15, 0.22$ ).

**Conclusion:** The results of this study regarding the intensity expression of cathepsin-D in these three odontogenic lesions could be considered as a probable evidence for the new odontogenic lesions classification (WHO2017) in terms of reintroducing OKC as an odontogenic cyst. If this idea is rejected, it seems that cathepsin-D expression is not associated with the invasive behavior of this cyst, and further investigation of other markers in the epithelium and stroma simultaneously is suggested for a better understanding of its biological nature.

**Keywords:** Cathepsin-D, Epithelium, Ameloblastoma, Odontogenic keratocyst

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2022;35:11

Cite this article as: Keshani F, Kargahi N, Ommani M. Comparison of cathepsin-D expression in unicystic ameloblastoma, odontogenic keratocyst and orthokeratinized odontogenic cyst using an Immunohistochemical method. J Dent Med-TUMS. 2022;35:11.



## بررسی مقایسه‌ای بیان کاتپسین D در تومور یونی سیستیک آملوبلاستوما، ادنتوژنیک کراتوسیست و کیست ادنتوژنیک ارتوکراتینیزه به روش ایمنوهیستوشیمیایی

فروز کشانی<sup>۱</sup>، ندا کارگهی<sup>۲\*</sup>، مائده عمانی<sup>۳</sup>

۱- استادیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛ عضو مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران  
۲- دانشیار گروه آموزشی آسیب شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛ عضو مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران  
۳- دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛ عضو کمیته پژوهش‌های دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
<p><b>نوع مقاله:</b> مقاله پژوهشی</p> <p>دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۰۶ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۱۰ انتشار: ۱۴۰۱/۰۵/۱۳</p> <p><b>نویسنده مسؤول:</b> ندا کارگهی</p> <p>گروه آموزشی آسیب شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران (Email: kargahi@dent.mui.ac.ir)</p>	<p><b>زمینه و هدف:</b> کاتپسین D، یک پروتئاز پیش برنده تهاجم در ضایعات تومورال شناخته شده است. با توجه به مطرح شدن ماهیت نئوپلاسم کیستیک برای ادنتوژنیک کراتوسیست، هدف این مطالعه مقایسه بیان کاتپسین D در این ضایعه با یونی سیستیک آملوبلاستوما و کیست ادنتوژنیک ارتوکراتینیزه، به منظور شناخت بهتر رفتار این ضایعه می‌باشد.</p> <p><b>روش بررسی:</b> در این مطالعه توصیفی-تحلیلی، بلوک‌های پارافینی موجود (۸ نمونه یونی سیستیک آملوبلاستوما (UA)، ۸ نمونه ادنتوژنیک کراتوسیست (OKC) و ۸ نمونه کیست ادنتوژنیک ارتوکراتینیزه (OOC)) در آر شیو بخش پاتولوژی دهان و فک و صورت تحت رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی کاتپسین D قرار گرفت. سپس لام‌ها توسط دو پاتولوژیست دهان از لحاظ شدت و الگوی رنگ پذیری سلول‌های اپیتلیالی و همبندی به طور هم زمان مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌ها با نرم افزار SPSS20 و آزمون‌های Kruskal-Wallis، Mann-Whitney و Chi-square تحلیل آماری شدند (<math>P=0/05</math>).</p> <p><b>یافته‌ها:</b> شدت رنگ پذیری در سلول‌های یونی سیستیک آملوبلاستوما به طور معنی‌داری بیشتر از دو گروه ادنتوژنیک کراتوسیست و کیست ادنتوژنیک ارتوکراتینیزه بود (<math>P=0/02</math>). شدت رنگ پذیری در سلول‌های استرومای همبندی نیز در گروه آملوبلاستوما یونی سیستیک بیشتر از دو گروه دیگر بود، هرچند این اختلاف از نظر آماری بین سه گروه معنی‌دار نبود (<math>P=0/32</math>). در مطالعه حاضر الگوی رنگ پذیری سلول‌ها در اپیتلیوم و استروما بین سه گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد (<math>P=0/15</math>، <math>0/02</math>).</p> <p><b>نتیجه گیری:</b> نتایج مطالعه حاضر در خصوص شدت بیان کاتپسین D در سه ضایعه ادنتوژنیک بررسی شده احتمالاً می‌تواند شاهدهی بر طبقه بندی جدید (WHO2017) از لحاظ قرار دادن دوباره ادنتوژنیک کراتوسیست در گروه کیست‌های ادنتوژنیک باشد و یا در صورت نپذیرفتن این ماهیت می‌توان گفت احتمالاً رفتار مهاجم این کیست ارتباطی به بیان کاتپسین D نداشته و بررسی نشانگرهای دیگر موجود در اپیتلیوم و استروما به طور هم زمان، برای فهم بهتر ماهیت بیولوژیک آن پیشنهاد می‌شود.</p> <p><b>کلید واژه‌ها:</b> کاتپسین D، اپیتلیوم، آملوبلاستوما، ادنتوژنیک کراتوسیست</p> <p>مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران دوره ۳۵ مقاله ۱۱، ۱۴۰۱</p>

## مقدمه

تومورها و کیست‌های ادنتوژنیک قسمت مهمی از پاتولوژی دهان و فک و صورت را تشکیل می‌دهند که هر کدام به علت رفتار بیولوژیک متفاوتشان، از اهمیت بالینی برخوردار هستند (۱،۲). ادنتوژنیک کراتوسیست (Odontogenic Keratocyst) (OKC) یک ضایعه کیستیک خوش خیم ناشی از بقایای دنتال لامینا است و رفتار بالینی تهاجمی را نشان می‌دهد (۳).

