

العنوان



الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية طب الأسنان
قسم النسيج والتشريح المرضي

دراسة تعبيرية الأميلوجينين في كل من ورم مصورات الميناء والكيس التاجي والورم السني الكيسي المتقرن

Study of Amelogenin Expression in Ameloblastoma, Dentigerous Cyst and Keratocystic Odontogenic Tumour

أطروحة قدمت إلى جامعة دمشق لنيل درجة الماجستير في علوم طب الأسنان
في اختصاص علم النسيج والتشريح المرضي للفم والأسنان

إعداد الباحثة

صفا محمد منذر زكريا

إشراف

المدرس الدكتور ممدوح إبراهيم المحارب

قسم النسيج والتشريح المرضي
كلية طب الأسنان جامعة دمشق

٢٠١٨

كلمة الشكر

والإهداء

كلمة شكر

الشكر أولاً والحمد والثناء لله تعالى على ما وهبنا من النعم، فله الحمد دائماً وأبداً ...

وأتوجه بجزيل الشكر والامتنان إلى أساتذتي الذين أعطوا دون حساب وبذلوا الكثير حتى وصلنا إلى هذه المرحلة.

وأخص بالشكر المدرس الدكتور ممدوح المحارب الذي تفضل مشكوراً بقبول الإشراف على هذه الأطروحة ولم يدخر وقتاً أو جهداً في سبيل مساعدتي، ولم يبخل بالتوجيه والنصح لإكمال هذا العمل، فله جزيل الشكر والعرفان وحق الاحترام وصدق الامتنان.

كما أتقدم بالشكر الجزيل للأستاذة الكرام الذين شرفوني في تحكيم هذا البحث: الأستاذ الدكتور أحمد المنديلي الذي غرس في صدورنا حب اختصاص النسيج والتشريح المرضي منذ أيامنا الأولى في كلية طب الأسنان، والأستاذ المساعد الدكتور محمد حسان جعفر لتفضلهما بقبول تحكيم هذا العمل وإغنائه بملاحظاتهم القيمة وإدلاء النصح والمتابعة الدائمة فلهما كل التقدير والاحترام.

الشكر موصول للأستاذ الدكتور نبيل قوشجي لما قدمه لي من معونة في جمع العينة فله مني كل الإحترام والتقدير وأتقدم بالشكر والتقدير لكل أعضاء الهيئة التدريسية في قسم النسيج والتشريح المرضي ممثلين بالأستاذ الدكتور شريف بركات.

كما أتوجه بالشكر والامتنان لإدارة كلية طب الأسنان ممثلة بالأستاذ الدكتور سالم ركاب عميد كلية طب الأسنان، والأستاذ المساعد الدكتورة رانيا حداد نائب عميد كلية طب الأسنان للشؤون العلمية، والأستاذ المساعد الدكتور أسامة الجبان نائب عميد كلية طب الأسنان للشؤون الإدارية.

أتقدم بجزيل الشكر للسيد ناصر كتابي (أبو جمال) الذي كان لنا بمقام الأب ولما قدمه لي من خبرة بالمجال العملي والمخبري.

كما أنني أشكر زميلي الدكتور خالد زيد والدكتورة أميرة نور الذي كانا عوناً لي في انجاز هذا البحث.

الإهداء

إلى من تملك حب الدنيا بعطائها إلى الروح التي عاشت بها روحي

أمي

إلى قدوتي الأولى ونبراسي الذي ينير دربي

أبي

إلى من هم عزي وسندي ... أخوتي

إسراء ، روعة ، محمود ، حسن ، محمد

إلى من جمعتني بهم أجمل الذكريات ... أصدقائي

المقدمة

INTRODUCTION

المقدمة Introduction:

تمثل الأورام والأكياس سنيّة المنشأ جانباً مهماً من الأمراض الفموية والفكية الوجهية maxillofacial (Soluk Tekkesin et al., 2016)، حيث أنّ الأورام سنيّة المنشأ تتطور حصراً داخل عظام الفكين مع نسبة ضئيلة جداً تتطور خارج الفكين، وتنشأ من الأنسجة سنيّة المنشأ من خلال تكاثر بشروي أو إكتوميزانشيمي أو كليهما (Avelar et al., 2008)، وقد تم الإشارة إلى أنّ البشرة سنيّة المنشأ والمسؤولة عن تشكيل الأسنان تحت الشروط الفيزيولوجية هي ذاتها من الممكن أن تساهم في تشكيل الأورام والأكياس داخل الفكين (Melrose, 1999)، فالأورام البشروية تنشأ من البشرة المكونة للحفرة الفموية أو من مشتقاته أو من بقاياها، وتظهر تنوعات نسيجية كبيرة، وتصنف إلى عدة كيانات سليمة و خبيثة (Kramer et al., 1992)، ومن أشهر تلك الأورام ذات المنشأ الظهاري هو ورم مصورات الميناء، وهو ورم ظهاري سني المنشأ حميد يتشابه نسيجياً مع عضو الميناء المشاهد أثناء تطور السن، وقد يظهر سلوكاً عدوانياً بيولوجياً مع سرعة في النمو، ومعدل نكس عالٍ يتبع المعالجة الجراحية الأولية (Jhamb and Kramer, 2014).

يُعد أيضاً الورم الكيسي المُتَقَرّن سني المنشأ من أشهر الأورام سنيّة المنشأ الظهاريّة، وهو ورم حميد ذو سلوك عدواني، ينشأ من البشرة سنيّة المنشأ (Hu et al., 2016)، قامت منظمة الصحة العالمية عام ٢٠٠٥، بإعادة تصنيف الكيس المُتَقَرّن سني المنشأ من كيس إلى ورم بما يتوافق مع طبيعته الورمية (Barnes et al., 2005)، يُعد هذا الورم ورماً غازياً في الفكين مع سرعة في النمو، وذو معدل مرتفع للنكس تصل إلى (3-60%) اعتماداً على العلاج الجراحي المتبع (Finkelstein et al., 2013).

شكل تشخيص الأورام سنيّة المنشأ تحديات كبيرة بالنسبة للطبيب المشرح المرضي وذلك بسبب أنّ معدل حدوثها منخفض نسبياً، و ميزات التفريق بينها دقيقة بسبب تشابهها نسيجياً، والسلوك البيولوجي و العلاج المناسب يختلف بشكل كبير بين تلك الآفات (Jordan and Speight, 2009).

تنشأ الأكياس سنيّة المنشأ من مكون الظهاري للجهاز السني أو من بقاياها، وتصنف على أنها أكياس إنتهاية أو تنويرية (Soluk Tekkesin et al., 2016). يُعد الكيس التاجي ثاني أكثر الأنواع شيوعاً بعد الكيس الجذري من الأكياس سنيّة المنشأ، ويشكل حوالي ١٦% إلى ٢٤% من جميع الأكياس الحقيقية في الفكين، وبمعدل حدوث ١,٤٤ كيس من كل ١٠٠ سن غير بازغ، وهو من الأكياس سنيّة المنشأ التنويرية، مبطن ببشرة تترافق مع تاج السن الغير بازغة عند الملتقى المينائي الملاطي (Mortazavi and Baharvand, 2016).

أشارت الدراسات السابقة إلى أن وجود البشرة سنيّة المنشأ تؤدي غالباً إلى تشخيص نهائي للأورام والأكياس سنيّة المنشأ البشروية (Kramer, 1992). ومن الواسمات التي تحدد أنّ البشرة سنيّة المنشأ هي البروتينات المينائية، كما أشارت النتائج في إحدى الدراسات أنّ الخلل في البروتينات المينائية تشارك في التكون الورمي (oncogenesis) للبشرة سنيّة المنشأ (Kumamoto, 2006). علاوة على ذلك، يمكن لهذه البروتينات المينائية أن تعتبر كواسمات مفيدة لتقدير التمايز الوظيفي للخلايا سنيّة المنشأ الورمية وذلك لفهم طبيعة القالب العضوي الخارج الخلوي المنتج من قبل بعض الأورام سنيّة المنشأ (Takata et al., 2000).

أهداف البحث

AIMS OF STUDY

يهدف هذا البحث إلى :

١- تحري تعبيرية (وجود) الأميلوجينين (AMEL) في المكونات البشريّة سنيّة المنشأ في بعض الآفات سنية المنشأ والبراعم السنية (كحالة طبيعية).

٢-مقارنة تعبيرية (وجود) الأميلوجينين بين الآفات سنيّة المنشأ والبراعم السنيّة، وبين الآفات نفسها بعضها مع بعض.

الباب الأول

المراجعة النظرية

Literature Review

١-١ الفصل الأول ورم مصورات الميناء Ameloblastoma:

١-١-١ التعريف - المنشأ - الأنماط السريرية :

قد ينشأ ورم مصورات الميناء من بقايا الصفيحة السنية أو من بشرة الأكياس سنية المنشأ أو من خلايا عضو الميناء الآخذة بالتطور (Faras et al., 2017). يُعد ورم مصورات الميناء ثاني ورم شيوياً بعد الورم السني، وهو ورم حميد نسيجياً إلا أنه عدواني وغازٍ بشكل موضعي، وعادة ما ينمو ويتقدم ببطء ولديه ميل عالٍ للنكس (Ragunathan et al., 2016).

تشاهد أورام مصورات الميناء في الأصل عند البالغين، ويمثل العقدتين الثالث والرابع من العمر أعلى نسبة للحدوث، فهي غير شائعة في العقد الثاني، و نادراً ما تحدث عند الأطفال مادون سن العاشرة، والغالبية العظمى من ورم مصورات الميناء (٨٠-٨٥%) تحدث بالمنطقة الخلفية من الفك السفلي (Bansal et al., 2010).

ويشكل ١% من أورام الرأس والرقبة التي لا تخضع لتمايز مينائي (Milman et al., 2016)، وفي التصنيف الحالي لمنظمة الصحة العالمية WHO لأورام الرأس والعنق هناك أربعة أنواع نمو متميزة من ورم مصورات الميناء وهي:

١- متعدد الأكياس | الصلد (Solid/Multicystic) وهو ورم غازٍ يتخلل مسافات نخاع العظم و يُظهر بؤراً متعددة الأكياس.

٢- وحيد الكيس (Unicystic) وهونموذج ذو نمو داخل عظمي كيسي.

٣ - النمط المحيطي (Peripheral) وهو ورم خارج عظمي، يظهر كاستمرارية مع البشرة المطبقة للمخاطية الفموية.

٤ - النمط الليفي (Desmoplastic) وهو ورم داخل عظمي ارتشاحي، تسيطر عليه المكونات الليفية (Milman et al., 2016).

١-١-٢ ورم مصورات الميناء الصلب | متعدد الأكياس solid or multicystic ameloblastoma

المظاهر السريرية :

يشاهد هذا النمط على الأغلب عند الشباب البالغين، حيث يبلغ متوسط العمر ٣٥ سنة و لا يميل لأي جنس معين، حوالي ٨٠% من هذا الورم يحدث في الفك السفلي وبشكل متكرر في المنطقة الخلفية، تتميز الأفة سريريا في كثير من الأحيان بأنها ذات نمو بطيء مع غزو موضعي و ارتشاح من خلال المسافات النقيوية (medullary) و تآكل العظم القشري، وعند تركها بدون علاج قد تُرتشف الصفيحة القشرية وتمتد إلى الأنسجة المجاورة. عندما يبلغ الورم حجماً كبيراً، وتبقى سماكة رقيقة جداً من العظم القشري يعطي عند الجس ما يماثل تكسر قشر البيض (Masthan et al., 2015).

المظاهر الشعاعية: تظهر التمدد والشفافية الشعاعية كأفة كيسية متعددة الحجرات تعطي مظهر فقاعات الصابون مع وجود توسع في ورقة الصفائح القشرية و تآكلها، وقد ترتبط مع سن منظم وتسبب في إرتشاف جذور الأسنان المجاورة بشكل شائع (Dunfee et al., 2006).

الآلية الإمراضية :

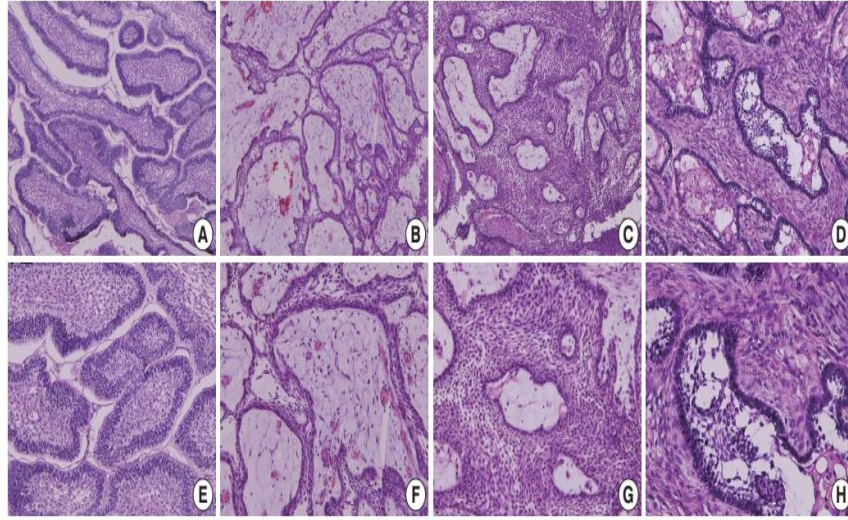
يشكل ورم مصورات الميناء الصلب حوالي ١٠% من كل الأورام سنيّة المنشأ في الفكّين، وهو ينشأ من بقايا الظهارة السنيّة وبشكل خاص من بقايا الصفيحة السنيّة، وربما ينشأ نتيجة التغيرات الورمية في جدار أو بطانة الأكياس سنيّة المنشأ وبشكل خاص الكيس التاجي (Mendenhall et al., 2007).

ويلعب الدور المحوري بالإمراضية في النمط الصلب، طريق الإشارات signaling pathway مثل (WNT) Wingless+Integration site، (AKT) Protein kinase B، وعوامل النمو مثل عامل نمو مصورة الليف (FGF) Fibroblast Growth Factor، كما تساهم أيضاً في الآلية الإمراضية البروتينات، وبشكل رئيسي بروتينات التشكل العظمي، بروتينات القلب المينائي، البروتينات الحالة للقلب (Matrix Metalloproteinases)، والجينات الكابحة للورم suppressor genes مثل P53, P63, P73 التي تؤدي إلى إحداث تغيرات جزيئية في الآلية الإمراضية لورم مصورات الميناء، فمثلاً يلعب P53 الدور المهم في تمايز و تكاثر الخلايا الظهاريّة سنيّة المنشأ، وبروتينات القلب الحالة تُعرض ب (mitogens) لتصبح حرّة، وتؤدي بالتالي إلى تكاثر خلايا ورم مصورات الميناء (Jeddy et al., 2013)، (Masthan et al., 2015).

المظاهر النسيجية :

هناك ستة أنواع نسيجية فرعية موجودة في ورم مصورات الميناء الصلب تشمل: الجرابي، الضفيري، الشاتك، قاعدي الخلايا، الحبيبي و ذو النمط الليفي الشكل (١-١)، وغالباً

مايشاهد خليط من هذه الأنماط النسيجية، و يتم تصنيف الآفة اعتماداً على النموذج السائد الموجود. يعدّ كل من النمطين الجرابي والصفيري الأكثر شيوعاً، تتكاثر المكونات الظهارية من الورم على شكل جزر أو حبال داخل لحمة النسيج الضام ذي الألياف الغرائية المعتدلة التوزع إلى الكثيفة. (Masthan et al., 2015).



الشكل (١-١) بعض الأنماط النسيجية لورم مصورات المينا

A-E تمثل النمط الجرابي، B-F النمط الصفيري، C-G النمط الشائك، D-H النمط التليف (Lee and Kim, 2013).

النموذج الجرابي Follicular Type :

يظهر النسيج البشري على شكل كتل أو جزر أو أجربة مختلفة الحجم يظهر في الطبقة المحيطية من هذه الجزر خلايا أرومية مينائية (Ameloblastic) أو خلايا مشبهة بمصورات المينا ذات شكل مكعب أو إسطواني، وفي مركز هذه الجزر تظهر خلايا مشبهة بالنسيج النجمي الشبكي. يمكن رؤية ذلك بالمجهر الضوئي، وبالنسبة لنوى الخلايا المحيطية

فإنها تميل للانتقال بعيداً عن الغشاء القاعدي بشكل معاكس لنمط الإستقطاب (إنقلاب القطبية). يعدّ تشكّل الأكياس داخل الجزر البشرية شائعاً وقد يتراوح بين كونها كيسيّات مجهرية microcystic إلى أكياس كبيرة macrocystic (Barnes et al., 2005).

النموذج الضفيري Plexiform Type:

هو ورم عدواني يتميز نسيجياً بانتظام البشرة سنّية المنشأ في حبال متفاغرة فيما بينها بما يشبه الشبكة، ويتوضع في عيون الشبكة النسيج الضام. تتوضع الخلايا المشبهة بمصورات الميناء في محيط تلك الحبال وتحصر داخلها في بعض المناطق ما يشبه النسيج النجمي الشبكي. ويكون النسيج الضام رخواً وقليل السماكة وغنياً بالأوعية الدموية، وقد توجد أحياناً بؤر التهابية، أما التشكّل الكيسي فهو نادر الحدوث في هذا النوع، وعندما يحدث فإنه يترافق مع تنكسات في اللحمية الضامة أكثر من كونها تغيرات كيسية في البشرة (Castro et al., 2012).

النموذج الحرشفي Acanthomatous Type :

عند حدوث إنقلاب شائك فإنه على الأغلب يرتبط بتشكّل الكيراتين، الذي يحدث في المناطق المركزية من الجزر البشرية لورم مصورات الميناء الجرابي، يسمى هذا الإنقلاب: بالنمط الشائك، ويُعدّ هذا الورم بأنه ورم عدواني، ويحدث على الأغلب في منطقة الأنياب في الفكّين، ويتميز بكتل ثلولية غير نظامية مجاورة للأسنان، وغالباً ما يغزو الجهاز ما حول السنّي على الرغم من أنه لا يستعمر الأعضاء الأخرى (Singh et al., 2013).

النموذج الحبيبي Granular cell Type :

ورم مصورات الميناء ذو الخلايا الحبيبية (GCA) هو واحد من التغيرات النسيجية النادرة حيث يشكل ٣,٥% من مجموع ورم مصورات الميناء، يترافق مع تورم الفك وألم، ويحدث خلال متوسط العمر ويتميز نسيجياً بتحول ملحوظ بهيولى الخلايا المشبهة بالنسيج النجمي الشبكي إلى مظهر حبيبات إيوزينية خشنة وقد تمتد إلى الخلايا الإسطوانية أو المكعبة المحيطية، كما يتميز بنهج أكثر عدوانية مع ميل كبير للنكس (Yamunadevi et al., 2014).

النموذج التليفي Desmoplastic Type :

ورم مصورات الميناء النموذج التليفي (DA) هو نوع نادر الحدوث، نسبة حدوث ٤-١٣% من مجموع الورم، يتميز بفروق واضحة في الموقع التشريحي والصورة الشعاعية والمظهر النسيجي، وأكثر ما يحدث في المنطقة الامامية من الفك، وتبدي الصورة الشعاعية شفافية مبهمة مختلطة وهي صفة لآفة ليفية عظمية، نسيجياً: يتميز بامتداد وتوسع اللحم الضامة مع كثافة بالألياف الغرائية، مع ظهور جزر وحبال ظهارية سنية المنشأ مختلفة الأحجام (Nair et al., 2013).

النموذج قاعدي الخلايا Basel cell Type :

النموذج القاعدي من ورم مصورات الميناء هو نوع نادر وأقل شيوعاً، والذي يتشابه بالمظاهر النسيجية مع العديد من السرطانات carcinomas تشمل: السرطان شائك الخلايا، السرطان قاعدي الخلايا الجلدي و السرطان الكيسي المشبه بالغدي النموذج الصلب solid-type of adenoid cystic carcinoma. نسيجياً: يتكون من خلايا ذات تلوين

غامق تنتوزع على الأغلب في نموذج حاجزي trabecular مع القليل من الأدلة على وجود خلايا محيطية والتي تكون مكعبة أكثر من كونها أسطوانية. يُعد معدل النكس أو التحول للخبثاء في هذا النوع مماثل لمعدل النماذج الأخرى من ورم مصورات الميناء (Jordanidis et al., 1999).

العلاج والإنذار:

يصنف العلاج إلى محافظ وجذري؛ العلاج المحافظ يشمل الإستئصال (enucleation)، والتجريف (curettage) للوصول لحواف عظم سليم، مع العلاج المساعد مثل العلاج بالتبريد (cryotherapy) أو بمحلول كارنوي (Carnoy's solution).

العلاج الجذري Radical treatment يشمل بتر العظم بشكل جزئي أو بشكل كامل، عندما يكون هامشياً (جزئياً) أي حافة الفك السفلي سليمة (يتم الحفاظ على الحدود السفلية، وبالتالي الحفاظ على إستمرارية العظم) اما عندما تكون حافة الفك مشمولة بالورم يتم قطع كامل للفك. يُعد الورم أكثر عدوانية في الفك العلوي مقارنة بالفك السفلي بسبب طبيعة العظم الإسفنجي، كما تعتبر الأورام في الفك العلوي أكثر صعوبة للعلاج بسبب قربها من الحجاج، الحفرة الأنفية، المسافة الجناحية الفكية، الحفرة تحت الصدغية، وقاعدة الجمجمة، فإن العلاج يشمل العلاج الجذري، الذي يصنف بأنه بتر الفك العلوي جزئي أو كلي وذلك اعتماداً على إمتداد البتر، حيث لا يزال العلاج الجراحي المتنوع لورم مصورات الميناء متعدد الأكياس مسألة مثيرة للجدل، حيث أن معدل النكس عالي إذا لم يُستأصل بشكل كافٍ، مع إمكانية استعمار منخفضة، ففي العلاج المحافظ تكون نسبة النكس بين ٥٥ - ٩٠ %، بينما معدل النكس مع العلاج الجذري ١٥-٢٥ %، على الرغم من أن مع العلاج

الجزري المريض معرض لخطورة إعتلال جمالي ووظيفي ويحتاج إلى جراحة ترميمية. يعتقد العديد من الجراحين بأن علاج ورم مصورات الميناء يجب أن يكون في البداية محافظاً، مع جراحة جذرية فقط عند الضرورة بعد النكس (Rastogi et al., 2010) ، (Almeida Rde et al., 2016).

١-١-٣ ورم مصورات الميناء وحيد الكيس (UA) Unicystic ameloblastomas:

مصطلح ورم مصورات الميناء وحيد الكيس (UA) يشير إلى تلك الآفات الكيسية التي تُظهر ميزات سريرية وشعاعية لكيس سني المنشأ، لكنها تظهر بالفحص النسيجي أن بطانة الكيس حاوية على مكونات لورم مصورات الميناء النموذجي، مع / أو بدون لمعة و / أو نمو ورمي جداري (Arora, 2015). وصف ورم مصورات الميناء وحيد الكيس لأول مرة عام ١٩٧٧ من قبل Robinson and Martinez، ويعتقد أنه أقل عدوانية مقارنة مع النمط متعدد الأكياس (Kang et al., 2015).

الآلية الإمبراضية Pathogenesis:

يوجد حتى الآن الكثير من الخلافات بشأن سبب ورم مصورات الميناء وحيد الكيس، حيث اقترح Leider وزملاؤه أن هناك ثلاث آليات تسبب تطور ورم مصورات الميناء وحيد الكيس:

١- تكاثر البشرة المينائية المرتبطة مع السن المتطور التي تخضع لتحول أرومي مينائي (Ameloblastic) مع تطور كيس لاحق.

٢- تنشأ من الكيس التاجي أو من أنواع أخرى من الأكياس سنيّة المنشأ من بشرة أرومية مينائية ورمية، التي سبقتها مؤقتاً بطانة بشرية مطبقة مسطحة غير ورمية.

٣- ورم مصورات الميناء الصلب يخضع لتتكسات كيسية في جزر الأرومة المينائية مع اتحاد (تجمع) الكييسات الصغيرة (microcysts) المتعددة لاحقاً والتي تتطور إلى آفة وحيدة الكيس (Leider et al., 1985).

المظاهر السريرية والشعاعية :

يُشكل ورم مصورات الميناء وحيد الكيس ١٠-١٥% من كل أنواع ورم مصورات الميناء داخل العظمية (Intraosseous ameloblastomas). وُجد بأن ٩٠% من الآفات متوضعة في الفك السفلي، وأن ٥٠-٨٠% من الحالات مرتبطة مع سن منطم، والأكثر شيوعاً مع الرحي الثالثة السفلية (Ramesh et al., 2010). تحدث حوالي ٥٠% من الحالات في العقد الثاني من العمر. عندما تكون الآفة صغيرة، تُكتشف بالفحص الشعاعي الروتيني، ومع تقدم الآفة تؤدي إلى إنتاج وعدم تناظر وجهي مع حركة بالأسنان وفشل ببزوغ الأسنان وألم (Seintou et al., 2014). تظهر الآفة شعاعياً كأفة شافة على الأشعة وحيدة المسكن، وعلى الأغلب مرتبطة بتاج سن منطم وحدودها واضحة وقد يشاهد نمط متعدد المساكن (Paikkatt et al., 2007).

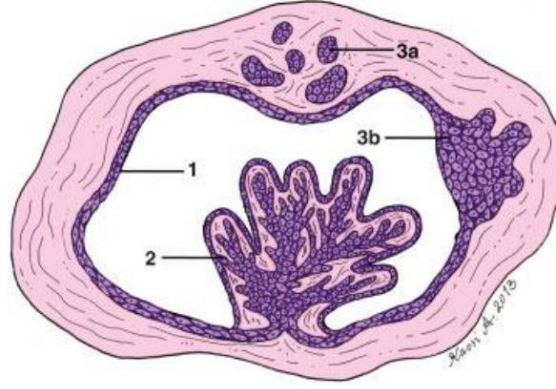
المظاهر النسيجية :

قام Ackermann بتصنيف ورم مصورات الميناء وحيد الكيس لثلاث مجموعات نسيجية :

١ - ورم مصورات الميناء وحيد الكيس اللامي {Luminal UA} حيث يقتصر وجود الورم على السطح اللامي من الكيس.

٢- ورم مصورات الميناء وحيد الكيس داخل اللمعي / الضفيري {Intraluminal/plexiform UA} حيث يشير إلى تكاثر عقيدات داخل اللمعة بدون ارتشاح الخلايا الورمية إلى جدار النسيج الضام.

٣- ورم مصورات الميناء وحيد الكيس الجداري {Mural UA} حيث يشاهد أن هناك جزءاً غازية من البشرة الورمية إلى جدار النسيج الضام، والتي لا تشمل على الظهارة بأكملها (Ackermann et al., 1988).



الشكل (١-٢) صورة توضيحية للنماذج النسيجية لورم مصورات الميناء

إنّ للتصنيف النسيجي لورم مصورات الميناء وحيد الكيس تأثير مباشر على السلوك الحيوي والعلاج والإنذار، وبالنسبة للعلاج فإنّ النوع اللمعي وداخل اللمعي من الآفة يعالج بنجاح من خلال الاستئصال بطريقة (enucleation) والتجريف (curettage)، وأنّ احتمال النكس التالي للمعالجة المحافظة هو أكثر حدوثاً مع النوع الجداري، لذلك يجب أن يعالج بالإستئصال الجذري radical resection كعلاج ورم مصورات الميناء متعدد الأكياس (Garcia et al., 2016). وهذا وإنّ معدل النكس بعد العلاج الجراحي المحافظ بشكل عام

يكون حوالي ١٠-٢٠% وفي المتوسط أقل من ٢٥%، وهذا يُعد أقل بكثير من معدل النكس لورم مصورات الميناء متعدد الاكياس (Agani et al., 2016).

١-١-٤ ورم مصورات الميناء المحيطي: Peripheral Ameloblastoma

يُعد ورم مصورات الميناء المحيطي من الآفات خارج العظمية، وهو نوع نادر، ويمثل ١-٢% من مجموع أورام مصورات الميناء، وهو يختلف عن الأنواع الأخرى الفرعية من ورم مصورات الميناء في الموقع، حيث ينشأ من الأنسجة الرخوة من الحفرة الفموية، ويغطي العظام الحاملة للأسنان، وهو يتطور عادة في اللثة في منطقة الناب، والضاحك في الفك السفلي، ويمكن مشاهدته سريريا كعقيدة نامية لاطئة مع صلابة متماسكة، وهو بشكل عام غير مؤلم و لا يظهر على الصورة الشعاعية، كما لا يظهر سلوكاً عدوانياً، ويمكن التعامل معه عن طريق الإستئصال الموضعي المحافظ.

نسيجياً يتألف من تكاثر بشرة مينائية بنموذج جرابي تحت البشرة المخاطية، وقد يكون أحياناً استمرارية بين الأعشاش الورمية و البشرة المخاطية، لذلك ينسب منشأ هذا الورم إلى مصدرين رئيسين هما بقايا البشرة سنيّة المنشأ، وطبقة الخلايا القاعدية من بشرة اللثة. (Pogrel and Montes, 2009) ، (Borrello et al., 2016).

١-١-٥ ورم مصورات الميناء الخبيث Malignant ameloblastoma

يمثل ورم مصورات الميناء الخبيث حوالي ١,٦-٢,٢% من الأورام سنيّة المنشأ، وقد صنفت منظمة الصحة العالمية (WHO) ورم مصورات الميناء الخبيث إلى نموذجين: ورم مصورات الميناء الاستعماري (Metastasizing ameloblastoma) والسرطان البشري ذو الخلايا

المصورة للميناء (Ameloblastic carcinoma)؛ يشبه ورم مصورات الميناء الاستعماري نسيجياً ورم مصورات الميناء الحميد لكن مع وجود نقائل إلى الأماكن البعيدة، بينما يظهر السرطان البشري ذو الخلايا المصورة للميناء علائم نسيجية خبيثة، ويمكن أن ينقسم إلى نوعين: أولي وثانوي أما الأولي فهو الذي يتشكل من جديد، وأما الثانوي فيظهر نتيجة لتحول خبيث لورم مصورات الميناء الحميد والمُشخص سابقاً.