این ضایعه قبلاً به عنوان یک کیست شناخته می‌شد، ولی در سال ۲۰۰۵ توسط WHO، عنوان جدیدی را به نام KCOT (Keratocystic Odontogenic Tumor) دریافت کرد تا بتواند ماهیت تهاجمی و عود خود را نشان دهد (۴،۵). سلول‌های تومورال تمایل به تهاجم به ماتریکس سلولی اطراف شامل کلاژن، گلیکوپروتئین و گلیکوز آمینوگلیکان و نفوذ به غشای پایه را دارند (۴،۵). نشان دادند که پروتئازها چون ماتریکس خارج سلولی و غشای پایه را از بین می‌برند نقش مهمی را در پیشروی تومور ایفا می‌کنند. آبخارهای سیگنال نادرست که منجر به بیان بیش از حد تعدادی از پروتئین‌ها می‌شود، فنوتیپ‌های بسیار تهاجمی سلول‌های تومورال را ایجاد می‌کند (۶).

کاتپسین D، یک پروتئاز پیش برنده تهاجم و محرک تقسیم سلولی و کاهش دهنده اثرات ضد تومور سیستم ایمنی است و نقشی اصلی را در تومورهای توپر از جمله سرطان‌های دهان ایفا می‌کند (۷). این آنزیم یک فسفوگلیکوپروتئین لیزوزومی است که فرم‌های آن ماتریکس خارج سلولی و پروتئوگلیکان را تخریب می‌کند (۸). گزارش شده است که سطح افزایش یافته کاتپسین D نشان دهنده رفتار تهاجمی در تومورهای انسان از جمله SCC دهانی می‌باشد (۹).

به علاوه سالهاست که رفتار تهاجمی OKC، با وجود ظاهر هیستولوژیک آرامی که دارد مورد بررسی پژوهشگران می‌باشد و پژوهش‌هایی از این دست بر سه موضوع اصلی شامل پرولیفراسیون سلولی، آپوپتوز یا مرگ برنامه ریزی شده سلولی و فرار از آپوپتوز و بقای سلولی متمرکز بوده است (۱۰،۱۱). آملوبلاستوما به عنوان شایع‌ترین تومور اپیتلیالی خوش خیم و موضعی بوده که ممکن است از باقی مانده‌های دنتال لامینا، ارگان مینایی، باقی مانده‌های سلولی، اپیتلیوم پوشاننده یک کیست ادنتوژنیک یا از سلول‌های لایه بازال مخاط دهان به وجود آید (۲) و به طرز مشابهی دارای ویژگی‌های عود و تهاجم

موضعی به داخل استخوان مجاور می‌باشد (۱۲).

کیست ادنتوژنیک ارتوکرآتینیزه (OOO) (Orthokeratized Odontogenic Keratocyst)، برای اولین بار در سال ۱۹۲۷ به عنوان یک درموئید سیست توصیف شد و در سال ۱۹۴۵ به عنوان نوعی از OKC در نظر گرفته می‌شد. سپس در سال ۱۹۸۱ معیارهای کلینیکوپاتولوژیک آن مشخص شد که OOC مستقل از دیگر کیست‌های ادنتوژنیک از جمله OKC است (۱۳). این ضایعه تمایلی به عود نداشته و نیز ارتباطی با سندرم نوئید بازال سل کارسینوما ندارد (۱۴).

Kapoor و همکاران (۱۵) در سال ۲۰۱۴ با بررسی تشخیص متاستاز اسکواموس سل کارسینومای دهانی (OSCC) به وسیله کاتپسین D، آن را برای ارزیابی میزان بقای بیماران در موارد SCC دهانی معرفی نمودند. Yogesh و همکاران (۷) در مطالعه خود دریافتند که بسیاری از ضایعات پیش بدخیم و تومورهای بدن که با افزایش بیان کاتپسین D مواجه هستند، در معرض خطر بیشتری برای تهاجم می‌باشند.