يشكل ورم مصورات الميناء الاستعماري غالباً مانسبته ٢% من أورام مصورات الميناء الحميدة، لكن المعدل الفعلي للإصابة أقل من ذلك، أما المعدل الدقيق للإصابة بالسرطان البشري ذو الخلايا المصورة للميناء فغير معروف بشكل دقيق (Rizzitelli et al., 2015).

يستطيع ورم مصورات الميناء الاستعماري أن يستعمر العقد اللمفاوية المجاورة والأعضاء الأخرى البعيدة مثل الدماغ والرئة والجلد. وبعد عشر سنوات من المراقبة تالية لاستئصال الورم الأساسي، يمكن أن تخضع الأورام إلى التحول الخبيث. والمظهر النسيجي لوحده لا يمكن أن يشير إلى وقت متأخر من الخباثة metastasis (Bi et al., 2015). وبالنسبة للسرطان البشري ذو الخلايا المصورة للميناء فإنه عدواني بشكل موضعي وربما يسبب أولاً استعمار العقد اللمفاوية المجاورة، بينما ورم مصورات الميناء الاستعماري فإن العقد اللمفاوية سوف تُظهر بالتأكيد ورماً خبيثاً (Kumaran et al., 2014).

٢-١ الفصل الثاني الورم الكيسي المتقرن سني المنشأ: Keratocystic odontogenic tumour

١-٢-١ التعريف والتصنيف:

أدخل مصطلح Odontogenic Keratocyst (OK) وهو الكيس السني المتقرن سني المنشأ من قبل Philipsen عام ١٩٥٦ وأشار إلى أنه أي كيس في الفك يحوي على تشكلات قرنية، وفي عام ١٩٦٢ تم إنشاء معايير نسيجية وسلوك سريري معين لهذه الأفة، حيث كانت مختلفة عن الأكياس الأخرى في الفك. والتصنيف الأخير لمنظمة الصحة العالمية (WHO) للأورام سنية المنشأ أصبحت تسمى Odontogenic Keratocyst كورم سني المنشأ كيسي متقرن سني المنشأ اعتماداً على وجود معطيات جينية وجزيئية، والتي تعكس طبيعته الورمية (Moura et al., 2016).

يصنف الورم الكيسي المتقرن سني المنشأ (KCOT) كورم سليم سني المنشأ وفقاً لمنظمة الصحة العالمية (Barnes et al., 2005). ويُعرف ال KCOT كورم داخل عظمي وحيد الحجرة أو متعدد الحجرات من منشأ سني، مبطن ببشرة رصفية مطبقة نظيرة التقرن مع طبيعة عدوانية بشكل موضعي مع ميل عالٍ للنكس (Naruse et al., 2017)، (Gaitan-Cepeda et al., 2010).

١-٢-٢ الآلية الإيمراضية :

يمثل KCOT ٣-١١% من الأكياس سنية المنشأ، ويعتقد أن منشأه من بقايا الصفيحة السنية (Stoelinga, 2003). وحالياً، فإن الاحتمال الأكثر قبولاً هو أن منشأه من الصفيحة السنية أو من بقاياها (Epithelial Rests of Serres) والتي تشمل الصفيحة السنية

ماقبل الوظيفية pre-functional dental lamina التي تقع في المنطقة الخلفية من الفكين حيث تكون الصفيحة السنية للرحى الأولى والثانية والثالثة، dental lamina of 1st, 2nd, and 3rd molar (Bhargava et al., 2012).

قد يترافق KCOT المتعدد في بعض الأحيان مع متلازمة السرطان قاعدي الخلايا المشبه بالوحمي Nevoid Basal Cell Carcinoma Syndrome (NBCCS) أو متلازمة غورلين غولتز (Gorlin-Goltz Syndrome)، والدراسات الأخيرة قد أثبتت بأن نقص التنظيم والطفرات في جين PTCH هو المسؤول عن NBCCS وهذا الجين هو المسؤول أيضاً عن نشوء KCOT (Suzuki et al., 2013).

إنَّ الاختلافات الكبيرة على المستوى الجزيئي بين KCOT والآفات الكيسية سنيّة المنشأ يشير إلى أنَّ له منشأً بيولوجياً مختلفاً، حيث أن ال KCOT يمتلك تعبيرية ضعيفة ومتقطعة لللامينين والكولاجين IV، مما يشير إلى التفاعلات الغير عادية بين البشرة والنسيج الضام (Oliveira et al., 2002). وعلاوة على ذلك فإنه يتلون على نحو جيد لواسمات التكاثر مثل Ki 67 والمستضد النووي الخلوي التكاثري Proliferating cell Nuclear Antigen (PCNA) (de Paula et al., 2000). وكذلك تلوين أكبر لل P53 مقارنة مع غيرها من الأوكياس سنيّة المنشأ (Piattelli et al., 2001).

وأثبتت الدراسات السابقة وجود نشاط إنقسامي عالٍ في KCOT، ومعدلات من البروستاغلاندين التي تُسبب امتصاص العظم، ونشاطاً كولاجينياً في بطانة الأنسجة الليفية

(Giuliani et al., 2006). وقد أظهرت الواسمات markers البيولوجية تشابه البشرة واللحمة الضامة stroma بين KCOT و ورم مصورات الميناء (Vered et al., 2009).

١-٢-٣ المظاهر السريرية:

قد تحدث KCOT في أي مكان من الفكين، لكنّ الأغلبية تحدث في الفك السفلي بمعدل ٢:١ ، خاصة في المنطقة الخلفية في منطقة الأرحاء عند زاوية الفك وامتداد الرأ (Eryilmaz et al., 2009)، النمط الخارج العظمي من KCOT نادر الحدوث، ولديه ميل طفيف للحدوث عند الذكور أكثر من الإناث، ويحدث بشكل رئيسي في العقد الثاني و الثالث من العمر (Myoung et al., 2001).

تكون الأحجام الصغيرة لهذا الورم بدون أعراض ظاهرة، ويمكن اكتشافها بالفحص الشعاعي الروتيني، وأعراض الألم والتورم والانتشار قد تكون مرتبطة مع الأحجام الأكبر قليلاً، أما الآفات الكبيرة الحجم جداً فإنّ أعراضها تشمل على نحو ملحوظ العظم القشري والبنى المجاورة المحيطة، وقد تسبب هذه الآفات في الفك السفلي انحراف الحزمة الوعائية العصبية (Bhargava et al., 2012). وُصف سلوكه السريري بالعدوانية لأنه يقوم بتقّب العظم القشري وقد يمتد إلى الأنسجة الرخوة المجاورة أو يمتد إلى قاعدة القحف من الفك السفلي، أو إلى الحجاج والحفرة تحت الصدغية من الفك العلوي (Giuliani et al., 2006).

ويرجح سلوكه العدواني وارتفاع معدل النكس إلى الميزات التي تشمل: معدل انقسامية عالية، زيادة الضغط الحلولي داخل لمعة الورم، نشاط حال للكولاجين في جدار الورم، تركيب الإنترلوكين-١ والإنترلوكين-٦ من قبل الخلايا القرنية keratinocytes، وهذا يحفز الخلية

القرنية لعامل النمو جنباً إلى جنب مع عامل التمثوت الورمي، وتؤدي إلى زيادة مستويات البروستاغلاندينات، هذا كما لوحظ إفراز سيتوكينات الإلتهابية مثل IL-1 من الخلايا الظهارية، وتميل إلى تفعيل امتصاص العظم حول الأفة بواسطة تفعيل وتحفيز تكوين كاسرات العظم Osteoclastogenesis (Barnes et al., 2005).

١-٢-٤ معدل النكس:

سبب إرتفاع معدل النكس هو الطبيعة الورمية neoplastic لهذا الورم، والتي تشمل على ارتفاع عالٍ للنشاط التكاثري، وتكاثر الأوعية الدموية، ووجود أكياس البنات وجزر بشروية، كما أن الاستئصال الجراحي الغير كامل لمكونات البشرة بسبب هشاشتها، يُعد عاملاً مساهماً في زيادة معدل النكس (Okamoto et al., 2010). ولقد تبين بأن زيادة تعبيرية واسمات التكاثر الخلوية (Ki-67 ، PCNA ، Cyclin D1) للبشرة كانت تتوافق مع مظاهر العدوانية لهذا الورم (Figuerroa et al., 2010). كما أنه يوجد احتمال التحول إلى الخباثة كتحول إلى سرطان شائك الخلايا، على الرغم من أنه نادر الحدوث ولكن تم ذكره في مقالات سابقة (Makowski et al., 2001).

شعاعيا:

الأفات شافة على الأشعة وحيدة أو متعددة الحجات تحيط بها حواف ظليلة وملساء مع حدود صلبة وهذا المظهر يتشابه مع الأفات الأخرى (Maurette et al., 2006).

١-٢-٥ المظاهر النسيجية:

تشمل المظاهر النسيجية النموذجية على بشرة رصفية مطبقة نظيرة النقرن رقيقة تتراوح ما بين ٥-٨ طبقات، تغطيها طبقة مموجة من نظير النقرن، كما أن الطبقة القاعدية عبارة عن خلايا مكعبة أو إسطوانية مستقطبة نواها بعيدة عن الغشاء القاعدي والتي تُظهر نمطاً سياجياً مع أنوية موحدة منتظمة (Mendes et al., 2010). وقد تظهر البشرة نمواً برعماً من الطبقة القاعدية إلى النسيج الضام المحيط بها، مع تشكل أكياس مجهرية منفصلة، والتي تدعى أكياس بنات أو أكياس تابعة (Regezi, 2002)، أما جدار الكيس الليفي فهو رقيق وخالٍ من ارتشاح الخلايا الإلتهابية (Kolar et al., 2006).

١-٢-٦ التشخيص التفريقي :

اعتماداً على الأعراض السريرية والنتائج الشعاعية للـ KCOT فإن التشخيص التفريقي يشمل على: الكيس التاجي، الكيس حول السني الجانبي، ورم مصورات الميناء، لذا فإن الفحص النسيجي يعطي التشخيص الحاسم والدقيق (Kebede et al., 2016).

١-٢-٧ العلاج :

يعتمد العلاج على عوامل متعددة مثل: حجم الآفة، عمر المريض، موقع الآفة، شمولية الأنسجة الرخوة، تاريخ العلاج السابق و التغيرات النسيجية في الآفة، ويمكن أن يكون محافظاً أو غير محافظ.

العلاج المحافظ يشمل إستئصال مع أو بدون تجريف أو تكوية ، والعلاج المحافظ يتميز بأنه يحافظ على الأسنان، العظم، الأنسجة الرخوة و يتجنب الإضرار في الهياكل التشريحية

المجاورة (عصب الفك السفلي)، علاوة على ذلك إنخفاض التكلفة، لكن في المقابل مساوئ العلاج الجراحي مرتبطة بالإزالة الغير الكاملة من الأفة مما يعكس مضاعفات كتحول لخبثية وارتفاع معدل النكس ، والعلاج الجذري يشمل إستئصال مع قطع عظمي محيطي(جزئي)، وتجريف كيميائي بسائل Carnoy's أو قطع بلوك كامل مع حواف أمان لتقليل من معدل النكس وتحسين نوعية حياة المريض إلا إنه ينتج عنه تشوهات واضحة

(Kebede et al., 2016) ، (Matijevic et al., 2013).

١-٣ الفصل الثالث الكيس التاجي Dentigerous cyst:

الكيس التاجي هو ثاني أكثر الأكياس سنية المنشأ شيوعاً بعد الكيس الجذري، وبشكل حوالى ٢٤% من جميع الأكياس الحقيقية في الفكين ويعد أكثر الأكياس التطورية شيوعاً. عُرِف الكيس التاجي على أنه: كيس يتطور من خلال انفصال الجراب عن جميع أنحاء التاج في الأسنان المنطمرة، عادةً ما يتطور حول تاج الأسنان المنطمرة أو الزائدة، وتتكاثر البشرة المينائية المتراجعة المتبقية (Reduced Enamel Epithelium) المحيطة بالتاج، ويتجمع السائل بين طبقاتها (McCrea, 2009).

١-٣-١ السبب والآلية :

الآلية الإمرضية للكيس التاجي التطوري غير معروفة حيث يعتقد أنها تنشأ عن أجربة الأسنان الغير بازغة، هذه الأكياس تتطور من خلال توسع الأجربة السنية نتيجة تراكم سائل بين تاج السن والبشرة المينائية المتبقية أو بين طبقات البشرة (Buyukkurt et al., 2010).

١-٣-٢ المظاهر السريرية:

يعدّ الكيس التاجي عادة كآفة معزولة solitary، بطيء النمو، غير عرضي ويُكتشف بالصدفة خلال التصوير الشعاعي الروتيني، في معظم الأحيان يترافق مع الرحي الثالثة في الفك السفلي، يتبعها الأنثاب في الفك العلوي، ثم الضاحك الثاني في الفك السفلي، و الرحي الثالثة العلوية، يصبح أحياناً مؤلماً عند الإلتان فيسبب تورماً و احمراراً (erythema)، تكون الأكياس التاجية عادة صغيرة، لكن عندما تأخذ حجوماً كبيرة فإنها تسبب توسعاً وترققاً في الصفائح القشرية مما يؤدي إلى كسور مرضية، يصيب الأشخاص بشكل شائع في العقد الثاني والثالث من العمر، كما أنه يحدث عند الذكور بشكل مضاعف بالنسبة للإناث، و يحدث بمعدل أكثر بعشر مرات في الفك السفلي مقارنة مع العلوي (Paul et al., 2013).

١-٣-٣ المظاهر الشعاعية :

تظهر أغلبية الأكياس التاجية كآفة شافة على الأشعة متجانسة وحيدة المسكن، وواضحة الحدود وتطوق تاج السن الغير بازغة، حيث تبدأ الشفوية الشعاعية من الملتقى المينائي الملاطي عند عنق السن، وفي بعض الحالات قد تكون متعددة المساكن، في حالة غياب الإلتان فإنّ معظم الأكياس التاجية تُظهر حوافاً قشرية واضحة، وتكون رقيقة و منحنية.

التوسع في الصفيحة الشفوية الدهليزية Buccal/labial هو أمر شائع، لكن التوسع والتمدد الدهليزي اللساني هو أمر نادر للغاية، بالإضافة إلى وجود السن المنطمر أو الغير بازغ، والأكياس التاجية تميل بشكل كبير مقارنة مع الأكياس الفك الأخرى لامتناس جذور وحركة ليس فقط للأسنان المتورطة لكن أيضاً للأسنان المجاورة (Sridevi et al., 2015).

١-٣-٤ نسيجياً :

يتكون الكيس التاجي من جدار ليفي، يحتوي على كميات متنوعة من الأنسجة المخاطية والبقايا سنية المنشأ، وتكون اللمة مبطنة ب ٢-٤ من الطبقات المكونة من الخلايا البشرية الغير متقرنة المكعبة أو المسطحة، لكن من الممكن أن تشكل القرنين من خلال التحول النسيجي metaplasia، وقد تحتوي أحياناً على خلايا مخاطية دهنية mucosebaceous ، مهدبة ciliated ونادراً خلايا دهنية sebaceous cells.

يكون اتصال النسيج الضام مع البشرة عادةً مستوياً، لكن يصبح غير منتظم للغاية عندما يصاب الكيس بالالتهاب، وفي هذه الحالة قد تبدي البشرة فرط تصنع مع وجود أجسام هياالينية hyaline bodies، ويكون النسيج الضام أغنى بألياف الكولاجين، ويحتوي على درجات متنوعة من ارتشاح الخلايا الالتهابية المزمنة (Mishra et al., 2014).

1-٣-٥ التشخيص التفريقي :

من الصعب تمييز الكيس التاجي عن الجراب السني الواسع الطبيعي عندما يكون الكيس صغير الحجم، و قد أُقترح بأن الكيس التاجي موجود عندما تكون المسافة بين التاج والجراب السني أكبر من ٢,٥-٣ ملم، والتشخيص التفريقي للكيس التاجي يشمل ورم مصورات الميناء وحيدة الكيس UA ، الورم المشبه بالغدي سني المنشأ AOT ، المراحل المبكرة من كيس Gorlin ، الورم البشري المتكلس سني المنشأ CEOT (ورم بيندبورغ) ، والكيس المُتَقَرَن سني المنشأ (Guruprasad et al., 2013).

١-٣-٦ العلاج :

تعتبر إزالة السن المنظم مع استئصال الآفة لتدبير الأكياس التاجية، وفي حالات الأكياس الكبيرة قد تتطلب تكوية (Marsupialization) لتوفير الإجراء الجراحي اللاحق الأكثر أماناً وأقل إتساعاً، فمن أهم ميزات هذه الطريقة هي المحافظة على العظام والهيكل التشريحية الهامة، وعدم وجود مضاعفات خطيرة مثل حدوث إنتان أو كسر، والمحافظة على الاسنان في طور البزوغ، لكن من عيوب هذه الطريقة هي فترة الشفاء الطويلة، وعدم ارتياح المريض بسبب دعامات stents التكوية، قد يسبب عدم معالجة الأكياس التاجية وفي حالات نادرة آفات أكثر خطورة مثل: السرطان شائك الخلايا، السرطان المخاطي المشبه بالبشروي و ورم مصورات الميناء وحيدة الكيس (Cakarer et al., 2011).

١-٤ الفصل الرابع براعم الأسنان Tooth Buds:

١-٤-١ مرحلة البرعم Bud stage:

تمثل مرحلة البرعم الامتداد الأول للنسيج البشروي داخل النسيج الإكتوميزانشيمي في الفك. لا تظهر الخلايا البشروية في هذه المرحلة أي تغيير في الشكل أو الوظيفة. إذ يتكثف النسيج الإكتوميزانشيمي، تزداد الكثافة الخلوية المجاورة مباشرة للخلايا البشروية، تدعى هذه العملية بتكثف النسيج الإكتوميزانشيمي condensation of the ectomesenchymal tissue.

١-٤-٢ الانتقال من مرحلة البرعم إلى مرحلة القبة Transition from Bud to

:Cap stage

إن الانتقال من مرحلة البرعم إلى مرحلة القبة يعطي البداية للتمايز الشكلي لبداء السن tooth germ والتي ستميز عنها لاحقاً كل أنواع الأسنان.

١-٤-٣ مرحلة القبة Cap stage :

كلما نما برعم السن أكثر، انسحب بعيداً عن جزئه المرتبط بالصفحة السنية، ومن تلك النقطة تصبح السن الآخذة بالتطور مربوطة بحبل بشروي إلى الصفحة السنية، يدعى هذا الارتباط بالصفحة الجانبية Lateral lamina ، وعند هذه المرحلة المبكرة من تطور السن، يمكن التعرف على العناصر المشكلة للسن والأنسجة الداعمة، تُسمى النامية البشرية والتي تشبه القبة والمنغرس في النسيج الإكتوميترانشيمي المتكثف بعضو السن dental organ، وهذا هو الاسم القديم، وحالياً يستخدم مصطلح عضو الميناء Enamel organ وهو مصطلح أدق لأن عضو الميناء سيعطي في النهاية ميناء السن. يُدعى النسيج الإكتوميترانشيمي المتكثف والذي يكون محصوراً داخل عضو الميناء (محدد بطرفي القبة) بالحليمة السنية Dental papilla، والتي تعطي لاحقاً العاج واللّب. بينما يدعى الجراب أو الكيس dental follicle or Sac النسيج الإكتوميترانشيمي المتكثف الذي يحدد الحليمة السنية ويمحفظ عضو الميناء، إذ يعطي الأنسجة الداعمة للأسنان. ولأن البرعم السني يقع فوق الحليمة السنية كالقبة، تدعى هذه المرحلة من تطور السن بمرحلة القبة Cap stage يشكل كلا من عضو الميناء والحليمة السنية والجراب السني معاً بداءة السن Tooth germ، تعطي هذه الأنسجة الأنسجة السنية (الميناء والعاج مع اللّب والأنسجة الداعمة للسن) والتي

يمكن التعرف عليها ككيانات مستقلة. تبدأ التغيرات التطورية الهامة في وقت متأخر من المرحلة الجرسية وتستمر أثناء الانتقال من مرحلة القبة إلى المرحلة الجرسية . ومن خلال هذه التغيرات يصطلح التمايز النسيجي Histodifferentiation، إذ تتحول كتلة الخلايا البشرية المتشابهة إلى مكونات مختلفة وظيفياً وشكلياً. تتركب خلايا مركز عضو الميناء الغلوكونامينوغليكانات وتفرزه إلى الحيز خارج الخلوي بين الخلايا البشرية، تعد الغلوكونامينوغليكانات محبةً للماء وبذلك تسحب الماء إلى داخل عضو الميناء، وتدفع الخلايا المركزية بعيداً، ولأن هذه الخلايا تمتلك اتصالات مع بعضها عن طريق الجسيمات الرابطة Desmosomal contacts فإنها تصبح نجمية الشكل Star-shaped، لذلك تدعى الخلايا المركزية في عضو الميناء بالخلايا النجمية الشبكية Stellate reticulum ونميز أيضاً "في عضو الميناء: البشرة المينائية الخارجية Outer Enamel Epithelium والتي تتوضع في المحيط الخارجي لعضو الميناء، والبشرة المينائية الداخلية Enner Enamel Epithelium والتي تتوضع في المحيط الداخلي لعضو الميناء والذي يجاور الحليمة السنية.

١-٤-٤ المرحلة الجرسية المبكرة والمتأخرة Early & Late Bell stage :

يؤدي استمرار نمو برعم السن إلى الانتقال للمرحلة التالية التي تدعى المرحلة الجرسية، وتدعى كذلك لأن عضو الميناء يصبح شبيهاً بالجرس Bell، إذ يتعمق السطح السفلي للقبة البشرية، أثناء هذه المرحلة يأخذ تاج السن شكله النهائي (تمايز شكلي) وتكتسب الخلايا (مصورات الميناء ومصورات العاج التي ستشكل الانسجة الصلبة) نمطها الظاهري المميز (Histodifferentiation).

على محيط عضو الميناء، تأخذ الخلايا شكلاً مكعباً منخفضاً وتشكل البشرة المينائية الخارجية Outer enamel epithelium، وتظهر الخلايا على حدود الحليمة السنية إسطوانية متطاولة وتتميز بالمحتوى الغليكوجيني العالي حيث تشكل البشرة المينائية الداخلية Inner enamel epithelium. تكون كل من البشرة المينائية الداخلية والخارجية مستمرة، إذ تبدأ البشرة الداخلية في النقطة التي تنطوي فيها البشرة الخارجية لتشكل تقعرًا تسكن فيه خلايا الحليمة السنية. تعرف المنطقة التي تلنقي فيها البشرة المينائية الداخلية والخارجية على حافة عضو الميناء بمنطقة الانعكاس Zone of reflexion أو العروة العنقية Cervical loop، وتشكل هذه النقطة المكان الذي تستمر فيه الخلايا بالانقسام حتى يصل تاج السن إلى حجمه الكامل، و تعطي لاحقاً (بعد تشكل التاج) المكون البشروي لتشكل الجذر وهو غمد هيرتفغ البشروي (HERS) Hertwigs Epithelial Root sheath.

في المرحلة الجرسية تتمايز بعض الخلايا البشروية الواقعة بين البشرة المينائية الداخلية والنسيج النجمي الشبكي إلى طبقة أو طبقتين من الخلايا تدعى بالطبقة المتوسطة Stratum intermedium، تتميز هذه المنطقة لاحقاً بفعالية عالية لأنزيم الفوسفاتاز القلوية، ومع أن هذه الطبقة تختلف نسيجياً عن البشرة المينائية الداخلية، إلا أن كلا الطبقتين تعملان بتآزر، وتعتبران وحدة وظيفية واحدة مسؤولة عن تشكيل الميناء. الخطوة التالية في تطور الأسنان هي التمايز النهائي للخلايا المصورة للميناء والخلايا المصورة للعاج، وتشكيل الأنسجة الصلبة الأساسية للسن: العاج (النسيج الصلب المتخصص المشكل لكتلة السن) والميناء وتدعى العملية بالتمايز النسيجي Histodifferentiation.

حتى يأخذ التاج شكله النهائي من مرحلة القبة وحتى الجرسية المبكرة، تستمر كل خلايا البشرة المينائية الداخلية بالانقسام. بعد ذلك، حتى يصل التاج إلى حجمه المثالي، تنقسم فقط الخلايا عند الحفاف العنقي لعضو الميناء. أما عند مواقع الحدبات النهائية المستقبلية، تبدأ أول طبقة من العاج بالظهور، إذ تنقطع الفعالية الإنقسامية وتتطاوّل الخلايا الأسطوانية لبشرة الميناء الداخلية وتنعكس قطبيتها، فتصبح أطول وتتوضع أنويتها بالقرب من الطبقة المتوسطة وبواجه جهاز غولجي فيها الحليمة السنية. عندما تحدث التغيرات الشكلية في الخلايا المينائية الداخلية، تحدث تغيرات في الحليمة السنية المجاورة أيضاً، حيث تزداد الخلايا الإكتوميترانشيمية غير المتميزة بسرعة في الحجم وفي النهاية تتمايز إلى خلايا مصورة للعاج وهي الخلايا المشكلة للعاج. أثبت التجارب في زراعة الأنسجة أن تمايز الخلايا المصورة للعاج من خلايا إكتوميترانشيمية غير متميزة من محيط الحليمة السنية يبدأ من تحريض من خلايا بشرة الميناء الداخلية، ولا يتطور العاج في حال غياب بشرة الميناء الداخلية، إذ تمثل الخلايا المينائية الداخلية خلايا تحريضية وتظهر تعبيراً وإفرازاً للعديد من عوامل النمو.

ومع استمرار التطور، يحدث تمايز متتال لبشرة الميناء الداخلية على طول منحدر الحدبات وتمايز للخلايا المصورة للعاج في الحليمة السنية. تبدأ الخلايا المصورة للعاج التي تمايزت بتشكيل القالب العضوي للعاج والذي يتمعدن لاحقاً. حالما يتوضع القالب العضوي تنتقل الخلايا المصورة للعاج باتجاه مركز الحليمة السنية، تاركة خلفها استطالة سيتوبلاسمية والتي يتشكل العاج حولها، وبهذه الطريقة تتأسس البنية الأنبوبية للعاج.

قبل أن يتم تشكيل أول طبقة من العاج الساتر (Mantel Dentin)، تفرز خلايا البشرة المينائية الداخلية (الخلايا ماقبل الخلايا المصورة للميناء Preameloblasts) بروتينات الميناء والتي لا تتراكم كطبقة. قد تلعب هذه البروتينات الأولى مع عوامل النمو دوراً هاماً في الإشارات البشروية الاكتوميترانشيمية والتي تؤدي في النهاية إلى تمايز الخلايا المصورة للعاج، تستمر خلايا بشرة الميناء الداخلية بتمييزها إلى الخلايا المصورة للميناء والتي تنتج القالب العضوي مقابلاً للعاج السطحي المتشكل حديثاً وهذا مايسمى بالتحريض المتبادل. يتمعدن هذا القالب العضوي خلال وقت قصير ويتكون الطبقة الأولية من ميناء التاج، مع أن إفراز البروتين المينائي يحدث قبل أن يصبح العاج الساتر مرئياً على التاج، إلا أن هذه البروتينات لا تجتمع كطبقة حتى يتشكل العاج. تتحرك الخلايا المصورة للميناء بعيداً عن العاج تاركة خلفها ثخانة مينائية متزايدة. ومن أجل أن تستمر هذه العملية بشكل طبيعي فإن الخلايا المصورة للعاج الأخذة بالتمايز يجب أن تتلقى إشارات من الخلايا المصورة للميناء والعكس بالعكس وهو مثال على التحريض المتبادل Reciprocal induction.

قبل تشكيل الطبقة الأولى من العاج، تتلقى خلايا عضو الميناء وخصوصاً البشرة المينائية الداخلية تغذيتها من مصدرين: الأوعية الدموية المتوضعة في الحليمة السنية والأوعية المتوضعة على طول محيط البشرة المينائية الخارجية. عندما يتشكل العاج فإنه يقطع المصدر الحليمي (الحليمة السنية) من التغذية مما يؤدي إلى نقصان كبير في كميات المواد المغذية التي تصل إلى عضو الميناء. هذا النقصان يحدث عندما تكون خلايا بشرة الميناء الداخلية على وشك إفراز الميناء بفعالية، وبذلك يزداد الطلب على المواد المغذية، يعوض هذا الطلب بنقصان شديد في سماكة النسيج النجمي الشبكي المقابل لمنطقة التشكل،

زيادة في تعرجات الغشاء القاعدي الذي تتوضع عليه خلايا البشرة المينائية الخارجية المقابل، ويصبح الغشاء الخلوي لخلايا البشرة المينائية الخارجية المقابل للجراب السني زغابي السطح (لزيادة المساحة).