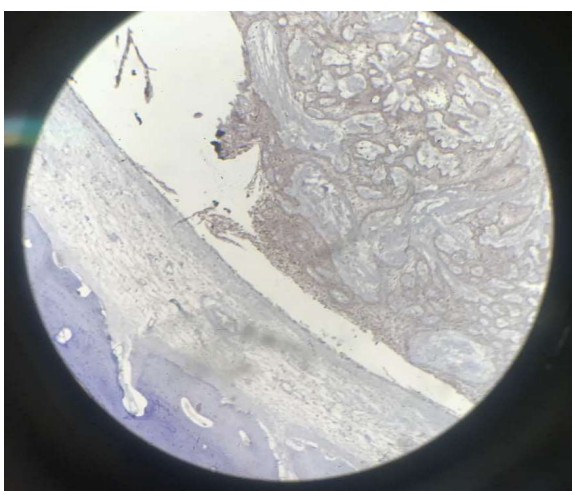
Lakkasetty و همکاران (۱۶) در سال ۲۰۱۵ در مطالعه‌ای میزان بیان کاتپسین D در کیست‌ها و تومورهای ادنتوژنیک بررسی نموده و به این نتیجه رسیدند که کاتپسین D می‌تواند یکی از آنزیم‌هایی باشد که در جداسازی اپیتلیوم و بافت همبند در OKC نقش داشته و به عود آن کمک می‌کند.

Benarjji و همکاران (۸) در مطالعه خود در سال ۲۰۱۹ بیان نمودند که الگوهای متفاوتی در بیان کاتپسین D بین اپیتلیوم و استرومای کیست‌ها و تومورهای ادنتوژنیک قابل مشاهده بوده و شدت رنگ پذیری در کیست‌های با رفتار بالینی کمتر مهاجم مانند دنتی ژروس پایینتر از ادنتوژنیک کراتوسیست با رفتار بالینی مهاجم‌تر می‌باشد.

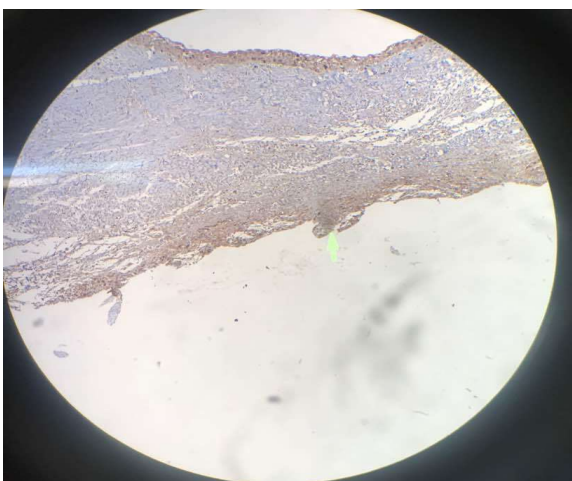
با توجه به نتایج متنوع در خصوص نقش نشانگر کاتپسین D در اپیتلیوم و استرومای ضایعات تومورال و مهاجم و نیز نقش پروگنوستیک آن، همچنین وجود مطالعات جدید در ارتباط با ماهیت کیستیک و برگشت به عنوان OKC برای این کیست ادنتوژنیک، مطالعه حاضر به بررسی نشانگر کاتپسین D در OKC و مقایسه با تومورهای مهاجم با ظاهر یونی سیستیک (یونی سیستیک آملوبلاستوما) و OOC به عنوان کیستی ادنتوژنیک (که همیشه مطالعات درصد مقایسه آن با OKC بوده‌اند) پرداخت.

## روش بررسی

لحاظ شدت و الگوی رنگ پذیری با کاتپسین D مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای ارزیابی شدت رنگ پذیری از سیستم Grading زیر استفاده شد: (۱) Mild + (با بزرگنمایی ۴۰ دیده شود)، (۲) Moderate ++ (با بزرگنمایی ۱۰ دیده شود)، (۳) Severe +++ (با بزرگنمایی ۴ دیده شود). همچنین الگوی رنگ پذیری سلول‌های اپیتلیالی با کاتپسین D بین سه گروه به صورت منتشر، بازال و سوپرابازال، سطحی و غیر قابل طبقه بندی و در استرومای همبندی به صورت منتشر، رنگ پذیرفته، در عمق بافت همبندی و غیر قابل طبقه بندی مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۶) (اشکال ۱-۵).



شکل ۱- رنگ پذیری شدید با کاتپسین D در آملوبلاستوما با بزرگنمایی ۴۰



شکل ۲- رنگ پذیری شدید و کانونی با کاتپسین D در عمق استرومای OKC با بزرگنمایی ۱۰۰

در مطالعه توصیفی- تحلیلی از نوع مقطعی حاضر از بلوک‌های پارافینی ثابت شده با فرمالین موجود در آرشیو بخش پاتولوژی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان استفاده شد. بر اساس مشورت با متخصص آمار نتیجه گرفته شد.