١-٤-٥ الحليمة السنيّة والجراب السني :

تتفصل الحليمة السنيّة عن عضو الميناء بواسطة الصفيحة القاعدية التي تمتد منها كتلة من اللييفات الدقيقة إلى داخل المنطقة غير الخلوية، هذه اللييفات تطابق الصفيحة الشبكية الليفية للغشاء القاعدي، وهناك تتراكم بروتينات قالب المينائي الأولى المفردة. تظهر خلايا الحليمة السنيّة كخلايا إكتوميزانثيمية غير متميزة، ذات بنية غير معقدة مع وجود جميع العضيات الخلوية الاعتيادية وبكميات ضئيلة. تحتل القليل من اللييفات الكولاجينية الدقيقة المسافات خارج الخلوية. تسمى الحليمة السنيّة لباً سنياً متطوراً مع ظهور أول طبقة متكلسة على ذروة الحدة في المرحلة الجرسية المتأخرة للبرعم السني. مايميز الجراب السني عن الحليمة السنيّة هو وجود الكثير من لييفات الكولاجين والتي تحتل المسافات خارج الخلوية بين الخلايا المصورة لليف الجرابية، وهذه اللييفات تأخذ عموماً شكلاً دائرياً يحيط بعضو الميناء والحليمة السنيّة (Nanci, 2012).

١-٥ الفصل الخامس واسمات تشخيص الآفات سنيّة المنشأ :

يعتمد تصنيف الأورام سنيّة المنشأ أولاً على السلوك فيما إذا كان سليماً أم خبيثاً، وثم على التشكل النسيجي لهذه الآفات. كمجموعة مشتقة من منشأ يعود للورقة الخارجية Ectodermal أو من الأصل الإكتوميزانثيمي ectomesenchymal التي هي جزء من جهاز تشكيل الأسنان، وعليه فإن الأورام سنيّة المنشأ تقسم إلى آفات مشتقة من الظهارة

سنيّة المنشأ فقط، وأورام مشتقة من إكتوميزانثيم سني المنشأ فقط، وأورام تتكون من كليهما (أورام مختلطة). ويستعرض الجدول التالي تصنيف أكثر وأهم الأورام سنية المنشأ الشائعة حسب منظمة الصحة العالمية (WHO) (Barnes et al., 2005).

Classification of the most common and important odontogenic tumours. (Based on the WHO classification 2005,¹ where readers can find a full and detailed classification of these lesions.)	
Benign tumours	
Odontogenic epithelium only:	
•	Ameloblastoma
•	Squamous odontogenic tumour
•	Calcifying epithelial odontogenic tumour
•	Adenomatoid odontogenic tumour
•	Odontogenic keratocyst (keratocystic odontogenic tumour)
Odontogenic epithelium and odontogenic mesenchyme:	
•	Ameloblastic fibroma
•	Odontomas - complex and compound
•	Calcifying odontogenic cyst (and variants)
Odontogenic mesenchyme:	
•	Odontogenic fibroma
•	Odontogenic myxoma
•	Cementoblastoma
Malignant tumours	
Odontogenic carcinomas:	
•	Malignant ameloblastoma
•	Primary intra-osseous squamous cell carcinoma
•	Clear-cell odontogenic carcinoma
•	Ghost cell odontogenic carcinoma
Odontogenic sarcomas:	
•	Ameloblastic fibrosarcoma

الجدول (١-١) تصنيف منظمة الصحة العالمية للأورام سنيّة المنشأ

والأورام سنيّة المنشأ هي آفات تشتق من الأنسجة المنتجة للأسنان أو من بقاياها والتي تبقى إما داخل عظم الفك أو مجاورة للأنسجة الرخوة، والمصادر المحتملة لتطور الأورام سنيّة المنشأ متنوعة وتشمل على :

١- الصفيحة السنيّة ماقبل الوظيفية The pre-functional dental lamina (الظهارة

السنيّة مع القدرة على إنتاج الأسنان) وهي أكثر وفرة في مكان الرحي الثالثة السفلية.

- ٢- الصفيحة السنّية بعد الوظيفية The post functional dental lamina، وهي التي تعطي: ١- بقايا سيرز البشروية (ERS) Epithelial Rests of Serres، والتي تقع بالقرب من النسيج اللثوي، ٢- بقايا ملاسيه البشروية (ERM) Epithelial Rests of Malassez في الرباط حول السني و ٣- بقايا عضو الميناء البشروية (REE) Reduced Enamel Epithelium التي تغطي سطح الميناء حتى بزوغ السن.
- ٣- الحليمة السنّية The dental papilla، أصل اللب السني، الذي لديه القدرة على حث إنتاج خلايا مصورات العاج و تركيب العاج و ١ أو المادة المشبه بالعاج.
- ٤- الجراب السني The dental follicle.
- ٥- الرباط حول السني The periodontal ligament، الذي لديه القدرة على الحث على إنتاج الألياف و المادة الملاطية العظمية المتمعدنة cemento-osseous mineralized material (Taylor, 2008).
- إن التشخيص الدقيق للآفات المرضية هو هدف الأساسي لكل مشرح مرضي Pathologist وعلى الرغم من أن الصورة النسيجية المرضية histopathological picture تعدّ العنصر الرئيسي لتشخيص الأورام سنية المنشأ، فإن واسمات الورم (Tumour markers) وعلى الرغم من قلتها باتت تلعب دوراً مهماً كأداة مساعدة في التشخيص، ويلخص الجدول (١-٢) أهم واسمات الأورام السنّية المنشأ (Premalatha et al., 2013).

Markers	Clinical significance
CK 14, 19	Differentiates odontogenic epithelial tumors from other epithelial tumors
Amelogenin	Expressed in odontogenic tumors with odontogenic epithelial

	component
Ameloblastin	Mulated in odontogenic tumors with odontogenic epithelial component
Nestin	Marker for odontogenic ectomesenchyme
Calretinin	Differentiates ameloblastoma from other tumors Differentiates unicystic ameloblastoma from odontogenic cysts
Bone Morphogenic protein	Expressed in odontogenic tumors with dental hard tissue formation
Tenascin	Expressed in tumors forming calcified masses
HMG A2	Over expression in odontogenic mesenchymal tumors
Basement membrane proteins: Laminin 1	Marker for odontogenic epithelium

الجدول (٢-١) واسمات تشخيص الأورام سنية المنشأ

إنَّ الفهم الأفضل للآليات الجزيئية المتعلقة بتشكيل الأورام سنية المنشأ سوف يساعد في التنبؤ بمسار الأورام سنية المنشأ، ويؤدي إلى تطوير مفاهيم علاجية جديدة لتدبيرها، على الرغم من أن المسببات المرضية للأورام سنية المنشأ لا تزال مجهولة. حددت الدراسات الأخيرة العديد من التغيرات الجزيئية المسؤولة عن تطور وتقدم الأورام كما يوضح (٣-١) :

الذي يشير إلى الجزيئات المحتملة المرتبطة بالتنشؤ الورمي Tumorigenesis و / أو تمايز الخلايا الورمية في الأورام سنية المنشأ (Kumamoto, 2006).

Summary of molecules involved in the development and progression of odontogenic tumors / Molecules possibly associated with tumorigenesis and/or tumor cell differentio	
Oncogenes	Ras, Myc, Fos
Tumor-suppressor genes	p53, APC
Oncoviruses	HPV, EBV
Growth factors	TGF-a, -b, FGF-1, -2, HGF
Telomerase	Telomerase
Cell cycle regulators	Cyclin D1, p16INK4a, p21WAF1/Cip1, p27Kip1

Apoptosis-related factors	Bcl-2 family, IAP family, Fas, TNF- α , p53
Regulators of tooth development	SHH pathway, Wnt pathway
(Hard tissue-related proteins)	(Amelogenin), Enamelin, Ameloblastin, Enamelysin, BSP, Osteonectin, Osteocalcin, Osteopontin, BMP
Molecules possibly associated with tumor progression	
Cell adhesion molecules	E-selectin, ICAM-1, VCAM-1, E-cadherin, Integrins, CD44
Matrix-degrading proteinases	MMP-1, -2, -9/TIMP-1, -2, Heparanase
Angiogenic factors	VEGF
Osteolytic cytokines	IL-1, -6, TNF- α , PTHrP, RANKL/OPG

الجدول (٣-١) ملخص للجزيئات المشمولة في تطور وتقدم الأورام سنية المنشأ

ومن تلك الجزيئات من الجدول السابق هي البروتينات المتعلقة بالأنسجة الصلبة (Hard tissue-related proteins) حيث تساهم في تشكيل القالب المينائي وفي تشكيل العاج والملاط والعظم.

تم التعبير عن بروتينات مينائية وأنزيماتها في مكونات بشرية في أنواع مختلفة من الأورام سنية المنشأ (Mori et al., 1991)، (Toyosawa et al., 2000)، (Takata et al., 2000)، (Yoshida et al., 2003). هذه النتائج تشير بأن الشذوذ في البروتينات المتعلقة بالمينا تشارك في التكون الورمي oncogenesis من ظاهرة سنية المنشأ.

٦-١ الفصل السادس البروتينات المينائية Enamel Proteins:

يتكون القالب العضوي في المينا من بروتينات مينائية وأنزيمات Enzymes، ٩٠ % من هذه البروتينات تُشكلها مجموعة متغايرة المنشأ (Heterogeneous) ومنخفضة الوزن

الجزئي تعرف بالأميلوجينينات (Amelogenins) والباقي ١٠% يتكون من اللا أميلوجينينات (Nonamelogenins) (Nanci, 2012).

١-٦-١ الأميلوجينين Amelogenin:

عزل بروتين الأميلوجينين لأول مرة من قبل Termine وزملاؤه عام ١٩٨٠ (Termine et al., 1980). يملك الهيكل الأساسي للأميلوجينين قطباً محباً للماء hydrophilic وقطباً كارهاً للماء hydrophobic وهذا ما يعتقد أنه يُحدد قدرته على التجميع assemble في نماذج مختلفة، وتشكيل جزيئات نانوية تساهم بتشكيل الميناء اعتماداً على الظروف المحيطة بالجزء (Delak et al., 2009).

يتكون الأميلوجينين البشري كامل الطول Full length amelogenin (H175) من ١٧٥ حمضاً أمينياً أغلبها كارهة للماء، منها ١٢ حمضاً "أمينياً" محبة للماء والتي تُشكل النهاية الكربوكسيلية COOH للبروتين، يُشكل بروتين الأميلوجينين غالباً ٢٠ - ٢٥ كيلو دالتون (اعتماداً على تقديرات الهلام الكهربائي SDS)، وهو غني بالأحماض الأمينية منها: البرولين Proline ٢٥%، الغلوتامين Glutamine ١٤%، الليوسين Leucine ٩%، والهستيدين Histidine ٧%، حيث تشكل هذه الأحماض ٥٠% من أحماضه الأمينية (Ndao et al., 2011).

ينقسم تسلسل الأميلوجينين عادة إلى ٣ مجالات للأحماض الأمينية البارزة وهي :

١- مجال النهاية الأمينية N الكارهة للماء وهي مجال A وتحتوي على الأحماض الأمينية

١-٤٢ الغنية بالتيروزين ويرمز له Tyrosine-rich amelogenin peptide (TRAP)

وهو ببتييد الأميلوجينين الغني بالتيروزين (Paine et al., 2004).

٢- والمنطقة الغنية بالبرولين proline المركزية الوسطى، وهي كارهة للماء.

٣- ومجال النهاية الكربوكسيلية C المحبة للماء، وهي مجال B يتكون من الأحماض

الأمينية من ٥٧-١٧٥ (Ruan and Moradian-Oldak, 2015).

يفرز الطول الكامل للأميلوجينين Full-length amelogenin خلال مرحلة الإفراز من

خلايا مصورات الميناء بشكل عابر حيث يتم معالجته بسرعة بواسطة أنزيم Matrix

Enamelysin Metalloprotease-20 (MMP-20) وبشكل إنتقائي وخاصة في

النهاية الكربوكسيلية (C-terminal) فتعطي منتجاتٍ وقطعاً صغيرةً (small fragment)

رئيسية والتي تتراكم أثناء مرحلة الإفراز خلال عملية تشكّل الميناء (Amelogenesis)

وتقوم بالتجميع الذاتي (Self-assemble) وتشكّل بنى نانوية (Nanostructure) تتراكم

وتسمح لبلورات الهيدروكسي الأباتيت (HAP) بالتشكّل والتطاول ولكن لا تنمو بالسماكة،

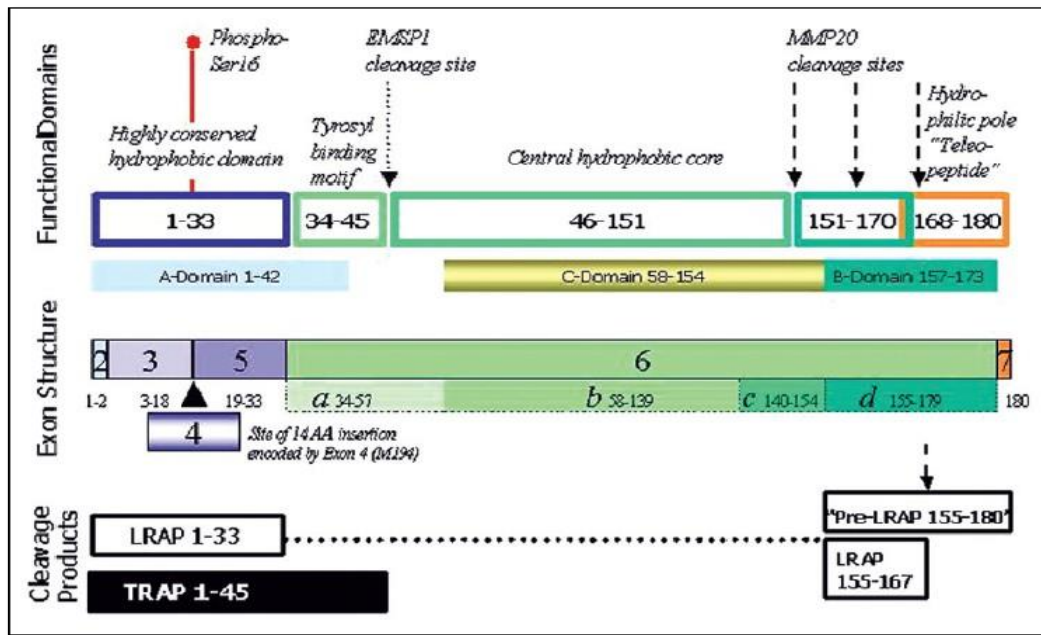
حيث تبدأ البلورات بالنمو بالسماكة خلال مرحلة النضج (maturation stage) حيث يتم

تحطّم وزوال بقايا ببتييدات الأميلوجينين بواسطة KLK4 (Kallikrein-4) (Bromley et al., 2012).

١-٦-٢ بنية مورثة الأميلوجينين : Amelogenin Gene Structure

مورثات الأميلوجينين عند الإنسان موجودة على الصبغي X-linked Amelogenin (AMELX) في الموقع p22.3- Xp22.1 وعلى الصبغي Y (AMELY) في الموقع (Yp11)، ولكن الأميلوجينين المشتق من جين Y يشكل فقط ١٠%، في حين ٩٠ % من نسخ mRNA قد تم التعبير عنها من الصبغي X (AMELX) (Salido et al., 1992).

تملك مورثة AMELX عند الإنسان ٧ إكسونات، وتبدأ الترجمة عند الإكسون ٢ والإكسون الأخير يُرمز إلى واحد فقط من الحمض الأميني الأخير، والإكسون ٤ Exon4 يرمز إلى ١٤ حمض أميني، وهو تقريباً وبشكل دائم يُتخطى أو يُحذف خلال اللصق (splicing) ما قبل الحمض النووي المرسال Pre- mRNA، وبالتالي فإن الطول الكامل للحمض النووي المرسال الذي يحتوي على الإكسون ٤ هو ليس نسخة رئيسية، والحمض النووي المرسال الأكثر وفرة هو نسخة الطول الكامل محذوفة الإكسون ٤ ويملك الإكسون ٦ مواقع الربط الداخلية كما يوضح الشكل (١-٣) (Cho et al., 2014).



الشكل (٣-١) يوضح مورثة جين الأميلوجينين

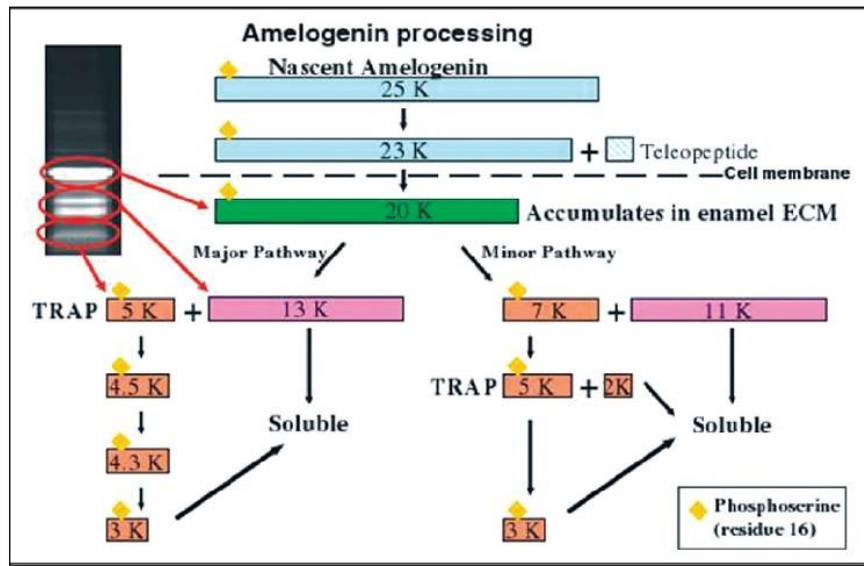
تخضع مورثة الأميلوجينين الرئيسية لعملية اللصق البديل alternative splicing وتشكل مجموعة من البروتينات الضرورية لتشكيل ميناء الأسنان، وتعتبر عملية اللصق البديل مهمة لإنتاج بروتينات متعددة من مورثة واحدة لها وظائف مختلفة محتملة (Stahl et al., 2015).

٣-٦-١ أشكال الأميلوجينين Isoforms of Amelogenin:

هناك ثلاثة أسباب للتنوع في بروتين الأميلوجينين وهي: ١- أن المورثات المسؤولة عن نسخ الأميلوجينين قد وجدت على كلا الصبغيين X-Y وهما غير متماثلين تماماً، ٢- تحتوي مورثة الأميلوجينين على عدة إكسونات والتي يمكن أن تخضع للصلق في عدة أشكال لإنتاج الحمض النووي مرسل mRNA الناضج والتي قد تشمل كل الإكسونات أو بعضها، وتنتج تقريباً ٩ أشكال، ٣- تخضع الأميلوجينينات لفترة قصيرة (ثانوية) وفرة طويلة (واسعة) من

المعالجة خارج الخلوية بواسطة الأنزيمات الحالة للبروتين (proteolytic enzymes) إلى قطع ذات وزن جزيئي منخفض مثل بيتيد الأميلوجينين الغني بالتيروزين Tyrosine-rich amelogenin peptide (TRAP) والأميلوجينين الغني بالليوسين Leucin-rich amelogenin peptide (LRAP) ويشكلان الجزء الأكبر من القالب العضوي النهائي المتبقي في الميناء المتطور (Nanci, 2012) .

أهم منتجات التحلل البروتيني (Proteolytic products) من الأميلوجينين الرئيسية هي 23KDa (rh163) - 20KDa (rh146) - 13KDa - 11 KDa - TRAP وغيرها كما يوضح الشكل (٤-١) (Khan et al., 2013).



الشكل (٤-١) يوضح منتجات عملية التحلل البروتيني proteolytic processing خارج الخلوي للأميلوجينين

1-6-4 Leucine Rich Amelogenin Peptide (LRAP) ببتيد الأميلوجينين

الغني بالليوسين :

إنّ نسخة ال RNA (RNA transcript) الرئيسية لبروتين الأميلوجينين يمكن أن تخضع للصلق البديل alternatively spliced كما ذكرنا سابقاً لتشكيل على الأقل ١٦ من الحمض النووي مرسال mRNAs التي تترجم إلى بروتينات متنوعة والتي تتغير نسبها أثناء مرحلة تشكيل السن. أحد منتجات الصلق البديل لبروتين الأميلوجينين يُعرف بببتيد الأميلوجينين الغني بالليوسين (LRAP)، الذي تم تنقيته لأول مرة من القالب المينائي المفرز من قبل Fincham et al عام ١٩٨١، وقد تم تحديده في وقت لاحق من قبل Vies وزملاؤه كعامل مسؤول عن بروتين القالب الذي يشكل العظم. ويتشارك LRAP مع الطول الكامل للأميلوجينين بعدة خصائص مشتركة في تسلسل الأحماض الأمينية (Stahl et al., 2013).

كما أن الحمض النووي المرسال لل LRAP يشكل ١٠% من الأشكال Isoform الرئيسية للأميلوجينين (Nagano et al., 2009). حيث يتكون بببتيد الأميلوجينين الغني بالليوسين (LRAP) من ٥٩ من الأحماض الأمينية، يتكون من مجالات النهايات الأمينية N ٣٣ حمضاً أمينياً، والكربوكسيلية C ٢٦ حمضاً أمينياً من الطول الكامل للأميلوجينين، والتي يعتقد أنها ترتبط ببلورات الهيدروكسي أباتيت (HAP) Hydroxyapatite crystals وتساهم في تشكيل الميناء (Masica et al., 2011). ويوضح الشكل التالي تسلسل الأحماض الأمينية ذات اللون الاصفر التي تشكل ال LRAP (Tarasevich et al., 2015).

MPLPPHPGSP GYINLSYEV L TPLKQYQSMI RQPYPSTYGYE PMGGWLHHQI
 IPVLSQQHPP SHTLQPHHHL PVVPAQQPVA PQQPMMPVPG HHSMTPTQHH
 QPNIPPSAQQ PFQQPFQQA IPPQSHQPMQ PQSPLHPMQ LAPQPPLPPL
 FSMQPLSPIL PELPLEAWPA TDXTKREEVD

الشكل (٥-١) يوضح تسلسل الأحماض الأمينية لبروتين LRAP

إنَّ ال LRAP هو أصغر منتج من اللصق البديل لبروتين الأميلوجينين، يمكن ان ينظم عملية التمعدن، كما ذكر أنه يتم تشكيل بلورات الهيدروكسي أباتيت بوجود ال LRAP، وهذه الأدلة تفترض بأن ال LRAP لديه القدرة في أنه يلعب دوراً مؤثراً وممهداً لتعزيز إعادة تمعدن عيوب الميناء (Bagheri et al., 2015).

٥-٦-١ الطفرات في مورثة الأميلوجينين : Mutations of amelogenin gene

قد يؤدي الخلل أثناء تشكل الميناء (amelogenesis) إلى مجموعة من الأمراض التي تتميز بعيوب في الميناء تدعى عيوب تشكل الميناء (AI) Amelogenesis Imperfecta (AI) تشكل الميناء المعيب (AI) الوراثية قد تكون على مورثات جسمية مسيطرة Autosomal Dominant (AD) أو على مورثات جسمية متنحية Autosomal Recessive (AR) أو مرتبطة بالصبغي الجنسي X اعتماداً على خلل المورثات الكامن.

يصنف النمط الظاهري لعيوب تشكل الميناء إلى مجموعتين: ١- نقص التنسج (Hypoplastic AI)، وهو عيب كمي يتميز بميناء رقيق جداً أو انعدام الميناء، الميناء المنقط أو مع ميازيب وسببه عيوب بإفراز القلب المينائي. ٢- نقص التمعدن (Hypomineralized AI) وهو خلل نوعي يتميز بميناء هش وسببه عيوب بتمعدن ونسج

الميناء، وهذا النوع يمكن أن يصنف إلى:- نقص التكلس (hypocalcified AI)، وهو انخفاض في تمعدن الميناء - نقص النضج (hypomature AI) الناجم عن عيوب في نضج البلورات المينائية. يتميز المرضى المصابين بمرض تشكّل الميناء المعيب (AI) بفقدان الأسنان السريع، أو كسور في الميناء، إضافة إلى التغيرات في: سماكة الميناء، اللون، الشكل، والعوامل المتعلقة بالمظهر الجمالي و وظيفة المضغ (Prasad et al., 2016).

Number	Mutation	References
1	p.0	[Lagerström et al., 1991]
2	p.M1T	[Kim et al., 2004]
3	p.W4S	[Kim et al., 2004]
4	p.W4X	[Sekiguchi et al., 2001b]
5	p.I5-A8delinsT	[Lagerstrom-Fermer et al., 1995]
6	p.T51I	[Lench and Winter, 1995]
7	p.P52fsX53	[Aldred et al., 1992] [Lench et al., 1994]
8	p.P52R	[Kida et al., 2007]
9	p.P70T	[Collier et al., 1997] [Hart et al., 2000] [Ravassipour et al., 2000]
10	p.H77L	[Hart et al., 2002]
11	p.H129fs187	[Sekiguchi et al., 2001a]
12	p.Y141fsX187	[Greene et al., 2002]
13	p.P158fsX187	[Lench and Winter, 1995]
14	p.L181fsX187	[Kindelan et al., 2000] [Hart et al., 2002]
15	p.E191X	[Lench and Winter, 1995]

الشكل (١-٦) يوضح طفرات بروتين الأميلوجينين المسببة لتشكّل الميناء العيب

حدّد تحليل الطفرات (Mutational analyses) لبروتين الأميلوجينين ١٥ طفرة على الصبغي X تؤدي إلى الإصابة بعيوب تشكّل الميناء كما في الشكل (١-٦) حيث يبين

هيكل الإنترون والإكسون لل AMELX الذي ورد في أعلى الجدول والذي يشير إلى ٧ إكسونات لل AMELX من خلال ترقيم الصناديق مع ٦ من الإنترونات وهي خطوط ربط الإكسون، تظهر الأعداد تحت كل إكسون مجموعة الأحماض الأمينية المرمزة بواسطة الإكسون (Hu et al., 2007).

إلى الآن فإن الطفرات في مورثة AMELX هي المسبب الوحيد لتشكيل الميناء المعيب المرتبط ب X، وقد كشف النمط الظاهري الوراثي Genotype-phenotype بأن الطفرات في نهايات N، وأجزاء نهاية C من AMELX تسبب تشكل ميناء ناقص التنسج hypoplastic، بينما الطفرات في الجزء المركزي من AMELX تسبب تشكل ميناء ناقص النضج hypomatured وبعض حالات الميناء الناقص التنسج (Chan et al., 2011).

١-٦-٦ وظائف بروتين الأميلوجينين : Amelogenin functions

من الصعب تحديد وظائف بروتين الأميلوجينين لعدة أسباب :

١- نسخة الحمض النووي RNA الأساسي لل AMELX تخضع للصلق البديل alternatively spliced إلى ما لا يقل عن ١٦ نسخة، وكل واحدة قادرة على أن تترجم إلى بروتين مختلف .

٢- كل نسخة بروتين من بروتينات الأميلوجينين تخضع للتحلل البروتيني proteolytic، الذي يخضع لتنظيم عالٍ أثناء التشكل، ويؤدي إلى عدد كبير من الببتيدات الإضافية

٣- مورثة الأميلوجينين AMELX تتوضع بشكل رئيسي على الصبغي X، لكن قد وُجد في بعض الأنواع ومنها الإنسان أن مورثة الأميلوجينين تتوضع على الصبغي Y أيضاً، ونسخة البروتين على الصبغي Y أيضاً تخضع للتحلل البروتيني (Gibson et al., 2005).

١-٦-٧ دور الأميلوجينين في تشكيل الميناء وتمعدنه

Role of Amelogenin in Enamel Formation and Mineralization

لمحة عن البنية المجهرية للميناء : Enamel microstructure

الميناء يحتوي على هياكل في مستويات من مقياس النانو متر إلى مقياس ميكرومتر (Cui and Ge, 2007).

في مستوى مقياس النانو nanoscale، فإن العناصر الأساسية في الميناء الناضج هي عالية التنظيم، وهي بلورات الهيدروكسي أباتيت أبعادها ٥٠ - ٧٠ نانومتر في العرض، ٢٠ - ٣٥ نانومتر في السماكة (Moradian-Oldak, 2012). تزداد سماكة البلورات المينائية من الملتقى المينائي العاجي باتجاه الطبقة الخارجية، وفي مقياس الميكرو microscale، يتم تجميع هذه البلورات في هياكل أكثر تعقيداً، حجمها بالميكرومتر تعرف بالموشير والمادة بين الموشورية interrods والتي تعتبر الوحدات التنظيمية الأساسية عند ميناء الثدييات، الحدود بين الموشير والمادة بين موشورية هي مساحة ضيقة تحتوي على مادة عضوية تعرف بأغمد الموشير "rod sheath". أحجام الموشير والمادة بين موشورية متنوعة تعتمد على عمق الميناء، حيث تم الكشف على أن السطح الخارجي للميناء يملك موشير أصغر تقريباً ٣ ميكروناً ومناطق بين موشورية أوسع تقريباً ٢ ميكروناً، وفي الطبقة العليا من ميناء الأرواء البشرية فإن الموشير تتجه بشكل شعاعي وتعرض السطح الإطباق

عامودياً، وفي الثلثين الداخليين من الميناء فإن المواشير المينائية تتحرف عن المحور الطولي في نمط متموج أو منسوج، والتي يشار إليها عادةً باسم التصالب (decussation)، ويعتقد بأن البنية المجهرية الهرمية المعقدة هي العامل الرئيسي المسؤول عن الخواص الميكانيكية الفريدة للميناء (Ruan and Moradian-Oldak, 2015).

٨-٦-١ تشكيل الميناء Amelogenesis :

تتطوي عملية تشكيل الميناء (amelogenesis) على سلسلة من النشاطات الخلوية المنظمة بشكل عالٍ ودقيق، وعمليات التمعدن والتي يسيطر عليها البروتينات المينائية، أهم مراحل تشكيل الميناء هي: مرحلة ما قبل الإفراز presecretory ، مرحلة الإفراز secretory ، والمرحلة الإنتقالية transitional ، والنضج maturation هذه المراحل يحددها شكل ووظيفة خلايا مصورات الميناء (Smith, 1998). إن خلايا مصورات الميناء هي طبقة مفردة من الخلايا تغطي الميناء المتطور، والمسؤولة عن تكوين الميناء والبنية الهرمية، والعملية الدينامكية للتمعدن الحيوي للميناء تحدث في المسافات خارج الخلوية بين خلايا مصورات الميناء ما قبل الإفرازية presecretory والعاج المتمعدن (Moradian-Oldak, 2012). تبدأ البلورات المينائية بالتشكل عند الملتقى المينائي العاجي (DEJ) مباشرة بعد زوال الغشاء القاعدي تحت كامل مصورات الميناء ما قبل الإفرازية presecretory المتميزة. يفرز القالب البروتيني الخارج الخلوي بشكل مستمر، ويتم معالجته بطريقة متدرجة وبأسلوب محكم أثناء مرحلة الإفراز، عندها تنمو البلورات المينائية في الطول وتتخذ ضمن طبقة الميناء، وعندما تصل طبقة الميناء لكامل السماكة في مرحلة النضج يخضع القالب البروتيني للتحلل والتفكك

وتتمو البلورات المينائية بشكل رئيسي في العرض والسماكة، وفي نهاية الأمر تتم إزالة هذه القالب من المسافة خارج خلوية لتسمح بانتهاء واكتمال عملية التمدن (Bartlett, 2013).

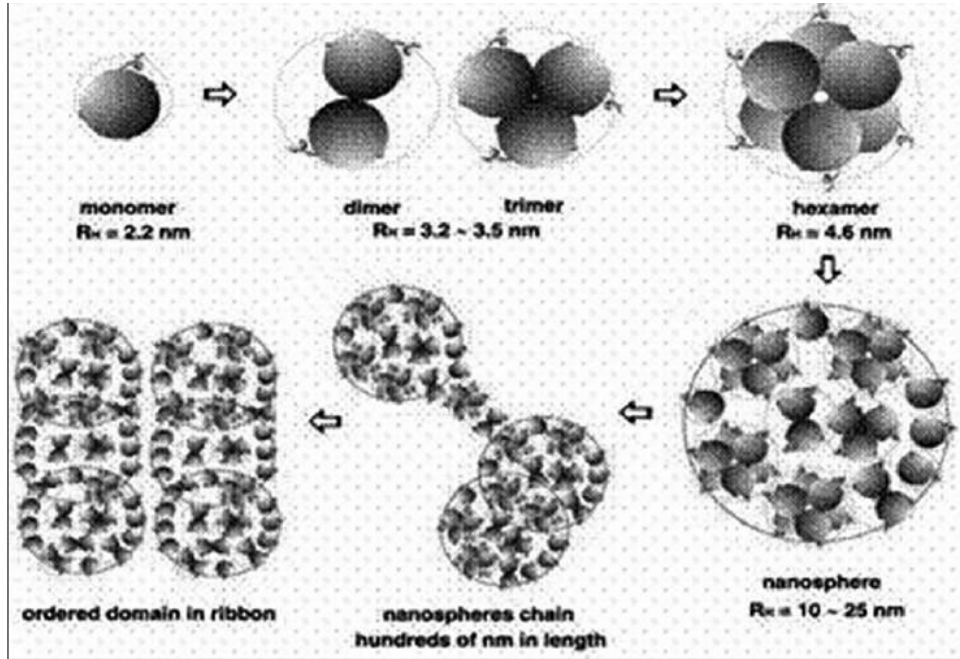
تلعب بروتينات القالب المينائي دوراً حيوياً في تنظيم التمدن وتنظيم البلورات أثناء تطور الميناء، ويُعد بروتين الأميلوجينين البروتين الأكثر وفرة وبشكل ٩٠% من القالب خارج الخلوي العضوي، ويُعد بروتين الأميلوجينين ضرورياً لتشكيل الميناء السليم، ويعتقد أنه يلعب الدور الرئيسي في تنظيم عملية التتوي nucleation، والنمو، والتمايز الشكلي morphology، وتنظيم مراحل تمدن الميناء المتطور (Le Norcy et al., 2011).

٩-٦-١ التجميع الذاتي للأميلوجينين : Self-assembly of amelogenin:

توجد أدلة متزايدة بأن الأميلوجينين يقوم بالتجميع الذاتي إلى هياكل رباعية تحت الشروط المختلفة في المختبر، هذه الهياكل تكون جسيمات كروية نانوية nanospheres ، سلاسل نانوية nanochains ، أوليغوميرات oligomers ، أشربة مجهرية nanoribbons (Martinez-Avila et al., 2012).

تعتبر شوارد الكالسيوم والفوسفات ضرورية لتشكيل شرائط ribbons الأميلوجينين، ويقترح بأن هذه الشوارد مطلوبة للطّي folding الصحيح لهذا البروتين، وهذه البروتينات تظهر لتحقيق استقرار ديمر Dimer البروتين وتشكيل البنية الأساسية للتجمع إلى شرائط النانو (nanoribbons) (Sanii et al., 2014).

أظهرت الدراسات السابقة بأن الطول الكامل لجزيئات الأميلوجينين المستخرج recombinant تستطيع بشكل عفوي أن تقوم بالتجميع الذاتي إلى جسيمات كروية نانوية وهي (nanospheres) في درجة الحموضة $\text{PH}=8$ (Wen et al., 2001).

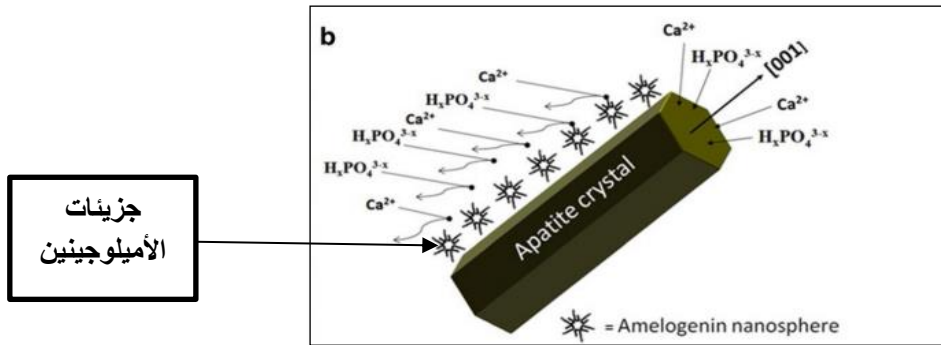


الشكل (٧-١) يوضح تشكيل الجسيمات الكروية nanospheres التي تحتوي على ١٠٠ جزيء من الأميلوجينين وبقطر يعادل ٢٠ نانومتر (Bansal et al., 2012).

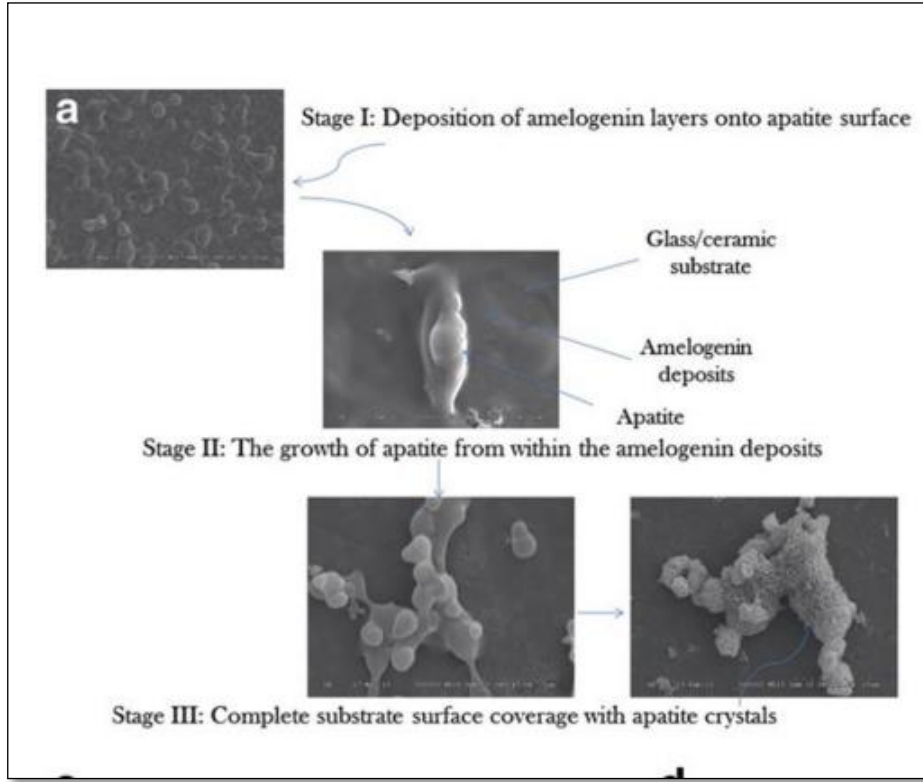
تشمل الآليات الجزيئية المقترحة للأميلوجينين المنظم لتمعدن الأباتيت في تشكيل الميناء نظريتين مختلفتين: النظرية التقليدية تفترض بأن الأميلوجينين يتوضع على جوانب البلورات، ويمنع ترسيب الأيونات على هذه الجوانب فيسمح للبلورات بالنمو في الطول أثناء مرحلة الإفراز، وأثناء مرحلة النضج يتحلل بروتين الأميلوجينين وينمو في السماكة (Iijima and Moradian-Oldak, 2004).

أما النظرية غير تقليدية، فتشير إلى أن هناك عملية تبلور يتفاعل ضمنها الأميلوجينين مع فوسفات الكالسيوم غير بلورية الشكل. واستقرار وتجميع مجموعات ما قبل التتوي

(pre-nucleation) الوسيطة تتحول من ناحية أخرى إلى بلورات الأباتيت المنظمة. أي أن الأميلوجينين يستقر بشكل عابر على فوسفات الكالسيوم الغير متبلورة amorphous calcium phosphate (ACP) وينظم تشكيل صفائح متوازية من البلورات المعدنية. (Yang et al., 2010). ولشرح الطريقة التقليدية وُضع النموذج السائد لنمو الميناء على افتراض بأن الجسيمات الكروية لبروتين الأميلوجينين قطرها تقريباً ٢٠ نانو متر وهذه البلورات تحاذي وجوه بلورات الهيدروكسي الأباتيت، وتقوم بعرقلة التصاق وحدات النمو الشاردية ، Ca^{2+} , $\text{H}_x\text{PO}_4^{3-x}$ and OH^- على هذه الوجوه وتسمح للبلورة في النمو والذي يحدث فقط في الإتجاه (001) المحوري كما في الشكل (٨-١) (Uskokovic, 2015).



الشكل (٨-١) يوضح توضع الأميلوجينين على بلورات هيدروكسي الأباتيت



الشكل (٩-١) يوضح مراحل نمو بلورات هيدروكسي الأباتيت

يمكن تقسيم عملية نمو البلورات بكاملها إلى ثلاث مراحل: المرحلة الأولى: الجسيمات الكروية للأميلوجينين من المحلول تتكثف على ركائز نمو البلورة، وتشكل جزراً مصغرة عليها، وفي المرحلة الثانية: لوحظ بأن النمو يحدث حصراً من داخل رواسب الأميلوجينين، هذا الأثر سيكون من المستحيل تقريباً لو لم يكن للأميلوجينين القدرة على تعزيز تنوي الأباتيت ونموها، أما المرحلة الثالثة: فيتم استبدال رواسب الأميلوجينين في الكامل من قبل بلورات الأباتيت الممتدة كما في الشكل (٩-١) (Robinson, 2006).

١-٦-١٠ دور الأميلوجينين أثناء التطور القحفي الوجهي :

لعدة عقود أُعتقد بأن الأميلوجينين هو بروتين مينائي خاص بالمنشأ البشري (Epithelial origin)، لكنه قد وجد بعد الولادة وبكميات صغيرة في الأنسجة الميزانشيمية المتكلسة،

وعدة أنسجة رخوة مثل الدماغ، حيث تم التعبير عن الأميلوجينين في العديد من أنسجة في المركب الوجهي -القحفي (cranio- facial complex) أثناء التطور والتمايز الجنيني عند الفئران، وقبل البدء بتشكيل الأسنان، مما يشير إلى أن هذا البروتين متعدد الوظائف (multifunctional protein). إذ يوجد عدد كبير نسبياً من نسخ اللصق البديل (alternatively spliced) للحمض النووي المرسال للأميلوجينين ترجمت لمتعددات الببتيد (Polypeptides)، وهذا يفسر تعبيرته في الأنسجة المختلفة (المتكلسة والرخوة)، وفي الأعضاء الجنينية المختلفة، وهذا يعكس الوظائف المختلفة للأميلوجينين، حيث أنّ له دوراً كجزيء إشارة (signaling roles) ودوراً بنوياً (structural roles) أثناء المراحل المبكرة من التطور القحفي الوجهي، إضافة إلى دوره المعروف أثناء تمعدن المينا، كما أن تعبيرية الأميلوجينين في الأنسجة المختلفة يكون ديناميكياً (فعالاً) (dynamic) ويعتمد ذلك على مراحل التطور الجنيني، حيث كانت تعبيرية الأميلوجينين واضحة بشكل رئيسي في الدماغ وخاصة الخلايا الدبقية ، الخلايا المشتقة من العرف العصبي (neural crest cells)، العين والأعصاب القحفية وغيرها (Gruenbaum-Cohen et al., 2009).

١١-٦-١ دور الأميلوجينين كجزيء إشارة :

بالإضافة للدور الأساسي لبروتين الأميلوجينين المعروف وهو توفير وسط ملائم ولزوم لتطور المينا المعدنية، والذي يعتمد على الطول الكامل للأميلوجينين فإن هناك وظائف أخرى لهذا البروتين، حيث أن هذا البروتين كما ذكر سابقاً يتعرض لعملية اللصق البديل، وينتج بروتينات صغيرة أو ببتيديات (peptides) لها وظائف تتعلق بنقل الإشارة (signal transduction functions) المتعلقة بالتفاعلات المتبادلة البشروية الميزانشيمية

(epithelial–mesenchymal signaling) أثناء تشكيل السن (Veis, 2003).

كما وُجد الأميلوجينين بين خلايا اللب السني لذا إقترح بأن الأميلوجينين يخترق اللب السني، ولربما يلعب دوراً في التفاعل بين خلايا مصورات الميناء وخلايا مصورات العاج (Fraser et al., 2016). حيث أن ببتيدات الأميلوجينين تنشأ من طبقة خلايا مصورات الميناء، وتنتشر أو تنتقل إلى طبقة طليعة العاج والعاج (Sawada and Nanci, 1995).

أكد العديد من الباحثين على أن الأميلوجينين يعدّ بمثابة جزيء إشارة خلال تشكيل الأنسجة المتمعدنة، وأثناء تشكيل الملاط في بقايا غمد هرتفغ البشري الجذري والرباط ما حول السني PDL ، وحُدّد بروتين الأميلوجينين والحمض النووي المرسال للبروتين في خلايا الأنسجة المتمعدنة مثل خلايا مصورات العظم وكاسرات العظم والخلايا الغضروفية وخلايا مصورات الملاط، وهذا يدل على أن هذا البروتين وببتيداته قد تعمل دور جزيئات إشارة Signaling Molecules (Janones et al., 2005)، (Hatakeyama et al., 2003).

١-٦-١٢ دور الأميلوجينين في تجديد الأنسجة ماحول السنية :

يهدف العلاج التجديدي للأنسجة ماحول السنية (Regenerative periodontal therapy) إلى إعادة تشكيل بنى حول سنية مفقودة كتشكيل ملاط أو رباط حول سني أو عظم سنخي. وقد أشارت النتائج أن مشتقات بروتينات القالب المينائي Enamel matrix derivatives (EMD) (Emodogain) الغنية بالأميلوجينين لها دور رئيسي في شفاء آفات النسيج ماحول السنية، حيث أشارت النتائج النسيجية والسريرية في الدراسات البشرية وعلى الحيوانات بأن العلاج ب EMD يعزز تجديد الأنسجة ماحول السنية (Aimetti et

2017). كما أظهرت الدراسات أنّ EMD له القدرة على زيادة تكاثر أنواع مختلفة من الخلايا تشمل مصورات الملاط، خلايا الرباط ما حول السني، ومصورات الليف في النسيج اللثوي وخلايا اللب السني (Miron et al., 2016). و EMD متوفر تجارياً باسم Emdogain وهو مزيج من بروتينات القالب المينائي والذي يتكون تقريباً من ٩٥ % من بروتين الأميلوجينين (Chung et al., 2012).

وقد أكد الباحثون في العديد من الدراسات على آلية النشاط الحيوي للأميلوجينين، حيث يعزز الأميلوجينين تكاثر و تمايز خلايا الرباط ماحول السني، وتكاثر والتصاق وهجرة العديد من الخلايا ماحول السنية وتمايزها إلى مصورات عظم، كما أن الأميلوجينين يشارك أيضاً في توليد عظم سنخي و / أو خلايا الرباط ماحول السني بآلية غير معروفة بشكل دقيق لغاية الآن (Cheng et al., 2012).

هذا وإنّ العديد من الدراسات أظهرت بأن (EMD) له دور في تحفيز وتشكيل الأوعية الدموية (Angiogenesis) من الخلايا الجذعية (Stem cells) الموجودة في منطقة الرباط ما حول السني، وينسب التأثير الأكبر على تحفيز تشكيل الأوعية الدموية إلى (TRAP)، حيث وجد بأنه يؤثر ويحفز الخلايا البطانية التي لها الدور الأكبر في تشكيل الأوعية الدموية، وبما أن الأوعية تقدم الدعم الغذائي والأكسجيني فإنّ TRAP يُعد مساهماً قوياً في النشاطات البيولوجية التي تساعد على تجديد الأنسجة ماحول السنية (Jonke et al., 2016).

وكما ذكرنا سابقاً فإنّ متعدد ببتيدات الأميلوجينين يملك إمكانية في تشكيل العظم (osteogenic) (Bansal et al., 2012). وقد دلت الدراسات على حيوانات التجربة بأنّ التي لا تمتلك الأميلوجينين قد أظهرت زيادة في تشكيل كاسرات العظم وامتصاص الجذور في الأنسجة ماحول السنيّة مع وجود عيوب في تشكل الملاط cementum defects.

وقد تم تحديد العديد من البروتينات الغشائية والتي تعرف بأنها مستقبلات على سطح الخلايا مرتبطة بعملية الادخال الخلوي cell endocytosis وأهمها LAMP-1 و LAMP-3 وقد تم التعبير عن الأميلوجينين داخل سيتوبلازما الخلايا عن طريق مرور مباشر للبروتين عبر حويصلات LAMP-1، وهذا المستقبل هو (LAMP-1) Lysosome-associated membrane protein-1 وهو موقع ربط لببتيد LRAP على سطح خلايا مصورات الملاط وخلايا الجراب السني (وهي خلايا تعتبر سلائف Progenitor لخلايا إكتوميزانثيمية حول سنيّة وتشمل مصورات الملاط ومصورات الليف للرباط ما حول السني ومصورات العظم السخي) وهي الخلايا المستهدفة لإشارات الأميلوجينين في المنطفة حول السنيّة (Zhang et al., 2010).

١-٦-١٣ الأميلوجينين في معالجة النخور :

النخر السني هو من الأمراض المزمنة الأكثر شيوعاً ولا يزال يشكل عبئاً صحياً وبائياً كبيراً على المستوى العالمي، خاصة في البلدان ذات الدخل المنخفض والمتوسط، وفي العقدين الماضيين تركزت أبحاث النخور على تطوير منهجيات لعلاج التسوس. وبشكل مختلف عن النهج العلاجي التقليدي، فإنّ الإجماع الحالي على أنه يجب الكشف وضبط النخور في المراحل المبكرة، ويميل طب الأسنان الحديث إلى الاهتمام بهذا النوع من الآفات النخرية

المبكرة و الأولية الغير علاجية من خلال إعادة التمعن في محاولة لمنع أو حتى عكس تقدم النخور، وقد أحرز تقدم كبير في هذا الصدد. ففي الأونة الأخيرة، تلقى نهج biomimetic البيوميमितك (علم التقليد الإحيائي) لإعادة التمعن المزيد من الإنتباه كعلاج واعد مضاد للنخر. والهدف الناشئ لعلاج النخور الحديث هو تطوير مادة حيوية بيولوجية جديدة لإعادة التمعن والتي قد تعزز إعادة تمعدن الميناء بطريقة حيوية جزيئية، قد تم استيحائه من خلال وظائف بروتينات القالب المينائي في تشكيل الأسنان، وقد تم تركيب ببتيدات متنوعة لإصلاح عيوب الميناء، وقد تم إثبات أنه بالإمكان الإستفادة من الأميلوجينين في طريقة ترسب البيوميमितك biomimetic المعدلة لإعادة تمعدن سطح الميناء المحفور لتشكيل طبقات متمعدنة التي تحتوي على بلورات هيدروكسي الأباتيت المفطورة المنظمة و التي تشبه الإبر. وقد تم الإثبات مخبرياً أن الببتيد المشتق من الأميلوجينين يعزز إعادة التمعن لنخور الميناء، ويقدم وعوداً بإنتاج مواد حيوية لإعادة التمعن في علاج نخور الميناء الأولية (Lv et al., 2015)، (Shafiei et al., 2015).

٧-١ الدراسات السابقة:

لم تكن الدراسات التي تحدّثت عن تعبيرية البروتين المينائي الأميلوجينين في الآفات سنيّة المنشأ كثيرة وواضحة، فالقليل من الدراسات أظهرت نماذج تعبيرية الأميلوجينين ضمن الأورام والأكياس سنيّة المنشأ، على الرغم من أن الأميلوجينين قد يكون مفيداً لتمييز المكونات البشرية سنيّة المنشأ ضمن تلك الآفات.

وفي دراسة قام بها Mori وزملاؤه للتحري عن الأميلوجينين في الأورام والأكياس سنيّة المنشأ باستخدام جسم مضاد للأميلوجينين وحيد النسيلة، شملت العينة على ٢٢ من ورم مصورات

الميناء وعلى مجموعة من الأورام والأكياس سنيّة المنشأ، وُجد بأن التعبيرية كانت إيجابية في ورم مصورات الميناء، وفي الأجسام النشوئية، والخلايا الشبحية والخلايا المحيطة بها في الأورام والأكياس سنيّة المنشأ المتكلسة، بينما أظهرت الأجسام المتكلسة داخل الأورام والأكياس تعبيرية سلبية تفترض الدراسة بأن اصطناع الأميلوجينين قد يتم في المواد متجانسة في الأورام والأكياس سنيّة المنشأ المتكلسة (Mori et al., 1991).

وفي دراسة Snead وزملاؤه على واسمات التعبير الجيني لورم مصورات الميناء، أستخدمت التقنيات البيولوجيا الجزيئية على أساس النمط الظاهري للحمض النووي المرسال للتأكد من أن ورم مصورات الميناء يُعبر عن الأميلوجينين، فوجد أن هناك تعبيرية للأميلوجينين في الخلايا البشرية في ورم مصورات الميناء، واقترح بأن الأميلوجينين هو عبارة عن إشارات مفيدة و مطلوبة لتمييز خلايا مصورات الميناء أثناء التطور الطبيعي والتكون الورمي Tumorigenesis من بشرة سنيّة المنشأ (Snead et al., 1992).

في إحدى الدراسات، قام Kumamoto وزملاؤه بالتحري عن تعبيرية الأميلوجينين والسيتوكيراتين CK19 في نماذج متعددة من الأورام سنيّة المنشأ البشرية، حيث شملت العينة على ٣٣ من ورم مصورات الميناء و ٥ من أورام مصورات الميناء الخبيثة بالإضافة إلى ٣ من الأورام البشرية المتكلسة سنيّة المنشأ (ورم بيندبورغ) وتبين أن هناك تعبيرية بدرجات مختلفة للأميلوجينين في هيولى الخلايا المحيطية الإسطوانية أو المكعبة ومعظم الخلايا المركزية في مختلف أنواع ورم مصورات الميناء حيث تبين بأن النمط الجرابي والصفيري أظهر تعبيرية متوسطة، أما النمط ذو خلايا الحبيبية والنمط التليفي فقد أظهر تعبيرية ضعيفة، أما ورم مصورات الميناء قاعدي الخلايا فقد أظهر الحد الأدنى من

التعبيرية، كما ظهر أن هناك تعبيرية للأميلوجينين في الخلايا الورمية والأجسام النشوانية داخل الخلوية في ورم بيندبورغ، كما أبدى ورم مصورات الميناء الخبيث تعبيرية بدرجات مختلفة، كما قام بالتحري عن الأميلوجينين ضمن الأورام بشروية غير سنيّة المنشأ كالسرطان شائك الخلايا والسرطان قاعدي الخلايا والسرطان المخاطي المشبه بالبشري mucoepidermoid carcinomas والسرطان الكيسي المشبه بالغدي adenoid cystic carcinomas وكانت التعبيرية سلبية للأميلوجينين ضمنها (Kumamoto et al., 2001).

وفي دراسة لـ Ren وزملاؤه قاموا بالتحري عن التعبير الجيني لبروتينات القلب المينائي EMPs ومن بينها بروتين الأميلوجينين والبروتينات المرتبطة بالتشكيل العظمي في عينات لورم مصورات الميناء والورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ وورم بيندبورغ، ووجدوا بأن هذه البروتينات قد تكون مفيدة لتحديد المنشأ الخلوي لهذه الأنواع من الأورام، وحددوا الوظيفة البيولوجية لـ EMPs في تقدم الورم وإمكانية التمدن (Ren et al., 2011).

وفي دراسة حديثة أجراها Anigol وزملاؤه لتحري تعبيرية الأميلوجينين ضمن مجموعة متنوعة من الآفات سنيّة المنشأ تضمنت ورم مصورات الميناء (النمط الصلب ، وحيد الكيس، ذو المكون الليفي) ، والورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ KCOT ، والورم الشائك سني المنشأ SOT، والورم المشبه بالغدي سني المنشأ AOT ، والورم السني، والورم الكيسي المتكلس سني المنشأ COT والسرطان ذو خلايا مصورات الميناء ، كما تضمنت العينات آفات كيسية كالكيس التاجي والجذري وتقريباً، معظم الآفات سنيّة المنشأ قد عبرت عن الأميلوجينين في المكونات البشرية ومن بينها ورم مصورات الميناء والكيس التاجي والورم

الكيسي المُتَقَرَّن سني المنشأ باستثناء السرطان ذو الخلايا المصورة للميناء Ameloblastic (carcinoma)، حيث سُهِدَت درجات مختلفة من الشدة والنمط بين الأكياس والأورام، وكانت كثافة التعبير قد ظهرت بشكل موحد وبارز في جميع الآفات سنيّة المنشأ التي تبدي تشكيل أنسجة صلبة (Anigol et al., 2014).

الباب الثاني

مواد البحث وطرائقه

MATERIALS AND METHODS

٢- ١ وصف العينة :

تمّ جمع العينة المؤلفة من ٣٠ خزعة محفوظة في قوالب شمع البارافين، وقد تم الحصول عليها من أرشيف قسم النسيج والتشريح المرضي في كلية طب الأسنان في جامعة دمشق.

وقد تألفت العينة المدروسة من ٣ مجموعات موزعة على الشكل التالي :

١٠ قوالب شمعية لورم مصورات الميناء.

١٠ قوالب شمعية للورم الكيسي المتقرن سني المنشأ.

١٠ قوالب شمعية للكيس التاجي.

أما العينة الشاهدة فقد تألفت من ١٠ عينات لبراعم الأسنان لجنين إنسان محفوظة في قوالب من شمع البارافين تم الحصول عليها من قسم النسيج والتشريح المرضي في كلية طب الأسنان جامعة دمشق وتم إدخال البراعم التي كانت في المرحلة الجرسية نظراً لتشابهها النسيجي مع العناصر الخلوية الموجودة في الآفات سنية المنشأ، وفي هذه المرحلة تكون خلايا مصورات الميناء وصلت لكامل تمايزها وجاهزة لإفراز بروتين الأميلوجينين في المراحل الجنينية.

وتوزعت عينة البحث بحيث يؤخذ من كل عينة شريحتين وفق الآتي:

١- الشريحة الأولى: تم تلوينها بالتلوين التقليدي الهيماتوكسيلين و الإيوزين للتأكد من صحة التشخيص.

٢- الشريحة الثانية: تم تلوينها بالضد بروتين الأميلوجينين.

وبعد تلوين جميع الحالات تقليدياً بالهيماتوكسيلين - إيوزين تم اختيار حالات معينة حيث تم إدخال عينات ورم مصورات الميناء النمط متعدد الأكياس (الجرابي - الضفيري) الأكثر شيوعاً، وإدخال الورم الكيسي المُتَقَرّن سني المنشأ (نظير التقرن فقط) وإدخال الأكياس الخالية من الإلتهاب نظراً لتأثير الإلتهاب على البنية النسيجية والجزيئية والمناعية للخلايا.

٢-٢ مواد البحث

- ١- الكحول بتراكيز مختلفة الشكل رقم (١-٢).
- ٢- الإكزيلول الشكل رقم (٢-٢).
- ٣- سلايدات زجاجية من شركة (Sail Brand) الصينية الشكل رقم (٢-٣).
- ٤- مواد التلوين بملونات الهيماتوكسيلين و الإيوزين التقليدية الشكل رقم (٢-٤).
- ٥- بلسم كندا
- ٦- سواتر زجاجية رقيقة من نوع Citoglas
- ٧- مواد الملونات المناعية :
 - A . سلايدات زجاجية عليها لاصق مناعي من شركة Marienfeld الألمانية.
 - B . ظروف المحلول الداريء من Dako الشكل رقم (٢-٥).
 - C . محلول إسترجاع المستضد Antigen retrieval الشكل رقم (٢-٦).