$$n = ((z_{(1-\alpha/2)} + z_{(1-\beta)})^2 (\sigma_1^2 + \sigma_2^2)) / d^2$$

سطح معنی دار  $\alpha = 0.05$   $z_{(1-\alpha/2)} = 1.96$

توان آزمون  $1-\beta = 0.80$   $Z_{(1-\beta)} = 0.84$

$\sigma_1$  و  $\sigma_2 \sim 4.5$

$d = 6.3$

$$n = ((1.96 + 0.84)^2 (4.5^2 + 4.5^2)) / 6.3^2 = (317/52) / d^2$$

با تعداد ۸ نمونه در هر گروه ۰/۸۰ احتمال دارد که تفاوتی حداقل برابر با ۶/۳٪ بین میانگین‌های گروه‌ها در سطح  $\alpha = 0.05$  معنی‌دار گردد. ۸ بلوک پارافینی با تشخیص یونی سیستیک آملوبلاستوما از نوع غیر مورال، ۸ بلوک پارافینی با تشخیص OKC و ۸ بلوک پارافینی با تشخیص OOC از بیمارانی که طی ۱۰ سال اخیر به بخش مراجعه نموده و تشخیص دقیق ضایعاتشان بر اساس معیارهای کلینیکوپاتولوژی داده شده بود، به روش نمونه‌گیری آسان انتخاب شدند.

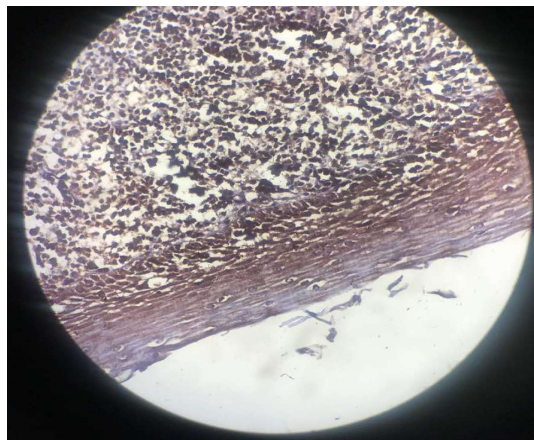
نمونه‌های رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین در زیر میکروسکوپ نوری (Olympus, Tokyo) توسط دو آسیب شناس دهان و فک و صورت به صورت هم زمان، مورد بررسی مجدد قرار گرفت و آن‌هایی که مخدوش بوده و بافت کافی نداشته، یا به هر دلیل امکان انجام رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی (IHC) روی آن‌ها وجود نداشت از مطالعه حذف شدند، سپس رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی کاتپسین D (DAKO Corporation N1625) Denmark با استفاده از روش پراکسیداز، بر روی نمونه‌های مناسب انجام گرفت. کنترل منفی با حذف آنتی بادی اولیه و کنترل مثبت با نمونه‌های سرطان سینه تولید شدند. نمونه‌ها پس از رنگ آمیزی IHC توسط دو آسیب شناس دهان و فک و صورت به طور هم زمان با میکروسکوپ نوری (Olympus, Tokyo)، مشاهده شده و سلول‌های اپیتلیالی و استروما از

پس از مشاهده ی تمام نمونه‌ها، داده‌ها وارد نرم افزار SPSS20 شده و به وسیله Kruskal-Wallis (به منظور مقایسه شدت رنگ پذیری سه گروه با یکدیگر)، Mann-Whitney (به منظور مقایسه شدت رنگ پذیری دو به دو با یکدیگر) و Chi-square (به منظور مقایسه توزیع فراوانی الگوی رنگ پذیری سه گروه با یکدیگر) تحلیل آماری شدند. نتایج در بخش توصیفی با استفاده از جداول و نمودارها و شاخص‌های مرکزی و پراکندگی و برای تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس مورد بررسی قرار گرفت ( $P < 0/05$ ).