D . كيت التلوين المناعي المفرد من شركة Bio SB الأمريكية الشكل (٧-٢) ويضم:

Chromogen solution-DAB BUFFER-HRP LABEL-PEROXIDASE

E . ضد متعدد النسيلة Rabbit polyclonal to AMELX مركز لل AMELx من شركة

Abcam ويتوضع هذا الواسم في السيوبلاسما (الهيولى) الشكل رقم (٨-٢).

F - قلم التحديد من شركة Dako الشكل رقم (٩-٢).

٢- ٣ الأجهزة المستخدمة :

١-المبشرة النسيجية (Microtome) لقطع الأنسجة بثخانة رقيقة ٤ ميكرونات من نوع

Leica الألمانية الشكل رقم (١٠-٢).

٢- المحم المائي للحصول على الماء الفاتر بدرجة ٤٠ - ٤٥ الشكل رقم (١١-٢).

٣- السخان من نوع (Leica - ألمانيا) الشكل رقم (١٢-٢).

٤- المايكرويف الشكل رقم (١٣-٢).

٥- الممصات Pipette الشكل رقم (١٤-٢).

٦- المجهر الضوئي نوع cx21 - Nikon Olympus - اليابان الشكل رقم (١٥-٢).



الشكل (٢-٢) الإيكنيزيلول



الشكل (١-٢) الكحول



الشكل (٤-٢) الهيماتوكسيلين والإيوزين



الشكل (٣-٢) الشرائح الزجاجية والسواتر



الشكل (٦-٢) محلول إسترجاع المستضد Dako



الشكل (٥-٢) ظروف المحلول الداريء من Dako



الشكل (٨-٢) ضد متعدد النسائل لل AMEL



الشكل (٧-٢) الكيت المناعي المفرد من Bio-SB

الشكل (٩-٢) قلم التحديد



الشكل (١١-٢) المحمّ المائي



الشكل (١٠-٢) المبشرة النسيجية



الشكل (١٣-٢) المايكرويف



الشكل (١٢-٢) السخان



الشكل (١٥-٢) المجهر الضوئي



الشكل (١٤-٢) الممص

٢-٤ طريقة العمل :

٢-٤-١ طريقة التلوين التقليدي بالهيماتوكسيلين والإيوزين :

١- تُثبت المكعب الشمعي على المبشرة النسيجية Microtome وتحدد سماكة القطع ب ٤ ميكرون.

٢- تُرشت المقاطع البارافينية في محم مائي يحتوي على ماء مقطر بدرجة حرارة ٤٠-٤٥ درجة مئوية لإزالة التجاعيد وتحميلها على الشرائح الزجاجية.

٣- وُضعت الشرائح الزجاجية في فرن التجفيف بدرجة حرارة ٤٥-٥٠ درجة مئوية لتجفيفها من الماء لمدة ١٠ دقائق.

٤- ثم مُررت الشرائح في ٣ حمامات من الكزيلول لمدة ١٥ دقيقة لكل حمام بهدف إزالة شمع البارافين.

٥- مُررت بعد ذلك الشرائح في الكحول المطلق، ثم كحول بنسبة ٩٥% يليها ٧٠% ثم ٥٠% لمدة ١٥ دقيقة لكل حمام لتتم إزالة الكزيلول.

٦- غُسلت الشرائح بالماء ووضعت في الهيماتوكسيلين لمدة دقيقتين ، ثم غُسلت بالماء عدة مرات لإزالة الهيماتوكسيلين الزائد.

٧- وُضعت بعد ذلك في الإيوزين لمدة تتراوح بين دقيقة ونصف وغُسلت بالماء لإزالة الإيوزين الزائد.

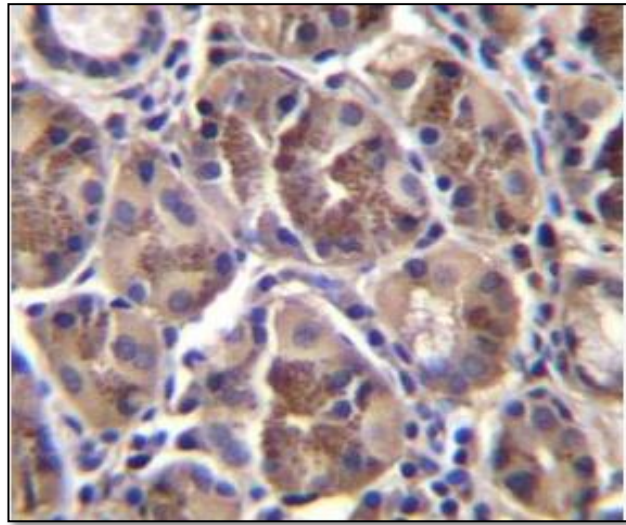
٨- وُضعت في حمام كحول ٧٠% لمدة دقيقة ثم ٩٥% لمدة دقيقة، ثم في حمامين من الكحول المطلق لمدة دقيقة واحدة لكل حمام ليتم طرد الماء من النسيج.

٩ - جُففت العينة وُضعت في الكزيلول لمرتين متتاليتين لمدة ٣ دقائق في كل مرة لطرد الكحول.

١٠ - سُتريت السلايدات الزجاجية بالسواتر باستخدام بلسم كندا لتصبح جاهزة للفحص النسيجي.

٢-٤-٢ طريقة التلوين المناعي :

تمّ اختبار فعالية الملون من خلال تمديد الملون ١٠/١ كل قطرة من ضد الAMEL مقابل ١٠ قطرات من السائل الدارىء PBS بدرجة حموضة PH=6 قبل البدء وذلك حسب البروتوكول المناعي الذي أوصت به الشركة المصنعة، وتم اختبار فعالية الملون على خلايا البشرة المخاطية المبطنة للمعدة (Positive control).



الشكل (١٦-٢) يوضح اختبار فعالية الملون

البروتوكول المناعي المتبع:

١- إزالة شمع البارافين :

- حُضرت المقاطع النسيجية بالمبشرة بثخانة ٤ ميكرونات.

- وُضعت المقاطع النسيجية على شرائح الزجاجية ذات اللاصق المناعي.

- وُضعت الشرائح في فرن التجفيف مدة ١٢٠ دقيقة بدرجة ٥٠ درجة مئوية.

- مُررت الشرائح في سلسلة من الحمامات تتضمن حمامين من الكزيلول النقي لمدة (٣- ٥

دقائق) لكل منهما، ليتبع بثلاثة حمامات من الكحول تبدأ بالكحول المطلق ثم الكحول ٧٥%

، ومن ثم ٥٠% مدة خمس دقائق لكل حمام، وبعدها تغسل الشرائح بالماء الجاري بلطف.

٢- عملية إسترجاع المستضد:

- تم تحضير محلول إسترجاع المستضد حسب تعليمات الشركة المصنعة، وذلك بتمديده

بالماء المقطر بنسبة (١/١٠٠) ، وقد تم هذا التحضير لكل من Citrate / EDTA حيث

وضعت الشرائح ضمن وعاء يحوي كمية كافية من محلول استرجاع المستضد وغمرت

الشرائح فيه بشكل كامل، وضع الوعاء في المايكرووف لمدة ١٥ دقيقة (حوالي ١٠ دقائق

بعد الغليان).

- تُركت الشرائح الزجاجية لتبرد بدرجة حرارة الغرفة من ١٠- ٢٠ دقيقة.

- ثم وُضعت الشرائح في حوض يحوي السائل الدارى PBS لمدة ٥ دقائق، ثم نقلت إلى حوض آخر يحوي السائل الدارى أيضاً PBS لمدة ٣ دقائق مع الانتباه لعدم جفاف المقاطع النسيجية خلال مراحل التلوين كافة.

٣- تطبيق Peroxidase Blocker

- أزيل المحلول الدارى PBS الزائد ومُسح حول العينة بلطف، واستُخدم قلم التحديد من DAKO لتحديد حول المقاطع النسيجية بهدف منع تسرب المواد المطبقة خارج النسيج الشكل رقم (٢-١٧). وطُبقت المادة بواسطة الممص (Eppendorf) بحيث غطت كامل العينة وتركت ٥ دقائق الشكل رقم (٢-١٨).

- غُسلت الشرائح بعدها بالمحلول الدارى PBS مع تجنب الغسيل المباشر للعينة النسيجية، ثم وضعت في حمام جديد من السائل الدارى لمدة ٥ دقائق الشكل رقم (٢-١٩)

٤- تطبيق الضد الأولي Primary antibody

- حُضرت الملونات ومُدّدت بالسائل الدارى PBS حسب التراكيز المذكورة سابقاً، وبعدها أزيل المحلول الدارى الزائد مع المسح حول العينة بلطف، ثم طبق الضد الأولي للأميلوجينين بواسطة الممص بحيث تغطى كامل العينة، وكان زمن الحضانة ٤٥ دقيقة الشكل رقم (٢٠-٢).

- غُسلت بعدها الشرائح بالمحلول الدارى ووضعت في حوض من السائل الدارى لمدة ٥ دقائق.

٥- تطبيق Secondary Biotinylated و HRP Label لمدة عشر دقائق لكل منهما

الشكل رقم (٢١-٢).

٦- تطبيق DAB :

حُضِر حسب توصيات الشركة المنتجة (١ مل من Substrate buffer مقابل ٢٠ ميكروناً من DAB + Chromogen) مع المزج جيداً ضمن عبوة مناسبة الشكل رقم (٢-٢٢)، كذلك أُزيل المحلول الداريء من حول العينة وطبقت المادة بلطف بواسطة الممص بحيث تغطي ١ مل العينة وتركت لمدة ٥ دقائق، ثم غسلت الشرائح بلطف الشكل رقم (٢-٢٣).

٧- ثم طُبِق الهيماتوكسيلين على العينات لمدة تقارب ٣٠ ثانية ثم غسلت بالماء الشكل رقم (٢٤-٢).

٨- بعدها مررت الشرائح بحمامات متتالية من الكحول ثم الكحول المطلق (كل حمام لمدة ٣ دقائق) ثم حمامين من الكزيلول (٣-٥ دقائق)، وفي النهاية ستريت العينات ببلم كندا وأصبحت جاهزة للدراسة المناعية.



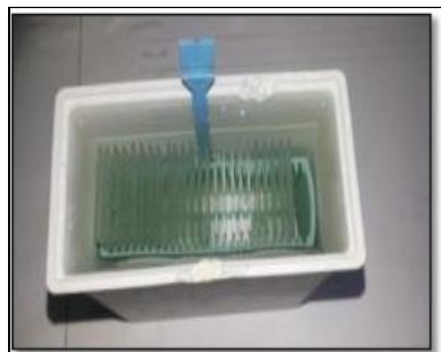
الشكل (٢-١٨) تطبيق البيروكسيداز



الشكل (٢-١٧) تحديد العينة بقلم Dako



الشكل (٢-٢٠) تطبيق الضد الأولي



الشكل (٢-١٩) غمر السلايدات في السائل الدارء



الشكل (٢-٢٢) تحضير الكروموجين



الشكل (٢-٢١) تطبيق HRP-Label على النسيج



الشكل (٢-٢٤) تطبيق الهيماتوكسيلين على النسيج



الشكل (٢-٢٣) تطبيق الكروموجين

٢-٤-٣ تقييم العينة الشاهدة :

فحصت العينة الشاهدة بعد تلوينها بالهيماتوكسيلين والإيوزين تحت المجهر الضوئي للتأكد من صحة التشخيص، كما تم تقييم التلوين بملون الأميلوجينين في كامل عضو الميناء.

٢-٤-٤ تقييم العينة المدروسة :

فحصت العينات المدروسة بعد تلوينها بالهيماتوكسيلين والإيوزين تحت المجهر الضوئي للتأكد من صحة التشخيص، كما تم تقييم التلوين بالأميلوجينين على إعتبار أن الأميلوجينين موجود في هيولى خلايا البشرة بلون بني وبالتالي تعبيرية إيجابية وعد الملون سلبياً في حال غياب اللون البني في هيولى خلايا البشرة المكونة للآفات وبالتالي تكون التعبيرية سلبية.

(طريقة العد وتفسير البيانات):

تم تفسير البيانات تبعاً لمعايير العد في الأورام، والتي تجمع بين امتداد اللون وشدة معاً (Anigol et al., 2014)، وتم تقييم التلون السيتوبلازمي في الخلايا البشرية الطبيعية في (البراعم الأسنان) و الخلايا الورمية البشرية في كل من (ورم مصورات الميناء - الورم الكيسي المتقرن سني المنشأ - الكيس التاجي) إذ تم تقييم نسبة الخلايا المتلونة مع شدة التلوين مجتمعة.

تم احتساب النسبة المئوية للخلايا المتلونة من مجموع خلايا العينة كاملةً عند التكبير العالي

.٤٠٠

تم حساب شدة التلون فقيمت إلى أربع درجات إذ أعطيت درجة ٠ (خلايا سلبية التلون) ،
درجة ١ (خلايا ضعيفة التلون) ، درجة ٢ (خلايا متوسطة التلون) و درجة ٣ (خلايا
شديدة التلون) .

درجة التلون بالملون المدروس	القيمة الموافقة المعطاة
تلون سلبي (لا يوجد تلون)	٠
تلون ضعيف الشدة	١
تلون متوسط الشدة	٢
تلون شديد	٣

تم حساب معدّل تلون الخلايا لكل محضر من المحاضرات النسيجية المدروسة في عينة
البحث وفقاً للمعادلة التالية:

$$\text{معدّل تلون الخلايا لكل محضر} = (\text{عدد الخلايا المتلوّنة (٤ ساحات)} \div \text{عدد الخلايا الكلي (٤ ساحات)}) \times 100 \text{ للمحضر نفسه}$$

تم حساب مقدار تعبيرية الأملوجينين لكل محضر من المحاضرات النسيجية المدروسة في
عينة البحث وفقاً للمعادلة التالية:

$$\text{مقدار تعبيرية الأملوجينين لكل محضر} = (\text{عدد الخلايا المتلوّنة (٤ ساحات)} \div \text{عدد الخلايا الكلي (٤ ساحات)}) \times \text{القيمة المعطاة لدرجة تلون الخلايا للمحضر نفسه}$$

٢-٤-٦ الاختبارات الإحصائية المستخدمة :

تم استخدام برنامج SPSS v.19 لتحليل البيانات التي حصلنا عليها إحصائياً، بالإضافة
إلى برنامج (MS Excel 2013) لإنجاز الرسوم البيانية.

الباب الثالث

النتائج والدراسة الإحصائية

RESULT AND STATISTICAL STUDY

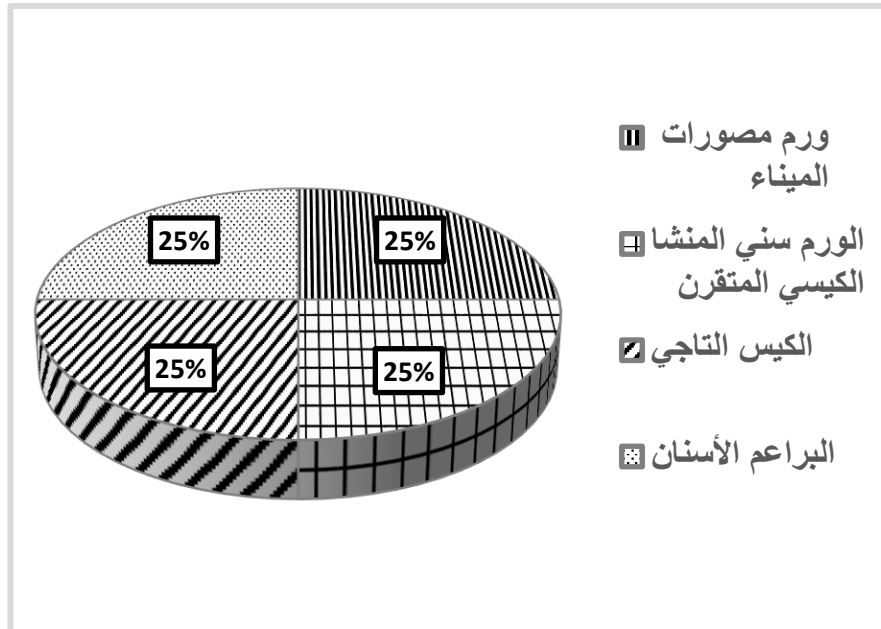
١-٣ وصف العينة :

تألفت عينة البحث من ٤٠ خزعة نسيجية مقسمة إلى أربع مجموعات كما هو موضح في

الجدول رقم (١-٣)، والمخطط رقم (١-٣).

المجموعة	العدد	النسبة المئوية
البراعم الأسنان	١٠	٢٥%
ورم مصورات الميناء	١٠	٢٥%
الورم سني المنشأ الكيسي المتقَرَن	١٠	٢٥%
الكيس التاجي	١٠	٢٥%

الجدول (١-٣) نسب المجموعات ضمن العينة



المخطط (١-٣) توزيع العينة ضمن المجموعات

٢-٣ المجموعة الأولى: (البراعم السنية) قيمة تعبيرية الأملوجينين في العينة الشاهدة
توزعت التعبيرية الايجابية في عضو الميناء للبرعم السني في المرحلة الجرسية الشكل رقم
(١-٣) في كل من :

خلايا البشرة المينائية الداخلية، خلايا الطبقة الانتقالية، خلايا النسيج النجمي الشبكي
الشكلين رقم (٢-٣ ، ٣-٣) خلايا البشرة المينائية الخارجية الشكل رقم (٤-٣).

وبما أن خلايا البشرة المينائية الداخلية تعتبر الخلايا الرئيسية المفزة لهذا البروتين نعتبر
كثافة التلوين ضمنها هي الكثافة الطبيعية المدروسة، وقد تبين أن خلايا عضو الميناء
جميعها تقريباً تبدي إيجابية للتلوين. حيث كانت قيمة التعبيرية شديدة إذ أبدى ٤ من البراعم
إيجابية كاملة، في حين تفاوتت قيمة التعبيرية في بقية البراعم ولكنها بقيت قريبة من القيمة
العليا. وقد بلغ المتوسط الحسابي لقيمة التعبيرية ٢,٨٣ الجدول رقم (٢-٣)

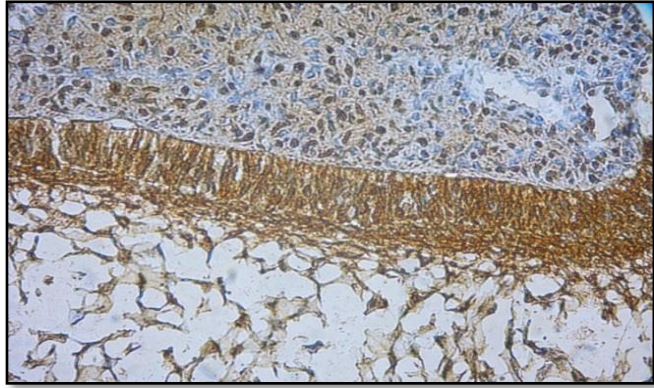
رقم الحالة	نوعها	شدة التلوين	نسبة الخلايا المتلونة	قيمة التعبيرية
١	البرعم السني	٣	%١٠٠	٣
٢	البرعم السني	٣	%٩٠	٢,٧
٣	البرعم السني	٣	%٩٨	٢,٩٤
٤	البرعم السني	٣	%٩٠	٢,٧
٥	البرعم السني	٣	%١٠٠	٣
٦	البرعم السني	٣	%٩٥	٢,٨٥
٧	البرعم السني	٣	%١٠٠	٣
٨	البرعم السني	٣	%٨٥	٢,٥٥
٩	البرعم السني	٣	%١٠٠	٣
١٠	البرعم السني	٣	%٨٥	٢,٥٥

الجدول (٢-٣) قيمة تعبيرية الأملوجينين (AMEL) في البراعم الأسنان

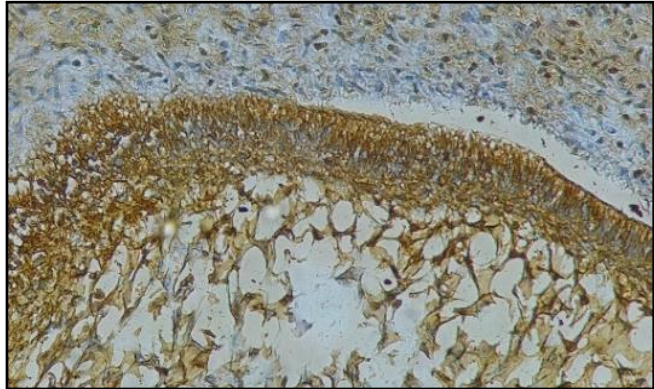
الشكل (٣-١): تعبيرية شديدة لواسم
الأميلوجينين في عضو الميناء في
المرحلة الجرسية المبكرة × ٤٠٠ .



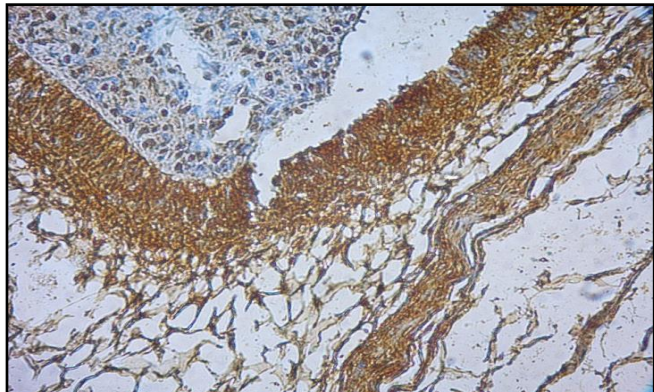
الشكل (٣-٢): تعبيرية واسم
الأميلوجينين في عضو الميناء توضح
التعبيرية الشديدة في خلايا البشرة
المينائية الداخلية والطبقة الانتقالية
والنسيج النجمي الشبكي × ٤٠٠ .



الشكل (٣-٣): تعبيرية واسم
الأميلوجينين في عضو الميناء توضح
التعبيرية الشديدة في خلايا البشرة
المينائية الداخلية والطبقة الانتقالية
والنسيج النجمي الشبكي × ٤٠٠ .



الشكل (٣-٤): تعبيرية واسم
الأميلوجينين في عضو الميناء توضح
التعبيرية الشديدة في خلايا البشرة
المينائية الداخلية والطبقة الانتقالية
والنسيج النجمي الشبكي وخلايا عضو
الميناء الخارجية × ٤٠٠



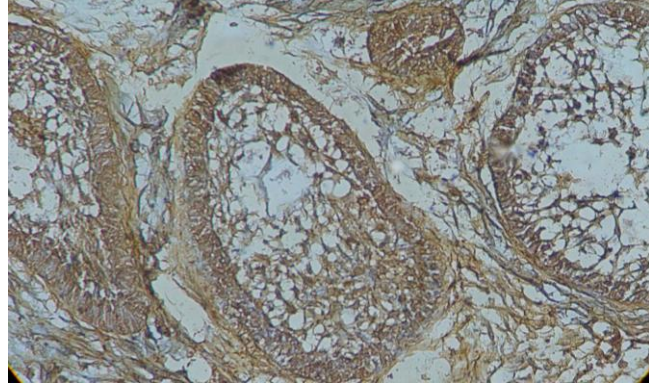
٣-٣ المجموعة الثانية : قيمة تعبيرية الأملوجينين في ورم مصورات الميناء:

انقسمت عينات ورم مصورات الميناء إلى ٦ خزعات من النمط الجرابي و ٤ خزعات من النمط الضفيري: أظهر التلوين بالأميلوجينين لعينة ورم مصورات الميناء الجرابي والضيقي إيجابية ولم يلاحظ وجود سلبية للتعبيرية في أي من المقاطع النسيجية، وتوزعت إيجابية التلوين في هيولى الخلايا المشبهة بمصورات الميناء والنسيج المشبه بالنجمي الشبكي، حيث تبين أن قيمة التعبيرية متباينة تجاه الملون وتتراوح بين المتوسطة الشكل رقم (٣-٥)، (٣-٦) والضعيفة الشكل (٣-٧) ، (٣-٨) وقد بلغ المتوسط الحسابي لقيمة التعبيرية ١,٤٠ و أعلى قيمة هي ٢.

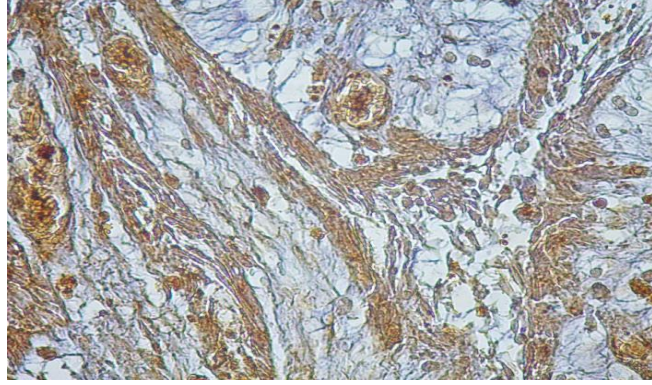
رقم الحالة	نوعها	شدة التلوين	نسبة الخلايا المتلونة	قيمة التعبيرية
١	ورم مصورات الميناء (النمط الجرابي)	٢	%٩٥	١,٩
٢	ورم مصورات الميناء (النمط الجرابي)	٢	%٧٥	١,٥
٣	ورم مصورات الميناء (النمط الجرابي)	٢	%١٠٠	٢
٤	ورم مصورات الميناء (النمط الجرابي)	٢	%٨٠	١,٦
٥	ورم مصورات الميناء (النمط الجرابي)	١	%٧٠	٠,٧
٦	ورم مصورات الميناء (النمط الجرابي)	١	%٤٠	٠,٤
٧	ورم مصورات الميناء (النمط الضفيري)	٢	%٧٥	١,٥
٨	ورم مصورات الميناء (النمط الضفيري)	٢	%١٠٠	٢
٩	ورم مصورات الميناء (النمط الضفيري)	٢	%٩٠	١,٨
١٠	ورم مصورات الميناء (النمط الضفيري)	١	%٦٠	٠,٦

الجدول (٣-٣) قيمة تعبيرية الأملوجينين (AMEL) في ورم مصورات الميناء.

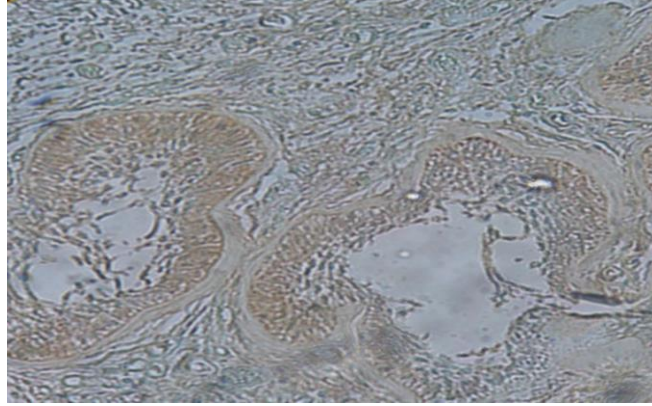
الشكل (٣-٥) : تعبيرية متوسطة في الخلايا المشبه بمصورات الميناء والخلايا المشبهة للنسيج النجمي الشبكي لواسم الأميلوجينين في ورم مصورات الميناء، النمط الجرابي × ٤٠٠.



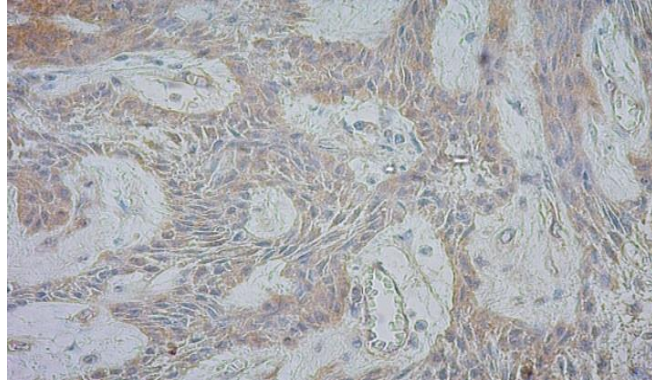
الشكل (٣-٦): تعبيرية متوسطة في الخلايا المشبه بمصورات الميناء وفي الخلايا المشبهة بالنسيج النجمي الشبكي لواسم الأميلوجينين في ورم مصورات الميناء، النمط الضفيري × ٤٠٠.



الشكل (٣-٧): تعبيرية الضعيفة في الخلايا المشبه بمصورات الميناء والخلايا المشبهة بالنسيج النجمي الشبكي لواسم الأميلوجينين في ورم مصورات الميناء، النمط الجرابي × ٤٠٠.



الشكل (٣-٨): تعبيرية الضعيفة في الخلايا المشبه بمصورات الميناء وفي الخلايا المشبهة بالنسيج النجمي الشبكي لواسم الأميلوجينين في ورم مصورات الميناء، النمط الضفيري × ٤٠٠.