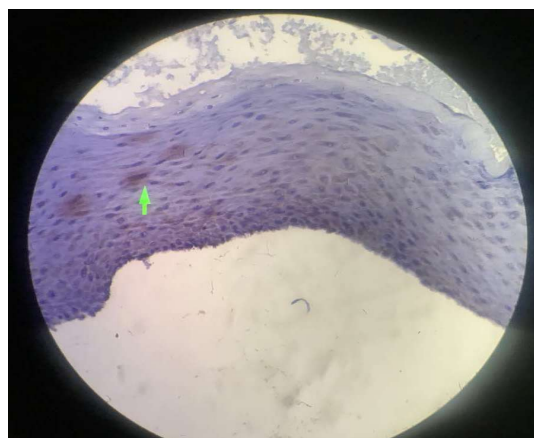
### یافته‌ها

این تحقیق به منظور بررسی میزان بیان کاتپسین D در ادنتوژنیک کراتوسیست و مقایسه با تومور یونی سیستیک آملوبلاستوما و کیست ادنتوژنیک ارتوکرآتینیزه انجام شده است. بدین منظور ۲۳ نمونه بررسی گردیدند که ۷ نمونه (۳۰/۴٪) آملوبلاستوما یونی سیستیک (امکان ارزیابی یکی از نمونه‌ها به دلیل مشکلات تکنیکال در مراحل کار، فراهم نشد)، ۸ نمونه (۳۴/۸٪) ادنتوژنیک کراتوسیستیک و ۸ نمونه کیست ادنتوژنیک ارتوکرآتینیزه داشتند. آزمون کروسکال-والیس اختلاف شدت رنگ پذیری سلول‌های اپیتلیالی با کاتپسین D را در بین سه گروه معنی‌دار نشان داد ( $P = 0/037$ ). به این صورت که آزمون من-ویتنی نشان داد که شدت رنگ پذیری در گروه آملوبلاستوما یونی سیستیک به طور معنی‌داری بیشتر از دو گروه OOC ( $P = 0/02$ ) و OKC ( $P = 0/046$ ) بود. شدت رنگ پذیری در گروه OOC کمتر از OKC بود، هرچند آزمون من-ویتنی اختلاف بین دو گروه را معنی‌دار نشان نداد ( $P = 0/48$ ) (نمودار ۱). شدت رنگ پذیری در سلول‌های استرومای همبندی در گروه آملوبلاستوما یونی سیستیک بیشتر از گروه OKC و در گروه OKC بیشتر از OOC بود.

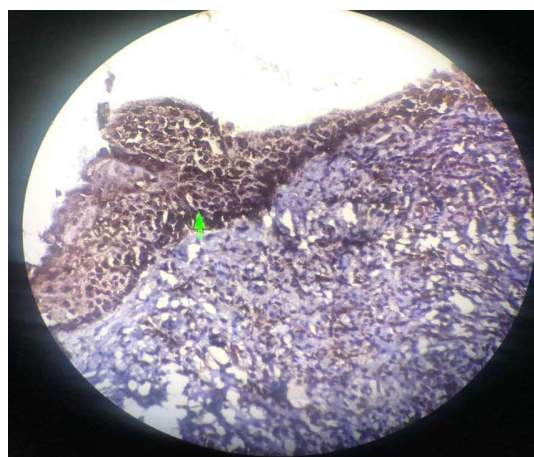
هرچند آزمون کروسکال-والیس نشان داد که در سلول‌های استرومای همبندی شدت رنگ پذیری بین سه گروه اختلاف معنی‌دار نداشت ( $P = 0/32$ ) (نمودار ۲). در جداول ۱ و ۲ به تریب توزیع فراوانی الگوی رنگ پذیری سلول‌های اپیتلیالی و سلول‌های استرومای همبندی بین سه گروه نشان داده و توسط آزمون کای اسکوئر تفاوت آن‌ها معنی‌دار نبود ( $P = 0/15$ ) ( $P = 0/22$ ) (جداول ۲ و ۱).



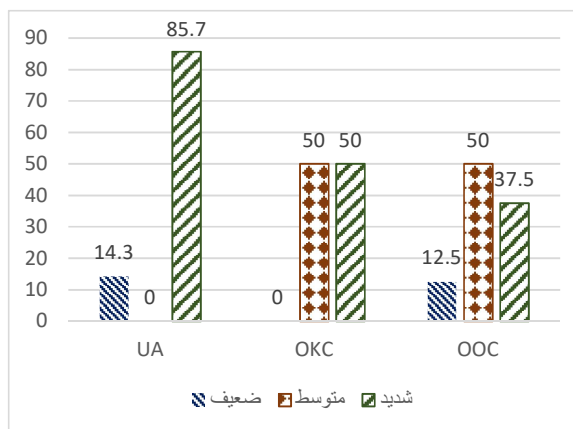
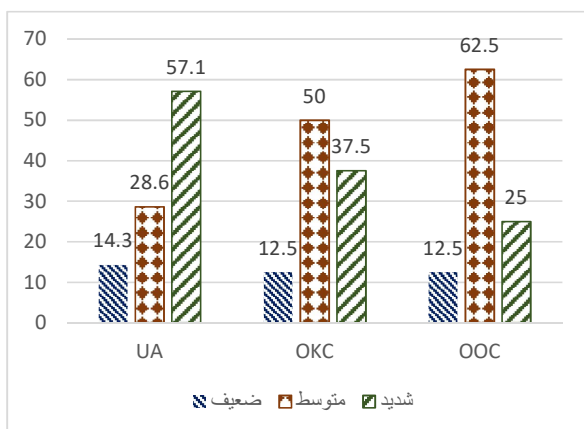
شکل ۳- رنگ پذیری منتشر با کاتپسین D در اپیتلیوم و استرومای OKC با بزرگنمایی ۴۰۰



شکل ۴- رنگ پذیری کانونی و غیر قابل طبقه بندی با کاتپسین D در اپیتلیوم OOC با بزرگنمایی ۴۰۰



شکل ۵- رنگ پذیری منتشر با کاتپسین D در اپیتلیوم و کانونی غیر قابل طبقه بندی در استرومای OOC با بزرگنمایی ۴۰۰