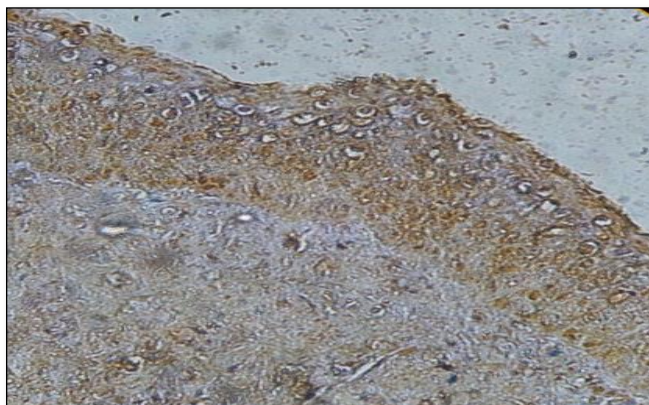
٣-٤ المجموعة الثالثة : قيمة تعبيرية الأملوجينين في الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ :

كانت جميع عينات الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ إيجابية لل AMEL ولم يلاحظ وجود سلبية في التعبيرية في أي من المقاطع النسيجية وتوزعت التعبيرية ضمن البشرة المبطنة للورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ ، حيث تبين أن قيمة التعبيرية متباينة تجاه الملون وتتراوح بين المتوسطة الشكل رقم (٣-٩) والضعيفة (٣-١٠) (٣-١١)، وقد بلغ المتوسط الحسابي لقيمة التعبيرية ١,٥٦ و أعلى قيمة هي ٢.

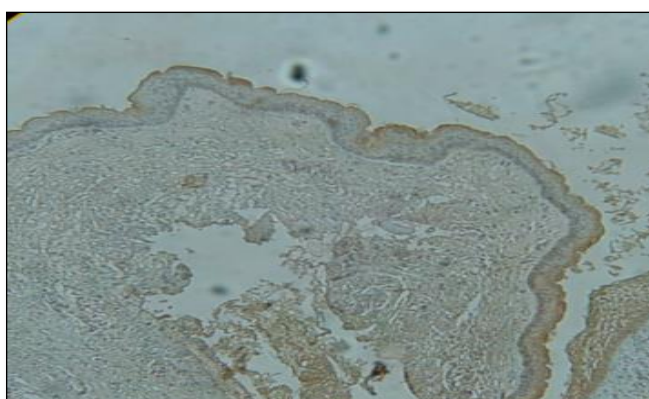
رقم الحالة	نوعها	شدة التلوين	نسبة الخلايا المتلونة	قيمة التعبيرية
١	الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ	٢	%٩٠	١,٨
٢	الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ	٢	%١٠٠	٢
٣	الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ	٢	%٨٥	١,٧
٤	الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ	٢	% ١٠٠	٢
٥	الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ	٢	%٩٥	١,٩
٦	الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ	٢	%٧٥	١,٥
٧	الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ	٢	%٩٠	١,٨
٨	الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ	٢	%٨٥	١,٧
٩	الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ	١	%٧٠	٠,٧
١٠	الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ	١	%٥٠	٠,٥

الجدول (٣-٤) نتائج قيمة تعبيرية الأملوجينين في الورم سني المنشأ الكيسي المُتَقَرَن

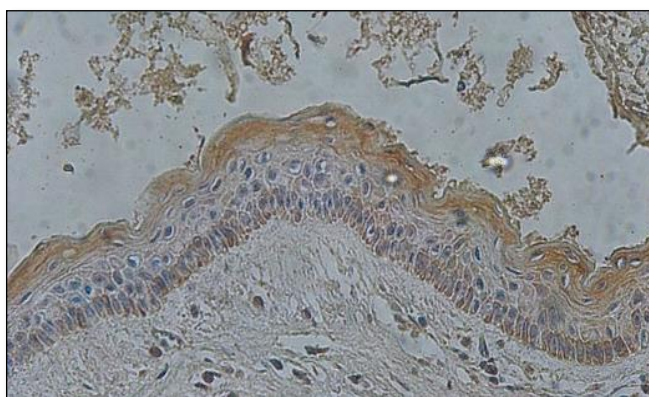
الشكل (٩-٣): تعبيرية متوسطة
لواسم الأملوجينين في بشرة الورم
سني المنشأ الكيسي المتقرن
٤٠٠×.



الشكل (١٠-٣): تعبيرية ضعيفة
لواسم الأملوجينين في بشرة الورم
الكيسي المتقرن سني المنشأ
١٠٠×.



الشكل (١١-٣): تعبيرية ضعيفة
لواسم الأملوجينين في بشرة الورم
الكيسي المتقرن سني المنشأ
٤٠٠×.



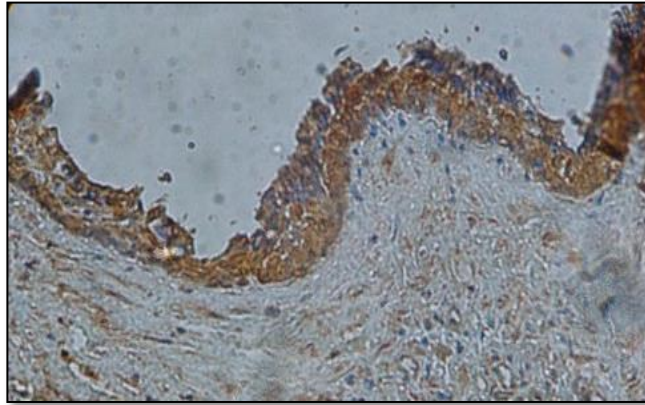
٣-٥ المجموعة الرابعة : قيمة تعبيرية الأميلوجينين في الكيس التاجي :

كانت جميع عينات الكيس التاجي إيجابية لل AMEL ولم يلاحظ وجود سلبية في التعبيرية في أي من مقاطع النسيجية وتوزعت التعبيرية ضمن البشرة المبطنة للكيس التاجي، وكانت قيمة تعبيرية الأميلوجينين مرتفعة نسبياً؛ إذ أبدى كيساً واحداً قيمة تعبيرية كاملة، في حين تقاربت نتائج قيمة تعبيرية الأكياس الباقية من القيمة الشديدة الشكل رقم (٣-١٢)، (٣-١٣)، (٣-١٤)، وقد بلغ متوسط قيمة التعبيرية في الأكياس التاجية ٢,٤٠ وأعلى قيمة هي ٣ .

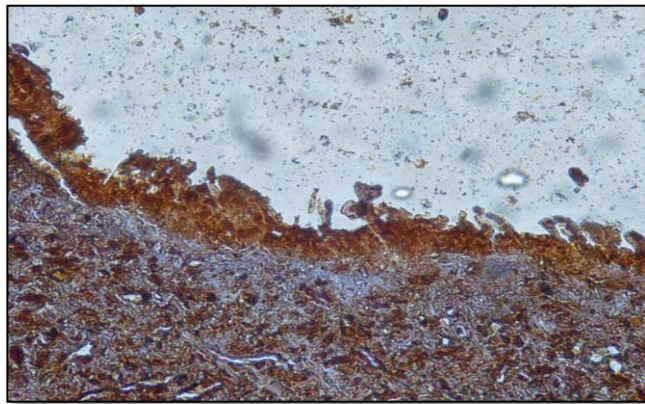
رقم الحالة	نوعها	شدة التلوين	نسبة الخلايا المتلونة	قيمة التعبيرية
١	الكيس التاجي	٣	%١٠٠	٣
٢	الكيس التاجي	٣	%٨٥	٢,٥٥
٣	الكيس التاجي	٣	%٩٠	٢,٧
٤	الكيس التاجي	٣	%٩٥	٢,٨٥
٥	الكيس التاجي	٣	%٨٥	٢,٥٥
٦	الكيس التاجي	٣	%٩٠	٢,٧
٧	الكيس التاجي	٣	%٩٥	٢,٨٥
٨	الكيس التاجي	٢	%٩٠	١,٨
٩	الكيس التاجي	٢	%٧٥	١,٥
١٠	الكيس التاجي	٢	%٧٥	١,٥

الجدول (٣-٥) نتائج قيمة تعبيرية الأميلوجينين في الكيس التاجي

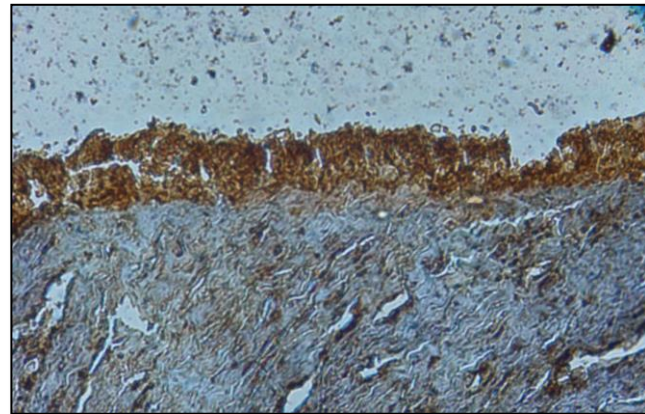
الشكل (١٢-٣): تعبيرية متوسطة
لواسم الأميلوجينين في بشرة الكيس
التاجي × ٤٠٠.



الشكل (١٣-٣): تعبيرية شديدة
لواسم الأميلوجينين في بشرة الكيس
التاجي × ٤٠٠.



الشكل (١٤-٣): تعبيرية شديدة
لواسم الأميلوجينين في بشرة الكيس
التاجي × ٤٠٠.



٣-٦: الدراسة الإحصائية :

الإختبارات الإحصائية :

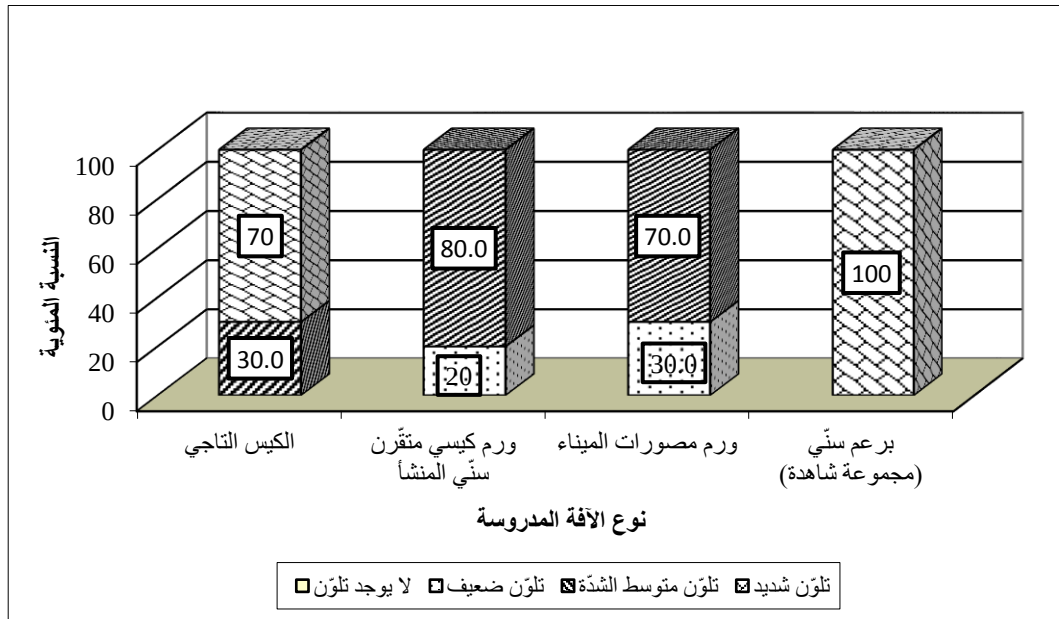
أولاً : دراسة شدة (درجة) تلون الخلايا :

نتائج تحديد درجة تلون الخلايا في عينة البحث وفقاً لنوع الآفة المدروسة، يوضحه الجدول

(٣-٦) و المخطط (٣-٢).

النسبة المئوية					عدد الخزعات النسيجية					نوع العينة المدروسة
المجموع	تلون شديد	تلون متوسط الشدة	تلون ضعيف	لا يوجد تلون	المجموع	تلون شديد	تلون متوسط الشدة	تلون ضعيف	لا يوجد تلون	
100	100	0	0	0	10	10	0	0	0	البرعم السنّي (مجموعة شاهدة)
100	0	70.0	30.0	0	10	0	7	3	0	الورم مصورات ميناء
100	0	80.0	20.0	0	10	0	8	2	0	الورم الكيسي المتقرّن سنّي المنشأ
100	70.0	30.0	0	0	10	7	3	0	0	الكيس تاجي

الجدول (٣-٦) يبين نتائج تحديد درجة تلون الخلايا في عينة البحث

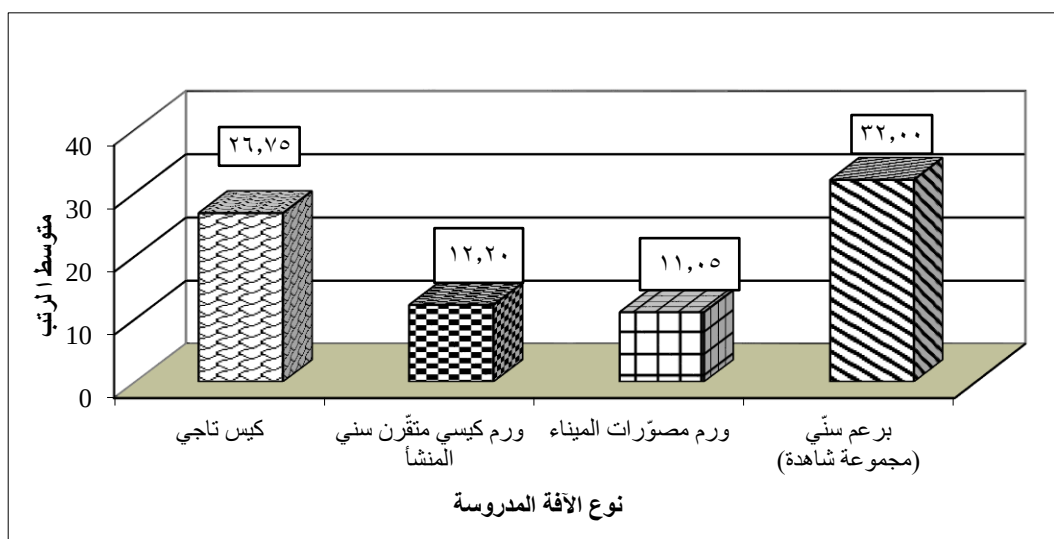


المخطط (٣-٢) يبين النسبة المئوية لنتائج درجة تلون الخلايا في عينة البحث

كما يبين الجدول (٣-٧) و المخطط (٣-٣) متوسط الرتب لدرجة تلون الخلايا في عينة البحث :

المتغير المدروس = درجة تلون الخلايا		
نوع العينة المدروسة	عدد الخزعات النسيجية	متوسط الرتب
البرعم سنّي (مجموعة شاهدة)	10	32.00
الورم مصوّرات ميناء	10	11.05
الورم كيسّي متقرّن سنّي المنشأ	10	12.20
الكيس تاجي	10	26.75

الجدول (٣-٧) متوسط الرتب لدرجة تلون الخلايا



المخطط (٣-٣) يبين متوسط الرتب لدرجة تلون الخلايا في عينة البحث

لدراسة وجود فروق ذات دلالة إحصائية في تكرارات درجة تلون الخلايا بين مجموعات الدراسة تجري اختبار Kruskal-Wallis الجدول رقم (٣-٨) يلخص النتائج.

قيمة كاي مربع	درجات الحرية	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
٢٩,٠٢٥	٣	٠,٠٠٠	توجد فروق دالة

الجدول (٣-٨): يوضح فروق في تكرارات درجة تلون الخلايا

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة ٠,٠٥، أي أنه عند مستوى الثقة ٩٥% توجد فروق دالة إحصائية في تكرارات درجة تلون الخلايا للأميلوجينيين بين اثنتين على الأقل من مجموعات نوع الآفة المدروسة في عينة البحث، ولمعرفة أي من مجموعات نوع الآفة المدروسة تختلف عن الأخرى جوهرياً في درجة تلون الخلايا تم إجراء اختبار Mann-Whitney U للمقارنة الثنائية بين كل زوج من المجموعات الخمس المدروس كما في الجدول رقم (٩-٣):

المتغير المدروس = درجة تلون الخلايا				
نوع العينة المدروسة (أ)	نوع العينة المدروسة (ب)	قيمة U	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
ورم مصورات ميناء	كيس تاجي	10.5	0.001	<u>توجد فروق دالة</u>
	ورم كيسى متقرن سني المنشأ	45.0	0.615	لا توجد فروق دالة
	برعم سني (مجموعة شاهدة)	0	0.000	<u>توجد فروق دالة</u>
كيس تاجي	ورم كيسى متقرن سني المنشأ	12.0	0.001	<u>توجد فروق دالة</u>
	برعم سني (مجموعة شاهدة)	35.0	0.067	لا توجد فروق دالة
ورم كيسى متقرن سني المنشأ	برعم سني (مجموعة شاهدة)	0	0.000	<u>توجد فروق دالة</u>

الجدول (٩-٣) : اختبار Mann-Whitney U بين مجموعات في تعبيرية AMEL

نجد من نتائج الاختبار أن درجة تلون الخلايا في كل من مجموعة الأكياس التاجية ومجموعة البرائم السنّية كانت أعلى منها في كل من مجموعة ورم مصورات الميناء ومجموعة الورم الكيسي المتقرن سني المنشأ ويوجد فروق دالة إحصائية، بينما بالنسبة لباقي المقارنات الثنائية المدروسة فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة ٠,٠٥، أي أنه

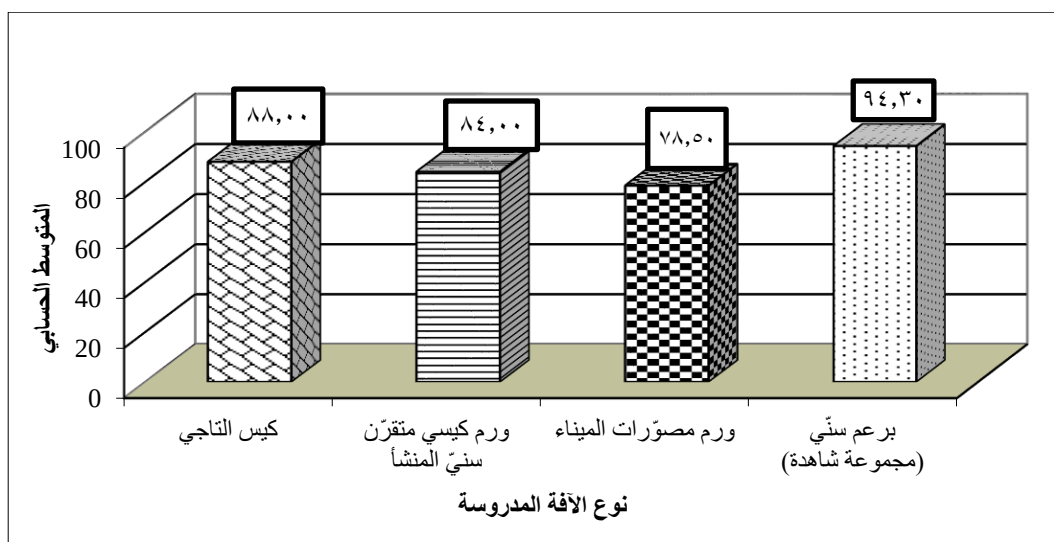
عند مستوى الثقة ٩٥% لا توجد فروق ثنائية دالة إحصائية في تكرارات درجة تلون الخلايا.

ثانياً : دراسة معدل تلون الخلايا

يلخص الجدول (٣-١٠) وصفاً إحصائياً لمعدل تلون الخلايا في عينة البحث، ويوضح المخطط رقم (٣-٤) المتوسط الحسابي لمعدل تلون الخلايا في عينة البحث:

المتغير المدروس = معدل تلون الخلايا						
نوع العينة المدروسة	عدد الخزعات النسيجية	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	الحد الأدنى	الحد الأعلى
برعم سنّي (مجموعة شاهدة)	10	94.30	6.27	1.98	85	100
ورم مصوّرات ميناء	10	78.50	19.01	6.01	40	100
ورم كيسّي متقرّن سنّي المنشأ	10	84.00	15.42	4.88	50	100
كيس تاجي	10	88.00	8.23	2.60	75	100

الجدول (٣-١٠) وصف إحصائي لمعدل تلون الخلايا في عينة البحث



المخطط (٣-٤) يبين المتوسط الحسابي لمعدل تلون الخلايا في عينة البحث

لدراسة وجود فروق ذات دلالة إحصائية في قيمة معدّل تلّون الخلايا بين المجموعات المدروسة تجري إختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA وتتلخص النتائج في الجدول رقم (١١-٣):

المتغير المدروس = معدّل تلّون الخلايا		
قيمة f المحسوبة	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
2.510	0.074	<u>لا توجد فروق دالة</u>

الجدول (١١-٣) يبين قيمة معدّل تلّون الخلايا

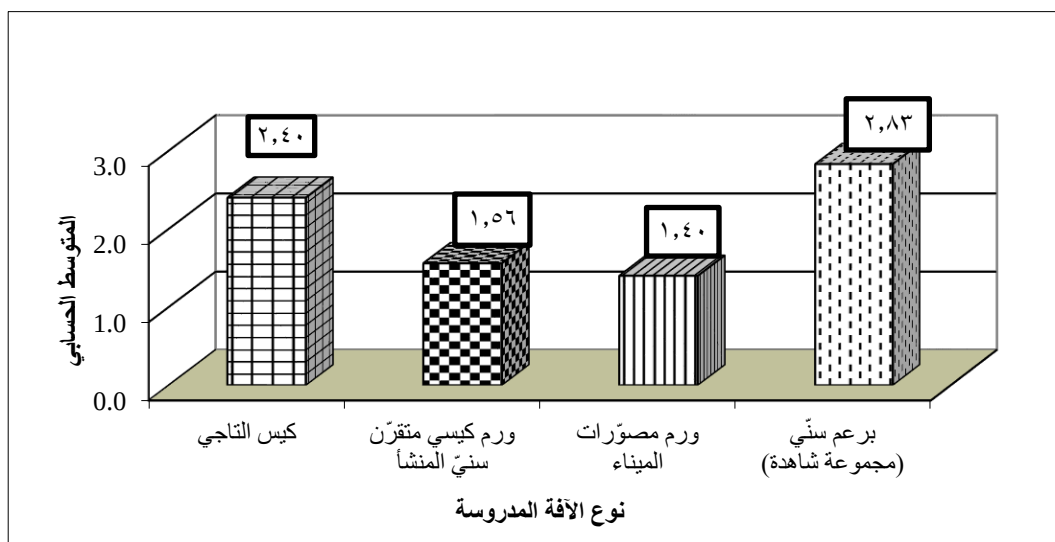
من نتائج الإختبار نرى وبثقة ٩٥%، لا توجد فروق دالة إحصائية في متوسط قيم معدّل تلّون الخلايا بين مجموعات المدروسة.

ثالثاً : دراسة مقدّار تعبيرية الأميلوجينين :

يلخص الجدول رقم (١٢-٣) وصفاً إحصائياً لمقدار تعبيرية الأميلوجينين في عينة البحث والمخطط (٣-٥) يوضح المتوسط الحسابي لمقدار تعبيرية الأميلوجينين في عينة البحث:

المتغير المدروس = مقدار تعبيرية الأميلوجينين						
نوع الآفة المدروسة	عدد الخزعات النسيجية	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	الحد الأدنى	الحد الأعلى
برعم سنّي (مجموعة شاهدة)	10	2.83	0.19	0.06	2.55	3
ورم مصوّرات ميناء	10	1.40	0.61	0.19	0.4	2
ورم كيسّي متقرّن سنّي المنشأ	10	1.56	0.53	0.17	0.5	2
كيس تاجي	10	2.40	0.57	0.18	1.5	3

الجدول (١٢-٣) يبين مقدار تعبيرية الأميلوجينين



المخطط (٥-٣) يبين المتوسط الحسابي لمقدار تعبيرية الأميلوجينين

لدراسة وجود فروق ذات دلالة إحصائية في مقدار تعبيرية الأميلوجينين بين المجموعات المدروسة تجري اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA وتتلخص النتائج في الجدول رقم (٣-١٣) :

المتغير المدروس = مقدار تعبيرية الأميلوجينين		
قيمة f المحسوبة	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
18.289	0.000	<u>توجد فروق دالة</u>

الجدول (٣-١٣) يبين مقدار تعبيرية الأميلوجينين

من نتائج الاختبار نرى وبثقة ٩٥%، وجود فروق ذات دلالة إحصائية في قيمة تعبيرية الأميلوجينين بين المجموعات المدروسة، ولدراسة هذه الفروق بمزيد من التفصيل تم إجراء المقارنة الثنائية بطريقة Bonferroni للمقارنة الثنائية بين كل زوج من المجموعات كما هو واضح في الجدول رقم (٣-١٤) :

المتغير المدروس = مقدار تعبيرية الأميلوجينين					
نوع العينة المدروسة (I)	نوع العينة المدروسة (J)	الفرق بين المتوسطين (I-J)	الخطأ المعياري للفرق	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
الورم مصورات ميناء	كيس تاجي	-1.00	0.23	0.000	<u>توجد فروق دالة</u>
	ورم كيسي متقرن سنّي المنشأ	-0.16	0.23	1.000	لا توجد فروق دالة
	برعم سنّي (مجموعة شاهدة)	-1.43	0.23	0.000	<u>توجد فروق دالة</u>
كيس تاجي	ورم كيسي متقرن سنّي المنشأ	0.84	0.23	0.004	<u>توجد فروق دالة</u>
	برعم سنّي (مجموعة شاهدة)	-0.43	0.23	0.389	لا توجد فروق دالة
الورم الكيسي متقرن سنّي المنشأ	برعم سنّي (مجموعة شاهدة)	-1.27	0.23	0.000	<u>توجد فروق دالة</u>

الجدول (14-3) يبين المقارنة الثنائية لمقدار تعبيرية الأميلوجينين

نجد من نتائج الاختبار أن مقدار تعبيرية الأميلوجينين في كل من مجموعة الأكياس التاجية ومجموعة البراعم السنّية كانت أعلى منها في كل من مجموعة ورم مصورات الميناء ومجموعة الورم الكيسي المتقرن سنّي المنشأ ويوجد فروق دالة إحصائية، بينما بالنسبة لباقي المقارنات الثنائية المدروسة فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أكبر من القيمة ٠,٠٥، أي أنه عند مستوى الثقة ٩٥% لا توجد فروق ثنائية دالة إحصائية في تكرارات مقدار تعبيرية الأميلوجينين.

الباب الرابع

المناقشة

DISCUSSION

المناقشة :

إن إستخدام الواسمات (markers) هي أداة قيمة لتشخيص البثرة سنيّة المنشأ في الآفات البشروية سنيّة المنشأ لتمييزها عن الأنواع المختلفة من الآفات البشروية الأخرى، التي قد تتطور داخل الفم والمناطق الوجهية الفكية، ولذلك أقتراح على تحديد واسمات مناعية نسيجية كيميائية معينة للبثرة الأرومية المينائية الورمية neoplastic ameloblastic epithelium (Coleman et al., 2001)، وذلك لما يوجد من صعوبة في تحديد الورم هل هو من منشأ ظهاري فموي أم هو مشتق من البثرة سنيّة المنشأ (Abiko et al., 2001). وعلامات أو واسمات الورم هي مواد موجودة في الورم، أو ينتجها الورم نفسه، أو من قبل المضيف، والتي يمكن أن نستخدمها لتمييز الورم عن الأنسجة الطبيعية، أو تحديد وجود الورم اعتماداً على قياسها في الدم أو في المفرزات (Diamandis, 2002). والممارسة في علم الأمراض تشهد تغيرات كبيرة حالياً؛ بسبب التقدم في مجال علم الأمراض الجزيئي، وواسمات الورم markers هي جزيئات تساعد المشرح المرضي للوصول إلى تشخيص مؤكد في الآفات المتشابهة من الناحية النسيجية المرضية، ويمكن للأورام سنيّة المنشأ أن تشكل تحديات في التشخيص بسبب تداخل الأنسجة، كما أن التشخيص الصحيح أمر بالغ الأهمية لإختلاف طرق العلاج وفي هذه الحالة يمكن أن تكون واسمات الورم مفيدة، وبسبب نقص الدراسات حول واسمات معينة للأورام سنيّة المنشأ يفترض على

المشرح المرضي التفكير بعلامات متنوعة للوصول إلى تشخيص دقيق ومناسب (Premalatha et al., 2013).

وبما أن الآلية الإمراضية للأورام سنيّة المنشأ مرتبطة بشكل وثيق بعملية تطور الأسنان، وكننتيجة لآليات الإشارة الجزيئية لعضو الميناء الطبيعي، تم المقارنة بينها وبين آليات الإشارة في الأورام سنيّة المنشأ، وتشكيل براعم الأسنان يحدث نتيجة للتحريض المتبادل بين النسيج الإكتوميزانشيمي والبشرة المينائية الداخلية بشكل متسلسل يؤدي إلى تمايز مصورات العاج من الإكتوميزانشيم السني ومصورات الميناء من البشرة المينائية الداخلية (Sarkar et al., 2000). وبالنسبة للتشكل الورمي Tumorigenesis من البشرة سنيّة المنشأ فإنه يحدث من الأنسجة سنيّة المنشأ الغير ناضجة، مما يؤدي إلى مظاهر نسيجية مختلفة، وإمكانيات متباينة لانتشار الورم (Lee and Kim, 2013).

بعد اكتمال عملية تكوين السن، فإن الظهارة المتبقية من جهاز تكوين الأسنان قد تبقى إما في العظم أو في الأنسجة الرخوة في الفكين، وهي إما أن تكون كبقايا ملاسيه البشرية (ERM) في الرباط ماحول السني وهي بقايا غمد هرتفع المسؤولة عن تشكل الجزر (HERS) ، أو كبقايا سيريس (ERS) وهي بقايا الصفيحة السنيّة. هذه البقايا الجنينية تبقى كامنة لفترة طويلة من الزمن ولكنها يمكن أن تستأنف نموها النشاط في وقت لاحق، وتؤدي بالتالي إلى تشكيل الأكياس والأورام سنيّة المنشأ (Ide et al., 2007).

وواسمات الورم هي عبارة عن مادة تتغير بشكل كمي أو نوعي في الظروف ما قبل السرطانية أو السرطانية، ووجود هذا التغيير يمكن الكشف عنه بالفحص المناسب (Schrohl et al., 2003).

من الأورام سنيّة المنشأ ورم مصورات الميناء وهو ورم عدواني من منشأ سني ظهاري، مع إمراضية مدمرة في حال تُرك بدون علاج، نظراً لإمكانية النمو الغير محدودة له كما يتميز بنسبة عالية من النكس تصل إلى فوق ٧٠% حسب طريقة العلاج، ومع القدرة على التحول للخباثة تصل إلى فوق ٢ % (DeVilliers et al., 2011). لذلك يُعد التشخيص النسيجي لورم مصورات الميناء تحدياً كبيراً (do Canto et al., 2016).

فكان من الضروري تحديد واسمات الإنذار الورمية (prognostic markers) لسلوك ورم مصورات الميناء، وإنشاء أدوات تشخيصية جديدة للتشخيص التفريقي لورم مصورات الميناء، كما أن الدراسات الجزيئية البيولوجية مهمة لتطوير نهج بديل أكثر فعالية لعلاج هذه الأورام سنيّة المنشأ العدوانية (Gomes et al., 2010).

كما أن الورم الكيسي المُتقرن سني المنشأ هو ورم حميد ذو سلوك عدواني قد يحدث بشكل منفصل أو مرتبط مع متلازمة السرطان قاعدي الخلايا المسببة الوحشي (Ren et al., 2012). والورم الكيسي المُتقرن سني المنشأ كان يُعرف سابقاً بالكيس متقرن سني المنشأ، وأُعيدت تسميته عام ٢٠٠٥ حسب تصنيف منظمة الصحة العالمية (WHO) كورم سني المنشأ إعتياداً على طبيعته الورمية التي تتميز بنمط ارتشاحي وعدوانية موضعية ومعدل نكس عال، ويعتقد أنه مشتق من بقايا الصفيحة السنيّة. ومن الناحية النسيجية يتميز بتكاثر

بشروي سني المنشأ داخل الفك وتشكيل هياكل كيسية مبطنة ببشرة رصفية مطبقة مع طبقة متموجة من نظير التقرن وتنسج في الطبقة القاعدية (Barnes et al., 2005).

كما تنشأ الأكياس سنيّة المنشأ من عضو الميناء (الجهاز السني) أو من بقاياها، (Gadbail et al., 2009). ويُعد الكيس التاجي (DC) هو ثاني أشهر الآفات الكيسية شيوعاً في الفكين بعد الكيس الجذري، ويحدث حول تيجان الأسنان الغير البازغة (Anthonappa et al., 2017).

وقد تم فحص تعبيرية البروتينات المينائية في الأورام سنيّة المنشأ حيث تمثل نهج جزيئي قوي لتمييز الأورام سنيّة المنشأ والتحقق من إمرضيتها (Crivelini et al., 2012).

تحتوي معظم الأورام سنيّة المنشأ على مكونات بشروية مختلفة وتشير النتائج إلى أن الخل في البروتينات المينائية يساهم في التكوين الورمي (Oncogenesis) للبشرة سنيّة المنشأ (Kumamoto, 2006) ، (Taylor, 2008).

ويُعد بروتين الأميلوجينين البروتين الرئيسي في القالب المينائي إذ يُشكل ٩٠ % من هذه البروتينات وقد تم تقييمه وفحصه في العديد من الأورام سنيّة المنشأ، وقد يكون مؤشراً لتمييز الخلايا البشروية في الآفات سنيّة المنشأ، حيث وُجدَ ومن خلال الفحص المناعي الكيميائي النسيجي للأميلوجينين في العديد من الأورام سنيّة المنشأ الخبيثة والحميدة بأنه يمكن اعتباره بروتيناً مفيداً لتحديد المكونات البشروية سنيّة المنشأ (Kumamoto et al., 2001)، كما يُعتقد أن دراسة تعبيرية الأميلوجينين لايساعد في فهم الآلية الإراضية للآفات فحسب، بل

أيضاً له دور في فهم التنبؤ عن السلوك النسيجي والطبيعة السريرية للآفات (Anigol et al., 2014).

و في هذه الدراسة قمنا بالتحري عن التعبيرية المناعية الكيميائية النسيجية للأميلوجينين لتحديد وتشخيص وتمايز المكونات الظهارية السنية المنشأ وتقييمها في أنواع مختلفة من الآفات سنية المنشأ، ولمعرفة التعبيرية الطبيعية لهذا البروتين أخذنا عينة شاهدة للمقارنة وهي براعم الأسنان الطبيعية، ودرسناها في المرحلة الجرسية المبكرة لتشابهها في الشكل النسيجي مع الآفات سنية المنشأ، وعلى اعتبار أن خلايا مصورات الميناء في هذه المرحلة قد وصلت تقريباً إلى تمايزها وأصبحت خلية ناضجة غير متغيرة كما أنها الخلية الرئيسية التي تتركب بروتين الأميلوجينين فهي تبدي التعبيرية العظمى لهذا البروتين وتعتبر المرحلة الجرسية هي مرحلة الممثلة الوظيفية لهذا البروتين حيث تبدأ خلايا مصورات الميناء بإفراز القالب المينائي (Nanci, 2012).

٤-١ مناقشة نتائج قيمة تعبيرية الأميلوجينين في براعم الأسنان:

كانت جميع عينات براعم الأسنان في المرحلة الجرسية إيجابية لل AMEL ، وكانت قيمة التعبيرية مرتفعة حيث أبدى ٤ براعم إيجابية كاملة، في حين تفاوتت قيمة التعبيرية في بقية البراعم ولكنها بقيت قريبة من القيمة العليا، وكان متوسط التعبيرية لدى هذه المجموعة ٢,٨٣ وهي قيمة قريبة إذ أن أعلى قيمة هي ٣، وقد تقاربت نتائج دراستنا مع دراسة Kumamoto وزملاؤه حيث قام بتحري تعبيرية الأميلوجينين في براعم الأسنان عند الإنسان وتوزعت التعبيرية الشديدة في خلايا مصورات الميناء الداخلية والتعبيرية متوسطة في الطبقة

الانتقالية والنسيج الشبكي النجمي ولم تبدِ البشرة المينائية الخارجية أي تعبيرية (Kumamoto et al., 2001).

وكذلك اتفقت دراستنا مع دراسة Deutsch وزملاؤه حيث وجدوا أن التعبيرية الإيجابية للأميلوجينين كانت ضمن براعم الأسنان في هيولى خلايا البشرة المينائية الداخلية والنسيج النجمي الشبكي والطبقة الانتقالية (Deutsch et al., 2006).

كما اتفقت دراستنا مع دراسة أجريت للتحري عن تعبيرية الأميلوجينين أثناء التطور القحفي الوجهي، حيث وجدت تعبيرية إيجابية للأميلوجينين في المراحل المبكرة من تشكيل براعم الأسنان عند الفئران في الصفيحة السنية (Dental lamina)، وهذا يدل على وظائف مختلفة للأميلوجينين في هذه المرحلة المبكرة، وفي المراحل المتأخرة من تطور البرعم وجدت تعبيرية إيجابية بشكل رئيسي في القلب المينائي الخارج الخلوي، وفي خلايا مصورات الميناء المفردة، والطبقة الانتقالية، وهذا يتوافق مع نتائج دراستنا (Gruenbaum-Cohen et al., 2009).

كما اتفقت نتائج دراستنا أيضاً مع دراسة Anigol وزملاؤه حيث وجدوا أن خلايا مصورات الميناء المفردة تبدي تعبيرية شديدة لل AMEL، بينما الطبقة الانتقالية والنسيج الشبكي النجمي أبدت تعبيرية متوسطة (Anigol et al., 2014).

وهذا يدل على أن الخلايا البشرية الطبيعية تبدي كثافة شديدة لتعبيرية الأميلوجينين.

٤-٢ مناقشة نتائج قيمة تعبيرية الأميلوجينين في ورم مصورات الميناء :

كانت جميع عينات ورم مصورات الميناء إيجابية لل AMEL في مكوناتها البشرية، وكانت قيمة تعبيرية الAMEL في ورم مصورات الميناء متوسطة إلى ضعيفة، وقد بلغ المتوسط الحسابي لقيمة التعبيرية ١،٤٠، إذ أن أعلى قيمة هي ٢.

اتفقت نتائج دراستنا مع دراسة Mori وزملاؤه حيث توزعت التعبيرية الإيجابية للأميلوجينين في الخلايا الورمية المحيطة في النمط الجرابي لورم مصورات الميناء وأظهرت الإيجابية كثافة متغايرة نسبياً (Mori et al., 1991).

كما اتفقت نتائج دراستنا مع نتائج Kumamoto وزملاؤه إذ ظهر من خلال دراستهم أن هناك تعبيرية إيجابية للأميلوجينين في ورم مصورات الميناء بنمطيه الجرابي والصفيري في جميع الخلايا الإسطوانية المحيطة وفي معظم الخلايا المركزية تقريباً (Kumamoto et al., 2001).

وتقاربت نتائج دراستنا مع دراسة Anigol وزملاؤه حيث قاموا بتحري الAMEL على ٤ عينات من ورم مصورات الميناء النمط الصفيري، فوجدوا تعبيرية متوسطة في ٣ عينات في الخلايا المشبهة بمصورات الميناء، في النسيج المشبه بالنسيج الشبكي النجمي، بينما العينة الأخيرة أبدت تعبيرية عالية في النسيج الشبكي النجمي مقارنة بخلايا المشبه بمصورات الميناء، ويعزى ذلك الاختلاف إلى المراحل المختلفة من تطور الآفة وفقاً للتغير الوظيفي للأميلوجينين أو التعديلات البيئية والوراثية للمرضى (Anigol et al., 2014).

اختلفت نتائج دراستنا مع دراسة Saku وزملائه حيث قاموا بالتحري عن تعبيرية الأميلوجينين والإيناميلين في الأورام سنيّة المنشأ، ووجدوا بأن التعبيرية الايجابية اقتصرت على البؤر المتمعدنة الصغيرة والخلايا الورمية المحيطة بها والمواد الهياكلية ضمن الأورام، وكانت التعبيرية سلبية في ورم مصورات الميناء على الرغم من أن بعض الحالات أخذت تعبيرية ضعيفة، وفسر نتائجه بأن الخلايا الورمية في ورم مصورات الميناء لم تصل للنضج الوظيفي (Saku et al., 1992).

واختلفت نتائج دراستنا مع دراسة Abiko وزملاؤه حيث قاموا بالتحقق من توضع بروتين الأميلوجينين في الأورام سنيّة المنشأ باستخدام ضد للأميلوجينين متعدد النسيلة المستخرج من الأبقار polyclonal antibody against bovine amelogenin ووجدوا أن التعبيرية كانت سلبية للأميلوجينين في ورم مصورات الميناء، في حين أبدى الأورام إيجابية للبروتين الأميلوجينين في القالب المينائي والبؤر المتمعدنة الصغيرة، وقد اقترح الباحث بأن ضد الأميلوجينين مفيد في تعيين الأورام سنيّة المنشأ ذات البؤر المتمعدنة (Abiko et al., 2001)، وقد يُعزى هذا الاختلاف إلى اختلاف الأجسام المضادة المستخدمة في دراسته، أو أن كمية الأميلوجينين المنتجة قد لا تكون كافية للكشف عنها بالتلوين المناعي بالضد المستخدم .

كما اختلفت نتائج دراستنا مع دراسة Crivelini وزملاؤه التي قام بها للتحري عن تعبيرية البروتينات المينائية في الأورام سنيّة المنشأ، حيث أبدى ورم مصورات الميناء تعبيرية سلبية للبروتينات المينائية ومن بينها بروتين الأميلوجينين، وقد فسر نتيجته بسبب طبيعة الخلايا

الورمية الغير متمايزة، وعدم قدرتها على تشكيل أنسجة صلبة، وأكد الباحث ضرورة إجراء دراسات أخرى لمناقشة نتيجته (Crivelini et al., 2012).

إن الدراسات السابقة على ورم مصورات الميناء والتي استخدمت البيولوجيا الجزيئية والتي اكدت بأن جينات الأميلوجينين توجد في ورم مصورات الميناء، وتم الكشف عن التوزيع المكاني للRNA المرسال للأميلوجينين في هيولى الخلايا البشرية في الأعشاش البشرية، ولم توجد إشارات مكتشفة مهمة في خلايا اللحمية الضامة (Snead et al., 1992) ، (Tsuji-giwa et al . , 2005). وهذا يؤكد نتيجة دراستنا على أن توزع الأميلوجينين كان في الخلايا البشرية فحسب، لكن في الحالة الورمية تختلف كثافة تعبيرية بروتين الأميلوجينين وتتراوح بين المتوسطة للمنخفضة.

٤-٣ مناقشة نتائج قيمة تعبيرية الأميلوجينين في الورم الكيسي المُتَقَرَّن سني المنشأ:

كانت جميع عينات الورم سني المنشأ الكيسي المُتَقَرَّن إيجابية للAMEL في المكونات البشرية، وكانت قيمة تعبيرية الAMEL في هذا الورم متوسطة إلى ضعيفة وقد بلغ المتوسط الحسابي لقيمة التعبيرية ١,٥٦ إذ أن أعلى قيمة هي ٢.

إتفقت نتائج بحثنا مع دراسة Ren وزملاؤه، حيث وجدوا أن هناك تعبيرية للأميلوجينين في بشرة الورم الكيسي المُتَقَرَّن سني المنشأ، وأشاروا إلى أنه يوجد تعبيرية جينية لبروتينات القالب المينائي السني الرئيسة وهي الأميلوجينين AMEL، والإيناميلين ENAM، الأميلوبلاستين AMBN، و الأميلوتين AMTN، الإيناميليسين MMP-20 والكالكرين

KLK-4 والبروتين المرتبط بمصورة الميناء ODAM وبأنها قد تلعب دوراً مهماً في تشكيل هذا الورم، وبأنها واسمات رئيسية للخلايا البشرية السنية (Ren et al., 2012).

كما اتفقت نتائج دراستنا مع دراسة Anigol وزملائه حيث قاموا بالتحري عن تعبيرية AMEL على ٦ عينات من الورم الكيسي المُتَقَرَّن سني المنشأ وقد أبدت جميع العينات تعبيرية متوسطة شاملة للطبقة المُتَقَرَّنة مع نمط تعبيرية منتشر، بالرغم من أن إثنان منها أديتا نمطاً بقعياً patchy type (Anigol et al., 2014).

٤-٤ مناقشة نتائج قيمة تعبيرية الأملوجينين في الكيس التاجي :

كانت جميع العينات في الكيس التاجي إيجابية لل AMEL ، وكانت قيمة التعبير مرتفعة في الكيس التاجي إذ أبدى كيساً واحد قيمة تعبيرية كاملة، في حين تقاربت نتائج قيمة تعبيرية الأكياس الباقية من القيمة العليا، وقد بلغ متوسط قيمة التعبير في الأكياس التاجية ٢،٤٠ إذ أن أعلى قيمة ٣.

إتفقت نتائج دراستنا مع دراسة Anigol وزملاؤه حيث قاموا بالتحري عن تعبيرية الAMEL في ٤ عينات من الكيس التاجي فأبدت ٣ عينات تعبيرية شديدة في البشرة المبطنة للكيس، وواحدة أبدت تعبيرية متوسطة ضمن البشرة وهذا مايتوافق مع نتائجنا (Anigol et al., 2014).

٤-٥ مناقشة الفرق بين الأفات في قيم تعبيرية الأملوجينين :

جميع العينات المدروسة أبدت تعبيرية إيجابية للأملوجينين في المكونات البشرية وبدرجات مختلفة من الكثافة والتوزع، وبناء على نتائج الدراسة الإحصائية وجدنا بأن تعبيرية

الأميلوجينين منخفضة في ورم مصورات الميناء مقارنة مع البراعم السنية وبفروق دالة إحصائية إذ $P=0.000$ ، كما أن تعبيرية الأميلوجينين كانت منخفضة في الورم الكيسي المُتَقَرَن سني المنشأ مقارنة مع البراعم السنية وبفروق دالة إحصائية إذ $P= 0.000$ ، بينما أبدى الكيس التاجي تعبيرية مرتفعة للأميلوجينين مقارنة مع البراعم السنية إذ $P=0.389$ ولم توجد فروق دالة إحصائية.

وقد نفسر أن قيم التعبيرية كانت متوسطة إلى منخفضة في ورم مصورات الميناء بسبب أن هذه الخلايا لم تصل لكامل التمايز أو كامل النضج وهذا يتوافق مع السلوك العدواني لهذا الورم، ولعلنا نربط انخفاض التعبيرية إلى عدم قدرة الورم على تشكيل الأنسجة الصلبة (Anigol et al., 2014). وهذا يعطي تنبؤ بسلوك ورم مصورات الميناء متعدد الأكياس اعتماداً على كثافة بروتين الأميلوجينين، فتشير التعبيرية المنخفضة لبروتين الأميلوجينين في الخلايا الورمية البشرية بالتنبؤ بسلوك أكثر عدوانية للورم وهذا يعطي تنبؤ للجراح لاتخاذ طريقة العلاج المناسبة.

كما أن تعبيرية الAMEL كانت إيجابية في بشرة الورم الكيسي السني المُتَقَرَن وشدة التعبيرية كانت أقرب إلى المتوسطة، وهذا يتوافق مع السلوك العدواني والناكس لهذا الورم. وأيضاً يعطي تنبؤ بالسلوك الورم للجراح لاتخاذ طريقة العلاج المناسبة

كما أن بشرة الكيس التاجي أبدت تعبيرية إيجابية للAMEL ، وكانت شدة التعبيرية في أغلب العينات شديدة، وهذا يتوافق مع منشأ هذا الكيس من عضو الميناء نفسه المشكل للبرعم السني (Anigol et al., 2014).

وعدم وجود الفروق ذات الدلالة الإحصائية بين الآفات عند دراسة معدل تلون الخلايا يرجع إلى أن منشأ كل الآفات هو من البقايا البشرية سنّية المنشأ.

كما أن هذه الخلايا وعلى الرغم من أنها لم تصل إلى كامل التمايز فقد أبدت تعبيرية للأميلوجينين، أي أنها تملك تمايزاً أرومياً مينائياً (Ameloblastic) (Kumamoto et al., 2001). وذلك يتوافق مع منشئها الأصلي، ولكن قد يكون هناك عوامل أخرى تمنع هذه الخلايا للوصول إلى كامل التمايز وذلك نتيجة لتغير التفاعلات الميزانشيمية الظهارية والتي تؤدي إلى الحالة المرضية (Anigol et al., 2014).

الباب الخامس

الاستنتاجات

CONCLUSION

نستنتج ضمن إمكانيات هذا البحث :

- ١- دراسة تعبيرية الأميلوجينين مفيد للكشف عن المكونات البشرية سنيّة المنشأ ضمن الأورام سنيّة المنشأ البشرية، ويمكن استخدامه كواسم (marker) نهائي لتحديد فيما إذا كانت البشرة سنيّة المنشأ خصوصاً عند وجود صعوبة في تحديد ذلك بالتلوين التقليدي الهيماتوكسيلين إيوزين، وتميزها عن الآفات الأخرى الظهارية التي تتوضع في الفم والوجه.
- ٢- دراسة تعبيرية الأميلوجينين قد يكون مؤشراً على تمايز الخلايا البشرية في الآفات سنيّة المنشأ وهذا يعكس التنبؤ بالسلوك البيولوجي للآفات سنيّة المنشأ من خلال مقدار تعبيرية الأميلوجينين.
- ٣- كثافة الأميلوجينين متغيرة في الآفات سنيّة المنشأ وذلك وفقاً لتمايز الخلايا في المراحل المختلفة من الآفات.

الباية الساس

الاساسات والمقترحات

SUGGESTION AND RECOMMENDATION

التوصيات :

نوصي بزيادة الاهتمام بالتلويين المناعي للخرعات الأخوذة من الحفرة الفموية وماحولها لفائدتها في وضع التشخيص المناسب وتقييم المعطيات التنبؤية لسير الآفة.

المقترحات :

- ١- نقترح إجراء دراسة تضم عدد كبير من العينات لدعم ومراقبة السلوك البيولوجي لبروتين الأميلوجينين في مختلف الآفات سنيّة المنشأ.
- ٢- نقترح إجراء دراسة شاملة على جميع أنواع ورم مصورات الميناء وربط علاقة شدة تعبيرية الأميلوجينين في تمايز وإنذار الأنواع المختلفة من هذا الورم.
- ٣- نقترح إجراء دراسة تضم عينات تحتوي على أنسجة متكلسة ودراسة دور الأميلوجينين في تشكيل هذه الأنسجة الصلبة.

الباب السابع

المراجع

REFERENCES

A

- ABIKO, Y., MURATA, M., ITO, Y., TAIRA, T., NISHIMURA, M., ARISUE, M., INOUE, T., SHIMONO, M., KUBOKI, Y. & KAKU, T. 2001. Immunohistochemical localization of amelogenin in human odontogenic tumors, using a polyclonal antibody against bovine amelogenin. *Med Electron Microsc*, 34, 185-9.
- ACKERMANN, G. L., ALTINI, M. & SHEAR, M. 1988. The unicystic ameloblastoma: a clinicopathological study of 57 cases. *J Oral Pathol*, 17, 541-6.
- AGANI, Z., HAMITI-KRASNIQI, V., RECICA, J., LOXHA, M. P., KURSHUMLIU, F. & REXHEPI, A. 2016. Maxillary unicystic ameloblastoma: a case report. *BMC Res Notes*, 9, 469.
- AIMETTI, M., FERRAROTTI, F., MARIANI, G. M. & ROMANO, F. 2017. A novel flapless approach versus minimally invasive surgery in periodontal regeneration with enamel matrix derivative proteins: a 24-month randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig*, 21, 327-337.
- ALMEIDA RDE, A., ANDRADE, E. S., BARBALHO, J. C., VAJGEL, A. & VASCONCELOS, B. C. 2016. Recurrence rate following treatment for primary multicystic ameloblastoma: systematic review and meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 45, 359-67.
- ANIGOL, P., KAMATH, V. V., SATELUR, K., ANAND, N. & YERLAGUDDA, K. 2014. Amelogenin in odontogenic cysts and tumors: An immunohistochemical study. *National journal of maxillofacial surgery*, 5, 172.
- ANTHONAPPA, R. P., EKAMBARAM, M., NEBODA, C. N., KING, N. M. & RABIE, A. B. M. 2017. Genetic basis of dentigerous cysts associated with supernumerary teeth: A narrative review. *Journal of investigative and clinical dentistry*.
- ARORA, S. 2015. Unicystic Ameloblastoma: A Perception for the Cautious Interpretation of Radiographic and Histological Findings. *J Coll Physicians Surg Pak*, 25, 761764-764.
- AVELAR, R. L., ANTUNES, A. A., SANTOS TDE, S., ANDRADE, E. S. & DOURADO, E. 2008. Odontogenic tumors: clinical and pathology study of 238 cases. *Braz J Otorhinolaryngol*, 74, 668-73.

B

- BAGHERI, G. H., SADR, A., ESPIGARES, J., HARIRI, I., NAKASHIMA, S., HAMBHA, H., SHAFIEI, F., MOZTARZADEH, F. & TAGAMI, J. 2015. Study on the influence of leucine-rich amelogenin peptide (LRAP) on the remineralization of enamel defects via micro-focus x-ray computed tomography and nanoindentation. *Biomed Mater*, 10, 035007.
- BANSAL, A. K., SHETTY, D. C., BINDAL, R & .PATHAK, A. 2012. Amelogenin: A novel protein with diverse applications in genetic and molecular profiling. *J Oral Maxillofac Pathol*, 16, 395-9.

- BANSAL, M., CHATURVEDI, T. P., BANSAL, R. & KUMAR, M. 2010. Acanthomatous ameloblastoma of anterior maxilla. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 28, 209-11.
- BARNES, L., EVESON, J., REICHART, P. & SIDRANSKY, D. 2005. World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of head and neck tumours. *World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and genetics of head and neck tumors*.
- BARTLETT, J. D. 2013. Dental enamel development: proteinases and their enamel matrix substrates. *ISRN Dent*, 2013, 684607.
- BHARGAVA, D., DESHPANDE, A. & POGREL, M. A. 2012. Keratocystic odontogenic tumour (KCOT)-a cyst to a tumour. *Oral Maxillofac Surg*, 16, 163-70.
- BI, R., SHEN, L., ZHU, X. & XU, X. 2015. Malignant ameloblastoma (metastatic ameloblastoma) in the lung: 3 cases of misdiagnosis as primary lung tumor with a unique growth pattern. *Diagn Pathol*, 10, 123.
- BORRELLO, R., BETTIO, E., BACCI, C., VALENTE, M., SIVOLELLA, S., MAZZOLENI, S. & BERENGO, M. 2016. A Conservative Approach to a Peripheral Ameloblastoma. *Case Rep Dent*, 2016, 8254571.
- BROMLEY, K. M., LAKSHMINARAYANAN, R., THOMPSON, M., LOKAPPA, S. B., GALLON, V. A., CHO, K. R., QIU, S. R. & MORADIAN-OLDAK, J. 2012. Amelogenin processing by MMP-20 prevents protein occlusion inside calcite crystals. *Cryst Growth Des*, 12, 4897-4905.
- BUYUKKURT, M. C., OMEZLI, M. M. & MILOGLU, O. 2010. Dentigerous cyst associated with an ectopic tooth in the maxillary sinus: a report of 3 cases and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 109, 67-71.

C

- CAKARER, S., SELVI, F., ISLER, S. C. & KESKIN, C. 2011. Decompression, enucleation, and implant placement in the management of a large dentigerous cyst. *J Craniofac Surg*, 22, 922-4.
- CASTRO, S., II, ISRAEL, M. S., LIMA, G. S. & DE QUEIROZ CHAVES LOURENCO, S. 2012. Difficulties in the diagnosis of plexiform ameloblastoma. *Oral Maxillofac Surg*, 16, 115-8.
- CHAN, H. C., ESTRELLA, N. M., MILKOVICH, R. N., KIM, J. W., SIMMER, J. P. & HU, J. C. 2011. Target gene analyses of 39 amelogenesis imperfecta kindreds. *Eur J Oral Sci*, 119 Suppl 1, 311-23.
- CHENG, L., LIN, Z. K., SHU, R., LIU, D. L., ZHANG, X. L., LIU, B., WANG, J. & TIAN, L. 2012. Analogous effects of recombinant human full-length amelogenin expressed by *Pichia pastoris* yeast and enamel matrix derivative in vitro. *Cell Prolif*, 45, 456-65.
- CHO, E. S., KIM, K. J., LEE, K. E., LEE, E. J., YUN, C. Y., LEE, M. J., SHIN, T. J., HYUN, H. K., KIM, Y. J., LEE, S. H., JUNG, H. S., LEE, Z. H. & KIM, J. W. 2014. Alteration of conserved alternative splicing in AMELX causes enamel defects. *J Dent Res*, 93, 980-7.

- CHUNG, H. Y., LI, C. C. & HSU, C. C. 2012. Characterization of the effects of 3DSS peptide on remineralized enamel in artificial saliva. *J Mech Behav Biomed Mater*, 6, 74-9.
- COLEMAN, H., ALTINI, M., ALI, H., DOGLIONI, C., FAVIA, G. & MAIORANO, E. 2001. Use of calretinin in the differential diagnosis of unicystic ameloblastomas. *Histopathology*, 38, 312-7.
- CRIVELINI, M. M., FELIPINI, R. C., MIYAHARA, G. I. & DE SOUSA, S. C. O. M. 2012. Expression of odontogenic ameloblast-associated protein, amelotin, ameloblastin, and amelogenin in odontogenic tumors: immunohistochemical analysis and pathogenetic considerations. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 41, 272-280.
- CUI, F. Z. & GE, J. 2007. New observations of the hierarchical structure of human enamel, from nanoscale to microscale. *J Tissue Eng Regen Med*, 1, 185-91.

D

- DE PAULA, A. M., CARVALHAIS, J. N., DOMINGUES, M. G., BARRETO, D. C. & MESQUITA, R. A. 2000. Cell proliferation markers in the odontogenic keratocyst: effect of inflammation. *J Oral Pathol Med*, 29, 477-82.
- DELAK, K., HARCUP, C., LAKSHMINARAYANAN, R., SUN, Z., FAN, Y., MORADIAN-OLDAK, J. & EVANS, J. S. 2009. The tooth enamel protein, porcine amelogenin, is an intrinsically disordered protein with an extended molecular configuration in the monomeric form. *Biochemistry*, 48, 2272-81.
- DEUTSCH, D., HAZE-FILDERMAN, A., BLUMENFELD, A., DAFNI, L., LEISER, Y., SHAY, B., GRUENBAUM-COHEN, Y., ROSENFELD, E., FERMON, E. & ZIMMERMANN, B. 2006. Amelogenin, a major structural protein in mineralizing enamel, is also expressed in soft tissues: brain and cells of the hematopoietic system. *European journal of oral sciences*, 114, 183-189.
- DEVILLIERS, P., SUGGS, C., SIMMONS, D., MURRAH, V. & WRIGHT, J. T. 2011. Microgenomics of ameloblastoma. *J Dent Res*, 90, 463-9.
- DIAMANDIS, E. P. 2002. *Tumor markers: Physiology, pathobiology, technology, and clinical applications*, Amer. Assoc. for Clinical Chemistry.
- DO CANTO, A. M., ROZATTO, J. R., SCHUSSEL, J. L., DE FREITAS, R. R., HASSEUS, B. & BRAZ-SILVA, P. H. 2016. Immunohistochemical biomarkers in ameloblastomas. *Acta Odontol Scand*, 74, 585-590.
- DUNFEE, B. L., SAKAI, O., PISTEY, R. & GOHEL, A. 2006. Radiologic and pathologic characteristics of benign and malignant lesions of the mandible. *Radiographics*, 26, 1751-68.