نمودار ۲- درصد فراوانی شدت رنگ پذیری در سه گروه در سلول‌های استرومای همبندی

نمودار ۱- درصد فراوانی شدت رنگ پذیری در سه گروه در سلول‌های اپیتلیالی

جدول ۱- توزیع فراوانی الگوی رنگ پذیری سلول‌های اپیتلیالی در سه گروه

P-value	OOC		OKC		آملوبلاستومای یونی سیستیک		الگوی رنگ پذیری
	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۰/۱۵	۶۲/۵	۵	۱۰۰	۸	۸۵/۷	۶	منتشر
	۱۲/۵	۱	۰	۰	۰	۰	بازال و سوپرابازال
	۰	۰	۰	۰	۱۴/۳	۱	سطحی
	۲۵	۲	۰	۰	۰	۰	غیر قابل طبقه بندی

جدول ۲- توزیع فراوانی الگوی رنگ پذیری سلول‌های استرومای همبندی در سه گروه

P-value	OOC		OKC		آملوبلاستومای یونی سیستیک		الگوی رنگ پذیری
	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۰/۲۲	۰	۰	۰	۰	۱۴/۳	۱	رنگ نپذیرفته
	۷۵	۶	۷۵	۶	۵۷/۱	۴	منتشر
	۰	۰	۲۵	۲	۱۴/۳	۱	در عمق
	۲۵	۲	۰	۰	۱۴/۳	۱	غیر قابل طبقه بندی

کاتپسین D یک پروتئاز است که باعث فعالیت کلاژنولیتیک و تحلیل استخوان شده و ارتباط نزدیکی در مکانیسم بیولوژیکی پیشرفت تومور دارد (۸). ایده رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی برای کاتپسین D در سیست‌ها و تومورهای ادنتوژنیک با الگوهای رفتاری بیولوژیکی متفاوت، شاید بتواند به درک بهتر فرآیند متابولیسمی که مسئول این رفتار است، کمک نماید. اکثر مطالعات روی اپیتلیوم کیست‌ها و تومورها متمرکز

## بحث و نتیجه گیری

هدف نهایی در این مطالعه، بیان کاتپسین به عنوان محرک تقسیم سلولی و کاهش دهنده اثرات ضد تومور سیستم ایمنی، در ادنتوژنیک کراتوسیست و مقایسه با یونی سیستیک آملوبلاستوما و کیست ادنتوژنیک ارتوکرآتینیزه به منظور شناخت بهتر و توجیه رفتار موضعاً مهاجم آن با آملوبلاستوما و اهمیت تشخیص و درمان به موقع آن‌ها می‌باشد.

گوارش فوقانی در برخی مطالعات اشاره شده است (۷، ۱۵، ۱۹). این آنزیم پروتئولیتیک منجر به تخریب ماتریکس خارج سلول شده و افزایش بروز آن با پتانسیل تهاجم تومور ارتباط دارد (۷).

در بررسی مقالات ارزیابی این نشانگر هم در اپیتلیوم هم در بافت همبند در کیست‌ها و تومورهای ادنتوژنیک، تنها در یک مطالعه انجام گردیده است که نتایج این مطالعه به طور کلی قابل مقایسه با نتایج مطالعه فعلی نبوده از این نظر که در مطالعه Lakkasetty و همکاران (۱۶) تنها یک نمونه از تومور آملوبلاستومای یونی سیستیک (و نوع پلکسی فرم) مورد ارزیابی قرار گرفته و کیست OOC نیز بررسی نشده است. اما در این مطالعه کیست‌ها و تومورها به طور جداگانه مقایسه و مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند و در خصوص OKC با نتایج مطالعه حاضر تقریباً مشابه بوده، به این صورت که در هر دوی این مطالعات در بیشتر نمونه‌ها، اپیتلیوم OKC شدت رنگ پذیری شدید (۳+) و استروما شدت رنگ پذیری متوسط (۲+) را نشان دادند.

در مطالعه حاضر الگوی رنگ پذیری سلول‌ها در اپیتلیوم و استروما بین سه گروه تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد. Tekkesin و Wright (۲۰)، خلاصه‌ای از تغییرات طبقه بندی WHO در مورد ضایعات ادنتوژنیک را مورد بررسی قرار دادند. این طبقه بندی به روز شده تفاوت‌های مهمی با طبقه بندی ۲۰۰۵ دارد. طبقه بندی ۲۰۰۵ OKC را به عنوان یک نئوپلاسم طبقه بندی کرد و نام آن را به خاطر میزان عود بالا، رفتار کلینیکی مهاجم، همراهی با سندروم نوئوئید بازال سل کارسینوما و موتاسیون در ژن تومور ساپرسور PTCH (Protein patched homolog)، به KCOT، اما طبقه بندی (Keratocystic Odontogenic tumor) تغییر داد. این طبقه بندی ۲۰۱۷ به عقب بازگشته و همان ترمینولوژی OKC را پذیرفته است. زیرا بسیاری از شواهد نشان دادند که جهش ژن PTCH می‌تواند در ضایعات غیر نئوپلاستیک هم یافت شود (۲۰).

نتایج این مطالعه نیز از این جهت که آملوبلاستومای یونی سیستیک شدت رنگ پذیری بالاتری نسبت به OKC را نشان داد، می‌تواند نمایانگر این باشد که کاتپسین D به عنوان یک نشانگر حمایت کننده از جدیدترین طبقه بندی WHO و احتمالاً تأیید کننده خاصیت کیستیک بیشتر OKC نسبت به ماهیت تومورال بیان شده آن در طبقه بندی قبلی باشد.

شده‌اند، اما نقش دیواره بافت همبند و سلول‌های استرومایی مورد توجه قرار نگرفته است. در این مطالعه علاوه بر اپیتلیوم بیان کاتپسین D در بافت همبند نیز مورد توجه قرار گرفته است. تحقیق حاضر نشان داد که شدت بیان کاتپسین D در اپیتلیوم تومور آملوبلاستومای یونی سیستیک (UA) به طور معنی‌داری بیشتر از کیست ادنتوژنیک کراتوسیست (OKC) و کیست ادنتوژنیک ارتوکراتینیزه (OOC) بود. شدت بیان کاتپسین D در OKC بیشتر از OOC بود، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در استروما شدت این نشانگر در تومور آملوبلاستومای یونی سیستیک بیشتر از OKC و در OKC بیشتر از OOC بود، اما اختلاف آن‌ها نیز از لحاظ آماری معنی‌دار نشان داده نشد. مقایسه میان کیست‌ها و تومورهای ادنتوژنیک از لحاظ بررسی نشانگرهای متفاوت در مطالعات مختلف به شکل‌های متنوعی انجام گردیده است اما مطالعه‌ای که سه ضایعه آملوبلاستومای یونی سیستیک، OKC و OOC را هم زمان در کنار هم بررسی کند، در بررسی متون مشاهده نشد. در خصوص مقایسه OKC و OOC در یکسری از مطالعات نشانگرهایی از جمله نشانگرهای سرکوب کننده تومور P53 و نشانگر فاکتور رشد TGF-alpha (Transforming Growth Factor) (۱۷) مورد استفاده قرار گرفته و همه آن‌ها نشان دادند که بروز این نشانگرها در OKC بیشتر از OOC می‌باشد. همچنین مطالعاتی در خصوص مقایسه میان تومور آملوبلاستوما و OKC با استفاده از نشانگرهای پرولیفراسیون سلولی و آپوپتوز و نشانگر سرکوب‌گر تومور P53 انجام گردید (۱۸). نتایج این مطالعات در خصوص بروز نشانگر آپوپتوز، بیان نمود که بروز این نشانگر میان آملوبلاستوما و OKC اختلاف آماری معنی‌داری ندارد. همین مطالعه بروز بالاتر نشانگر پرولیفراسیون سلولی Ki67 را در OKC در مقایسه با آملوبلاستوما نشان داد، در حالی که Keshani و همکاران (۱۱) بروز بیشتر P53 را در آملوبلاستوما نسبت به OKC نشان دادند اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. اختلاف نتایج این مطالعات با مطالعه حاضر از این نظر قابل بحث می‌باشد که در درجه اول در تمامی مطالعات آملوبلاستومای مولتی سیستیک مورد بررسی قرار گرفته است. نکته دوم تفاوت در نوع نشانگر مورد استفاده در مطالعات می‌باشد.

کاتپسین D یک پروتئاز با نقش اساسی در تومورهای توپر است. به نقش این نشانگر در ضایعات اپیتلیالی مهاجم از جمله SCC دستگاه

## محدودیت‌ها

کیست ارتباطی به بیان کاتپسین نداشته و بررسی نشانگرهای دیگر موجود در اپیتلیوم و استروما به طور هم زمان، برای فهم بهتر ماهیت بیولوژیک آن پیشنهاد می‌شود.

## تشکر و قدردانی

این مطالعه در قالب پایان نامه دکترای عمومی دندانپزشکی به شماره طرح تحقیقاتی ۳۹۷۰۷۸ و با همکاری مرکز تحقیقات دندانپزشکی انجام شد. از جناب آقای نصر تکنسین آزمایشگاه جهت رنگ آمیزی اختصاصی قدردانی می‌شود.

## References

- 1- Brancher GQ, Cavalieri-Pereira L, Pedroso-Oliveira G, Macedo CJ, Altafin L, Cavalieri-Pereira S. Removal of odontogenic keratocyst in maxilla through the Le Fort I osteotomy. *Int J Odontostomatol*. 2020;14(2):249-56.
- 2- Ranchod S, Titinchi F, Behardien N, Morkel J. Ameloblastoma of the mandible: analysis of radiographic and histopathological features. *J Oral Med Oral Surg*. 2021;27(1):-8.
- 3- Chirapathomsakul D, Sastravaha P, Jansisyant P. A review of odontogenic keratocysts and the behavior of recurrences. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006;101(1):5-9.
- 4- Chaudhary S, Sinha A, Barua P, Mallikarjuna R. Keratocystic odontogenic tumour (KCOT) misdiagnosed as a dentigerous cyst. *BMJ Case Rep* 2013. doi: 10.1136/bcr-2013-008741.
- 5- Kolář Z, Geierová M, Bouchal J, Pazdera J, Zbořil V, Tvrđý P. Immunohistochemical analysis of the biological potential of odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol Med*. 2006;35(2):75-80.
- 6- Cadavid AM, Araujo JP, Coutinho-Camillo CM, Bologna S, Junior CA, Lourenço SV. Ameloblastomas: current aspects of the new WHO classification in an analysis of 136 cases. *Surg Exp Pathol*. 2019;2(1):1-6.
- 7- Yogesh T, Narayan T, Shreedhar B, Shashidara R. The expression of E-cadherin and cathepsin-D in normal oral mucosa, oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma: A comparative analysis between immunohistochemistry and routine histopathology. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2011;15(3):288-94.
- 8- Benarji KA, Lakshmi KR, Nelakurthi H, Haritha P, Amrutha R. Cathepsins in oral diseases. *J Dr NTR Uni Health Sci*. 2019;8(3):153-8.
- 9- Brysk MM, Lei G, Adler-Storthz K, Chen Z, Horikoshi T, Brysk H, et al. Differentiation and cathepsin D expression in human oral tumors. *Laryngoscope*. 1998;108(8):1234-7.
- 10- Henley J, Summerlin DJ, Tomich C, Zhang S, Cheng L. Molecular evidence supporting the neoplastic nature of odontogenic keratocyst: a laser capture microdissection study of 15 cases. *Histopathology*. 2005;47(6):582-6.
- 11- Keshani F, Farzam A, Seddigh MA. Comparison of P 53 antigen between ameloblastoma and odontogenic keratocyst with immunohistochemistry method. Thesis number 652. Dental

یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر نبود جایگزینی برای نمونه از دست رفته بوده چرا که برخی از بلوک‌های پارافینی نمونه‌ها با گذشت زمان به دلایلی متفاوتی از دسترس خارج شده و شرایط مطالعه را دشوارتر می‌نمود. نتایج مطالعه حاضر در خصوص شدت بیان کاتپسین D در سه ضایعه ادنتوژنیک بررسی شده تا حدودی می‌تواند احتمالاً شهادی بر طبقه بندی جدید (WHO2017) از لحاظ قرار دادن دوباره OKC در گروه کیست‌ها ادنتوژنیک و نپذیرفتن ماهیت تومورال آن باشد و یا در صورت نپذیرفتن این ماهیت می‌توان گفت احتمالاً رفتار مهاجم این

field. Qazvin University of Medical Science, Faculty of Dentistry. 2015.

12- Neville BW, Damm DD, Allen CM, Chi AC. Oral and maxillofacial pathology. 4<sup>th</sup> ed. Elsevier Health Sciences; St Louis, 2016. P:632-42.

13- da Silva MJ, de Sousa SOM, Corrêa L, Carvalhosa AA, de Araáujo VC. Immunohistochemical study of the orthokeratinized odontogenic cyst: a comparison with the odontogenic keratocyst. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol, Oral Radiol Endod*. 2002;94(6):732-7.

14- Rangiani A, Motahary P. Evaluation of bax and bcl-2 expression in odontogenic keratocysts and orthokeratinized odontogenic cysts: A comparison of two cysts. *Oral Oncol*. 2009;45(7):e41-e4.

15- Kapoor S, Kaur GP, Sikka P. Detection of oral squamous cell carcinoma metastasis with cathepsin D: An immunohistochemical approach. *Dent Res J (Isfahan)*. 2014;11(2):204-11.

16- Lakkasetty Y, Venkatraman N, Balasundarishreedhar S, Leekymohanty SMS. The expression of cathepsin-D in odontogenic cysts and tumors: Immunohistochemistry study. *J Adv Clin Res Insights*. 2015;2(2):67.

17- Deyhimi P, Hashemzade Z. Comparative study of TGF- $\alpha$  and P 53 markers' expression in odontogenic keratocyst and orthokeratinized odontogenic cyst. *Dent Res J*. 2012;9 (Suppl 1):S.39.

18- Amaral FR, Mateus GCP, Bonisson LA, Andrade BABd, Mesquita RA, Horta MCR, et al. Cell proliferation and apoptosis in ameloblastomas and keratocystic odontogenic tumors. *Braz Dent J*. 2012;23(2):91-6.

19- Ikeguchi M, Sakatani T, Ueta T, Fukuda K, Oka S, Hisamitsu K, et al. Correlation between cathepsin D expression and p 53 protein nuclear accumulation in oesophageal squamous cell carcinoma. *J Clin Pathol*. 2002;55(2):121-6.

20- Tekkesin M, Wright JM. The World Health Organization Classification of Odontogenic Lesions: A Summary of the Changes of the 2017 (4th) Edition. *Turk J Pathol*. 2018;34(1). doi:10.5146/tjpath. 2017.01410.