E

- ERYILMAZ, T., OZMEN, S., FINDIKCIOGLU, K., KANDAL, S. & ARAL, M. 2009. Odontogenic keratocyst: an unusual location and review of the literature. *Ann Plast Surg*, 62, 210-2.

F

- FARAS, F., ABO-ALHASSAN, F., ISRAEL, Y., HERSANT, B. & MENINGAUD, J. P. 2017. Multi-recurrent invasive ameloblastoma: A surgical challenge. *Int J Surg Case Rep*, 30, 43-45.
- FIGUEROA, A., CORRENTI, M., AVILA, M., ANDEA, A., DEVILLIERS, P. & RIVERA, H. 2010. Keratocystic odontogenic tumor associated with nevoid basal cell carcinoma syndrome: similar behavior to sporadic type? *Otolaryngol Head Neck Surg*, 142, 179-83.
- FINKELSTEIN, M. W., HELLSTEIN, J. W., LAKE, K. S. & VINCENT, S. D. 2013. Keratocystic odontogenic tumor: a retrospective analysis of genetic, immunohistochemical and therapeutic features. Proposal of a multicenter clinical survey tool. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*, 116, 75-83.
- FRASHERI, I., ERN, C., DIEGRITZ, C., HICKEL, R., HRISTOV, M. & FOLWACZNY, M. 2016. Full-length amelogenin influences the differentiation of human dental pulp stem cells. *Stem Cell Res Ther*, 7, 10.

G

- GADBAIL ,A., CHAUDHARY, M., PATIL, S. & GAWANDE, M. 2009. Actual Proliferating Index and p53 protein expression as prognostic marker in odontogenic cysts. *Oral diseases*, 15, 490-498.
- GAITAN-CEPEDA, L. A., QUEZADA-RIVERA, D., TENORIO-ROCHA, F. & LEYVA-HUERTA, E .R. 2010. Reclassification of odontogenic keratocyst as tumour. Impact on the odontogenic tumours prevalence. *Oral Dis*, 16, 185-7.
- GARCIA, N. G., OLIVEIRA, D. T. & RODRIGUES, M. T. 2016. Unicystic Ameloblastoma with Mural Proliferation Managed by Conservative Treatment. *Case Rep Pathol*, 2016, 3089540.
- GIBSON, C. W., KULKARNI, A. B. & WRIGHT, J. T. 2005. The use of animal models to explore amelogenin variants in amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs*, 181, 196-201.
- GIULIANI, M., GROSSI, G. B., LAJOLO ,C., BISCEGLIA, M. & HERB, K. E. 2006. Conservative management of a large odontogenic keratocyst: report of a case and review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg*, 64, 308-16.
- GOMES, C. C., DUARTE, A. P., DINIZ, M. G. & GOMEZ, R. S. 2010. Review article: Current concepts of ameloblastoma pathogenesis. *J Oral Pathol Med*, 39, 585-91.
- GRUENBAUM-COHEN, Y., TUCKER, A. S., HAZE, A., SHILO, D., TAYLOR, A. L., SHAY, B., SHARPE, P. T., MITSIADIS, T. A., ORNOY, A., BLUMENFELD, A. & DEUTSCH, D. 2009. Amelogenin in cranio-facial development: the tooth as a model to study the role of amelogenin during embryogenesis. *J Exp Zool B Mol Dev Evol*, 312B, 445-57.
- GURUPRASAD, Y., CHAUHAN, D. S. & KURA, U. 2013. Infected dentigerous cyst of maxillary sinus arising from an ectopic third molar. *J Clin Imaging Sci*, 3, 7.

H

- HATAKEYAMA, J., SREENATH, T., HATAKEYAMA, Y., THYAGARAJAN, T., SHUM, L., GIBSON, C. W., WRIGHT, J. T. & KULKARNI, A. B. 2003. The receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand-mediated osteoclastogenic pathway is elevated in amelogenin-null mice. *J Biol Chem*, 278, 35743-8.
- HU, J. C., CHUN, Y. H., AL HAZZAZZI, T. & SIMMER, J. P. 2007. Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs*, 186, 78-85.
- HU, S., DIVARIS, K., PARKER, J., PADILLA, R., MURRAH, V. & WRIGHT, J. T. 2016. Transcriptome variability in keratocystic odontogenic tumor suggests distinct molecular subtypes. *Scientific reports*, 6, 24236.

I

- IDE, F., OBARA, K., YAMADA, H., MISHIMA, K., SAITO, I., HORIE, N., SHIMOYAMA, T. & KUSAMA, K. 2007. Hamartomatous proliferations of odontogenic epithelium within the jaws: a potential histogenetic source of intraosseous epithelial odontogenic tumors. *J Oral Pathol Med*, 36, 229-35.
- IIJIMA, M. & MORADIAN-OLDAK, J. 2004. Interactions of amelogenins with octacalcium phosphate crystal faces are dose dependent. *Calcif Tissue Int*, 74, 522-31.
- IORDANIDIS, S., MAKOS, C., DIMITRAKOPOULOS, J. & KARIKI, H. 1999. Ameloblastoma of the maxilla. Case report. *Aust Dent J*, 44, 51-5.

J

- JANONES, D. S., MASSA, L. F. & ARANA-CHAVEZ, V. E. 2005. Immunocytochemical examination of the presence of amelogenin during the root development of rat molars. *Arch Oral Biol*, 50, 527-32.
- JEDDY, N., JEYAPRADHA, T., ANANTHALAKSHMI, R., JEEVA, S., SAIKRISHNA, P. & LAKSHMIPATHY, P. 2013. The molecular and genetic aspects in the pathogenesis and treatment of ameloblastoma. *Journal of Dr. NTR University of Health Sciences*, 2, 157.
- JHAMB, T. & KRAMER, J. M. 2014. Molecular concepts in the pathogenesis of ameloblastoma: implications for therapeutics. *Exp Mol Pathol*, 97, 345-53.
- JONKE, E., GEMPERLI, A. C., ZHANG, T., OZDEMIR, B., DARD, M., RAUSCH-FAN, X. & ANDRUKHOV, O. 2016. Effect of tyrosine-rich amelogenin peptide on behavior and differentiation of endothelial cells. *Clin Oral Investig*, 20, 2284-2275 ,
- JORDAN, R. C. & SPEIGHT, P. M. 2009. Current concepts of odontogenic tumours. *Diagnostic Histopathology*, 15, 303-310.

K

- KANG, S. H., BAE, T. H., KIM, H. K., KIM, W. S. & KIM, M. K. 2015. Immediate reconstruction of the maxillary sinus after resection of preoperatively misdiagnosed unicystic ameloblastoma with an ectopic third molar. *J Craniofac Surg*, 26, e53-5.
- KEBEDE, B., DEJENE, D., TEKA, A., GIRMA, B., AGUIRRE, E. P. & GUERRA, N. E. P. 2016. Big Keratocystic Odontogenic Tumor of the Mandible :A Case Report. *Ethiop J Health Sci*, 26, 491-496.
- KHAN, F., LIU, H., REYES, A., WITKOWSKA, H. E., MARTINEZ-AVILA, O., ZHU, L., LI, W. & HABELITZ, S. 2013. The proteolytic processing of amelogenin by enamel matrix metalloproteinase (MMP-20) is controlled by mineral ions. *Biochim Biophys Acta*, 1830, 2600-7.
- KOLAR, Z., GEIEROVA, M., BOUCHAL, J., PAZDERA, J., ZBORIL, V. & TVRDY, P. 2006. Immunohistochemical analysis of the biological potential of odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol Med*, 35, 75-80.
- KRAMER, I .1992 .The World Health Organization: histological typing of odontogenic tumours: an introduction to the second edition. *The Journal of the Dental Association of South Africa= Die Tydskrif van die Tandheelkundige Vereniging van Suid-Afrika*, 47, 208.
- KRAMER, I. R., PINDBORG, J. J. & SHEAR, M. 1992. The WHO Histological Typing of Odontogenic Tumours. A commentary on the Second Edition. *Cancer*, 70, 2988-94.
- KUMAMOTO, H. 2006. Molecular pathology of odontogenic tumors. *Journal of oral pathology & medicine*, 3,74-65 ,5
- KUMAMOTO, H., YOSHIDA, M. & OOYA, K. 2001. Immunohistochemical detection of amelogenin and cytokeratin 19 in epithelial odontogenic tumors. *Oral diseases*, 7, 171-176.
- KUMARAN, P. S., ANURADHA, V., GOKKULAKRISHNAN, S., THAMBIAH, L., JAGADISH, A. K. & SATHEESH, G. 2014. Ameloblastic carcinoma: A case series. *J Pharm Bioallied Sci*, 6, S208.11-

L

- LE NORCY, E., KWAK, S. Y., WIEDEMANN-BIDLACK, F. B., BENIASH, E., YAMAKOSHI, Y., SIMMER, J. P. & MARGOLIS, H. C. 2011. Leucine-rich amelogenin peptides regulate mineralization in vitro. *J Dent Res*, 90, 1091-7.
- LEE, S. K. & KIM, Y. S. 2013. Current concepts and occurrence of epithelial odontogenic tumors: I. Ameloblastoma and adenomatoid odontogenic tumor. *Korean J Pathol*, 47, 191-202.
- LEIDER, A. S., EVERSOLE, L. R. & BARKIN, M. E. 1985. Cystic ameloblastoma. A clinicopathologic analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 60, 624-30.
- LV, X., YANG, Y., HAN, S., LI, D., TU, H., LI, W., ZHOU, X. & ZHANG, L. 2015. Potential of an amelogenin based peptide in promoting remineralization of initial enamel caries. *Arch Oral Biol*, 60, 1482-7.

M

- MAKOWSKI, G. J., MCGUFF, S. & VAN SICKELS, J. E. 2001. Squamous cell carcinoma in a maxillary odontogenic keratocyst. *J Oral Maxillofac Surg*, 59, 76-80.
- MARTINEZ-AVILA, O., WU, S., KIM, S. J., CHENG, Y., KHAN, F., SAMUDRALA, R., SALI, A., HORST, J. A. & HABELITZ, S. 2012. Self-assembly of filamentous amelogenin requires calcium and phosphate: from dimers via nanoribbons to fibrils. *Biomacromolecules*, 13, 3494-502.
- MASICA, D. L., GRAY, J. J. & SHAW, W. J. 2011. Partial high-resolution structure of phosphorylated and non-phosphorylated leucine-rich amelogenin protein adsorbed to hydroxyapatite. *J Phys Chem C Nanomater Interfaces*, 115, 13775-13785.
- MASTHAN, K. M., ANITHA, N., KRUPAA, J. & MANIKKAM, S. 2015. Ameloblastoma. *J Pharm Bioallied Sci*, 7, S167-70.
- MATIJEVIC, S., DAMJANOVIC, Z. & CEROVIC, S. 2013. Early reconstruction of bone defect created after initial surgery of a large keratocystic odontogenic tumor: a case report. *Vojnosanit Pregl*, 70, 789-93.
- _ MAURETTE, P. E., JORGE, J. & DE MORAES, M. 2006. Conservative treatment protocol of odontogenic keratocyst: a preliminary study. *J Oral Maxillofac Surg*, 64, 379-83.
- MCCREA, S. 2009. Adjacent dentigerous cysts with the ectopic displacement of a third mandibular molar and supernumerary (forth) molar: a rare occurrence. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 107, e15-20.
- MELROSE, R. J. 1999. Benign epithelial odontogenic tumors. *Semin Diagn Pathol*, 16, 271-87.
- MENDENHALL, W. M., WERNING, J. W., FERNANDES, R., MALYAPA, R. S. & MENDENHALL, N. P. 2007. Ameloblastoma. *American journal of clinical oncology*, 30, 645-648.
- MENDES, R. A., CARVALHO, J. F. & VAN DER WAAL, I. 2010. Biological pathways involved in the aggressive behavior of the keratocystic odontogenic tumor and possible implications for molecular oriented treatment - an overview. *Oral Oncol*, 46, 19-24.
- MILMAN, T., YING, G.-S., PAN, W. & LIVOLSI, V. 2016. Ameloblastoma: 25 Year experience at a single institution. *Head and neck pathology*, 10, 513-520.
- MIRON, R. J., CHANDAD, F., BUSER, D., SCULEAN, A., COCHRAN, D. L. & ZHANG, Y. 2016. Effect of Enamel Matrix Derivative Liquid on Osteoblast and Periodontal Ligament Cell Proliferation and Differentiation. *J Periodontol*, 87, 91-9.
- MISHRA, R., TRIPATHI, A. M. & RATHORE, M. 2014. Dentigerous Cyst associated with Horizontally Impacted Mandibular Second Premolar. *Int J Clin Pediatr Dent*, 7, 54-7.
- MORADIAN-OLDAK, J. 2012. Protein-mediated enamel mineralization. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 17, 1996-2023.
- MORI, M., YAMADA, K., KASAI, T., YAMADA, T., SHIMOKAWA, H. & SASAKI, S. 1991. Immunohistochemical expression of amelogenins in odontogenic epithelial tumours and cysts. *Virchows Archiv*, 418, 319-325.

- MORTAZAVI, H. & BAHARVAND, M. 2016. Jaw lesions associated with impacted tooth: A radiographic diagnostic guide. *Imaging Sci Dent*, 46, 147-57.
- MOURA, B. S., CAVALCANTE, M. A. & HESPANHOL, W. 2016. Keratocystic odontogenic tumor. *Rev Col Bras Cir*, 43, 466-471.
- MYOUNG, H., HONG, S. P., HONG, S. D., LEE, J. I., LIM, C. Y., CHOUNG, P. H., LEE, J. H., CHOI, J. Y., SEO, B. M. & KIM, M. J. 2001. Odontogenic keratocyst: Review of 256 cases for recurrence and clinicopathologic parameters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 91, 328-33.

N

- NAGANO, T., KAKEGAWA, A., YAMAKOSHI, Y., TSUCHIYA, S., HU, J. C., GOMI, K., ARAI, T., BARTLETT, J. D. & SIMMER, J. P. 2009. Mmp-20 and Klk4 cleavage site preferences for amelogenin sequences. *J Dent Res*, 88, 823-8.
- NAIR, P. P., BHAT, G. R., NEELAKANTAN, S. & CHATTERJEE, R. 2013. Desmoplastic ameloblastoma of mandible. *BMJ Case Rep*, 2013.
- NANCI, A. 2012. *Ten Cate's Oral Histology Development, Structure, and Function*, 8/e, Elsevier India.
- NARUSE, T., YAMASHITA, K., YANAMOTO, S., ROKUTANDA, S., MATSUSHITA, Y., SAKAMOTO, Y., SAKAMOTO, H., IKEDA, H., IKEDA, T., ASAHINA, I. & UMEDA, M. 2017. Histopathological and immunohistochemical study in keratocystic odontogenic tumors: Predictive factors of recurrence. *Oncol Lett*, 13, 3487-3493.
- NDAO, M., DUTTA, K., BROMLEY, K. M., LAKSHMINARAYANAN, R., SUN, Z., REWARI, G., MORADIAN-OLDAK, J. & EVANS, J. S. 2011. Probing the self-association, intermolecular contacts, and folding propensity of amelogenin. *Protein Sci*, 20, 724-34.

O

- OKAMOTO, E., KIKUCHI, K., MIYAZAKI, Y., GONZALEZ-ALVA, P., OKU, Y., TANAKA, A., YOSHIDA, N., FUJINAMI, M., IDE, F., SAKASHITA, H. & KUSAMA, K. 2010. Significance of podoplanin expression in keratocystic odontogenic tumor. *J Oral Pathol Med*, 39, 110-4.
- OLIVEIRA, M. D., SOUZA, L. B., PINTO, L. P. & FREITAS RDE, A. 2002. [Immunohistochemical study of components of the basement membrane in odontogenic cysts]. *Pesqui Odontol Bras*, 16, 157-62.

P

- PAIKKATT, V. J., SREEDHARAN, S. & KANNAN, V. P. 2007. Unicystic ameloblastoma of the maxilla: a case report. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 25, 106-10.
- PAINE, M. L., ZHU, D. H., LUO, W. & SNEAD, M. L. 2004. Overexpression of TRAP in the enamel matrix does not alter the enamel structural hierarchy. *Cells Tissues Organs*, 176, 7-16.

- PAUL, R., PAUL, G., PRASAD, R. K., SINGH, S., AGARWAL, N. & SINHA, A. 2013. Appearance can be deceptive: Dentigerous cyst crossing the midline. *Natl J Maxillofac Surg*, 4, 100-3.
- PIATTELLI, A., FIORONI, M., SANTINELLI, A. & RUBINI, C. 2001. P53 protein expression in odontogenic cysts. *J Endod*, 27, 459-61.
- POGREL, M. A. & MONTES, D. M. 2009. Is there a role for enucleation in the management of ameloblastoma? *Int J Oral Maxillofac Surg*, 38, 807-12.
- PRASAD, M. K., LAQUINA, S., EL ALLOUSSI, M., DOLLFUS, H. & BLOCH-ZUPAN, A. 2016. Amelogenesis Imperfecta: 1 Family, 2 Phenotypes, and 2 Mutated Genes. *J Dent Res*, 95, 14.1463-57
- PREMALATHA, B. R., PATIL, S., RAO, R. S., REDDY, N. P. & INDU, M. 2013. Odontogenic tumor markers - an overview. *J Int Oral Health*, 5, 59-69.

R

- RAGUNATHAN, Y. T., MADHAVAN, N. R., MOHAN, S. P. & KUMAR, S. K. 2016. Immunohistochemical Detection of p 75Neurotrophin Receptor (p75-NTR) in Follicular and Plexiform Ameloblastoma. *J Clin Diagn Res*, 10, ZC63-6.
- RAMESH, R. S., MANJUNATH, S., USTAD, T. H., PAIS, S. & SHIVAKUMAR, K. 2010. Unicystic ameloblastoma of the mandible--an unusual case report and review of literature. *Head Neck Oncol*, 2, 1.
- RASTOGI, V., PANDILWAR, P. K. & MAITRA, S. 2010. Ameloblastoma: an evidence based study. *Journal of maxillofacial and oral surgery*, 9, 173-177.
- REGEZI, J. A. 2002. Odontogenic cysts, odontogenic tumors, fibroosseous, and giant cell lesions of the jaws. *Mod Pathol*, 15, 331-41.
- REN, C., AMM, H. M., DEVILLIERS, P., WU, Y., DEATHERAGE, J. R., LIU, Z. & MACDOUGALL, M. 2012. Targeting the sonic hedgehog pathway in keratocystic odontogenic tumor. *Journal of Biological Chemistry*, 287, 27117-27125.
- REN, C., DINIZ, M., PIAZZA, C., AMM, H., ROLLINS, D., RIVERA, H., DEVILLIERS, P., KESTLER, D., WAITE, P. & MAMAEVA, O. 2011. Differential enamel and osteogenic gene expression profiles in odontogenic tumors. *Cells Tissues Organs*.301-296 ,194 ,
- RIZZITELLI, A., SMOLL, N. R., CHAE, M. P., ROZEN, W. M. & HUNTER-SMITH, D. J. 2015. Incidence and overall survival of malignant ameloblastoma. *PLoS One*, 10, e0117789.
- ROBINSON, J. 2006. *Ordinary cities: between modernity and development*, Psychology Press.
- RUAN, Q. & MORADIAN-OLDAK, J. 2015. Amelogenin and Enamel Biomimetics. *J Mater Chem B Mater Biol Med*, 3, 3112-3129.

S

- SAKU, T., OKABE, H. & SHIMOKAWA, H. 1992. Immunohistochemical demonstration of enamel proteins in odontogenic tumors. *Journal of oral pathology & medicine*, 21, 113-119.

- SALIDO, E. C., YEN, P. H., KOPRIVNIKAR, K., YU, L. C. & SHAPIRO, L. J. 1992. The human enamel protein gene amelogenin is expressed from both the X and the Y chromosomes. *Am J Hum Genet*, 50, 303-16.
- SANII, B., MARTINEZ-AVILA, O., SIMPLICIANO, C., ZUCKERMANN, R. N. & HABELITZ, S. 2014. Matching 4.7-Å XRD spacing in amelogenin nanoribbons and enamel matrix. *J Dent Res*, 93, 918-22.
- SARKAR, L., COBOURNE, M., NAYLOR, S., SMALLEY, M., DALE, T. & SHARPE, P. T. 2000. Wnt/Shh interactions regulate ectodermal boundary formation during mammalian tooth development. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97, 4520-4.
- SAWADA, T. & NANJI, A. 1995. Spatial distribution of enamel proteins and fibronectin at early stages of rat incisor tooth formation. *Arch Oral Biol*, 40, 1029-38.
- SCHROHL, A. S., HOLTEN-ANDERSEN, M., SWEEP, F., SCHMITT, M., HARBECK, N., FOEKENS, J., BRUNNER, N., EUROPEAN ORGANISATION FOR, R., TREATMENT OF CANCER, R. & BIOMARKER, G. 2003. Tumor markers: from laboratory to clinical utility. *Mol Cell Proteomics*, 2, 378-87.
- SEINTOU, A., MARTINELLI-KLAY, C. P. & LOMBARDI, T. 2014. Unicystic ameloblastoma in children: systematic review of clinicopathological features and treatment outcomes. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 43, 405-12.
- SHAFIEI, F., HOSSEIN, B. G., FARAJOLLAHI, M. M., FATHOLLAH, M., MARJAN, B. & TAHEREH, J. K. 2015. Leucine-rich amelogenin peptide (LRAP) as a surface primer for biomimetic remineralization of superficial enamel defects: An in vitro study. *Scanning*, 37, 17.85-9
- SINGH, G., AGARWAL, R., KUMAR, V. & PASSI, D. 2013. Acanthomatous ameloblastoma- a case report. *J Int Oral Health*, 5, 54-8.
- SMITH, C. E. 1998. Cellular and chemical events during enamel maturation. *Crit Rev Oral Biol Med*, 9, 128-61.
- SNEAD, M. L., LUO, W., HSU, D. D., MELROSE, R. J., LAU, E. C. & STENMAN, G. 1992. Human ameloblastoma tumors express the amelogenin gene. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology*, 74, 64-72.
- SOLUK TEKESIN, M., TUNA, E. B., OLGAC, V., AKSAKALLI, N. & ALATLI, C. 2016. Odontogenic lesions in a pediatric population: Review of the literature and presentation of 745 cases. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 86, 196-9.
- SRIDEVI, K., KAUSHIK, A., RAMASWAMY, P., MANJULA, M., VINOD, V. C. & ARAVINDA, K. 2015. Dentigerous Cysts of Maxillofacial Region- Clinical, Radiographic and Biochemical Analysis. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)*, 13, 8-11.
- STAHL, J., NAKANO, Y., HORST, J., ZHU, L., LE, M., ZHANG, Y., LIU, H., LI, W. & DEN BESTEN, P. K. 2015. Exon4 amelogenin transcripts in enamel biomineralization. *J Dent Res*, 94, 836-42.

- STAHL, J., NAKANO, Y., KIM, S. O., GIBSON, C. W., LE, T. & DENBESTEN, P. 2013. Leucine rich amelogenin peptide alters ameloblast differentiation in vivo. *Matrix Biol*, 32, 432-42.
- STOELINGA, P. J. 2003. Etiology and pathogenesis of keratocysts. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 15, 317-24.
- SUZUKI, M., NAGAO, K., HATSUSE, H., SASAKI, R., SAITO, K., FUJII, K. & MIYASHITA, T. 2013. Molecular pathogenesis of keratocystic odontogenic tumors developing in nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 116, 348-53.

T

- TAKATA, T., ZHAO, M., UCHIDA, T., KUDO, Y., SATO, S. & NIKAI, H. 2000. Immunohistochemical demonstration of an enamel sheath protein, sheathlin, in odontogenic tumors. *Virchows Archiv*, 436, 324-329.
- TARASEVICH, B. J., PHILO, J. S., MALUF, N. K., KRUEGER, S., BUCHKO, G. W., LIN, G. & SHAW, W. J. 2015. The leucine-rich amelogenin protein (LRAP) is primarily monomeric and unstructured in physiological solution. *J Struct Biol*, 19, 91-81 ,0
- TAYLOR, A. M. 2008. New findings and controversies in odontogenic tumors. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 13, E555-E558.
- TERMINE, J. D., BELCOURT, A. B., CHRISTNER, P. J., CONN, K. M. & NYLEN, M. U. 1980. Properties of dissociatively extracted fetal tooth matrix proteins. I. Principal molecular species in developing bovine enamel. *J Biol Chem*, 255, 9760-8.
- TOYOSAWA, S., FUJIWARA, T., OOSHIMA, T., SHINTANI, S., SATO, A., OGAWA, Y., SOBUE, S. & IJUHIN, N. 2000. Cloning and characterization of the human ameloblastin gene. *Gene*, 256, 1-11.

U

- USKOKOVIC, V. 2015. Amelogenin in Enamel Tissue Engineering. *Adv Exp Med Biol*, 881, 237-54.

V

- VEIS, A. 2003. Amelogenin gene splice products: potential signaling molecules. *Cell Mol Life Sci*, 60, 38-5.5
- VERED, M., PELEG, O., TAICHER, S. & BUCHNER, A. 2009. The immunoprofile of odontogenic keratocyst (keratocystic odontogenic tumor) that includes expression of PTCH, SMO, GLI-1 and bcl-2 is similar to ameloblastoma but different from odontogenic cysts. *J Oral Pathol Med*, 38, 597-604.

W

- WEN, H. B., FINCHAM, A. G. & MORADIAN-OLDAK, J. 2001. Progressive accretion of amelogenin molecules during nanospheres assembly revealed by atomic force microscopy. *Matrix Biol*, 20, 387-95.

Y

- YAMUNADEVI, A., MADHUSHANKARI, G .S., SELVAMANI, M., BASANDI, P. S., YOITHAPPRABHUNATH, T. R. & GANAPATHY, N. 2014. Granularity in granular cell ameloblastoma. *J Pharm Bioallied Sci*, 6, S16-20.
- YANG, X., WANG, L., QIN, Y., SUN, Z., HENNEMAN, Z. J., MORADIAN-OLDAK, J. & NANCOLLAS, G. H. 2010. How amelogenin orchestrates the organization of hierarchical elongated microstructures of apatite. *J Phys Chem B*, 114, 2293-300.
- YOSHIDA, M., KUMAMOTO, H., OOYA, K. & MAYANAGI, H. 2003. Immunohistochemical Analysis of Benign Mixed and Mesenchymal Odontogenic Tumors. *Oral Medicine & Pathology*, 8, 125-132.

Z

- ZHANG, H., TOMPKINS, K ., GARRIGUES, J., SNEAD, M. L., GIBSON, C. W. & SOMERMAN, M. J. 2010. Full length amelogenin binds to cell surface LAMP-1 on tooth root/periodontium associated cells. *Arch Oral Biol*, 55, 417-25.

قائمة الاختصارات :

المصطلح باللغة العربية	المصطلح باللغة الإنكليزية	الاختصار
تشكل المينا المعيب	Amelogenesis Imperfecta	AI
بروتين الأميلوجينين	Amelogenin Protein	AMEL
مورثة الأميلوجينين على الصبغي X	Amelogenin X-Linked	AMELX
مورثة الأميلوجينين على الصبغي Y	Amelogenin Y-Linked	AMELY
مشتقات بروتينات القلب المينائي	Enamel Matrix Protein Derivatives	EMD
بروتينات القلب المينائي	Enamel Matrix Proteins	EMPs
بقايا ملاسيه البشرية	Epithelial Rest of Malassez	ERM
بقايا سيرس البشرية	Epithelial Rests of Serres	ERS
بلورات الهيدروكسي أباتيت	Hydroxyapatite Crystals	HAP
غمد هرتفغ البشري الجذري	Hertwigs Epithelial Root Sheath	HERS
الورم الكيسي المتقرن سني المنشأ	Keratocystic Odontogenic Tumour	KCOT
كاليكرين - ٤	Kallikrein-4	KLK-4
مستقبل البروتين المرتبط بالغشاء الخلية	Lysosome Associated Membrane Protein	LAMP
ببتيد الأميلوجينين الغني بالليوسين	Leucin- Rich Amelogenin Peptide	LRAP
البروتينات الحالة للقلب - ٢٠ (الإنماميليسين)	(Matrix Metalloprotease-20 Enamelysin)	MMP-20
متلازمة السرطان قاعدي الخلايا المشبه بالوحمي	Nevoid Basal Cell Carcinoma Syndrome	NBCCS
ببتيد الأميلوجينين الغني بالتيروزين	Tyrosine - Rich Amelogenin Peptide	TRAP

الملخص:

الملخص باللغة العربية :

المقدمة: تعد الأميلوجينينات البروتينات المينائية الرئيسية التي تلعب الدور الرئيسي في التمدن الحيوي وتنظيم الهيكل للميناء، وقد أُعتقد بأن الخلل في البروتينات المينائية يساهم في التكون الورمي على حساب البشرة سنية المنشأ. ويمكن أن تشير تعبيرية بروتين الأميلوجينين إلى تمايز الخلايا البشرية في الأوقات سنية المنشأ.

الهدف من البحث : التحقق من تعبيرية بروتين الأميلوجينين في بعض الآفات سنية المنشأ باستخدام جسم مضاد متعدد النسائل للأميلوجينين، ومقارنة تعبيريتها مع تعبيرية الأميلوجينين في البراعم الأسنان كعينة شاهدة، للتحقق من دور الأميلوجينين في عملية التمايز والتشخيص.

المواد و الطرائق : تألفت العينة من ١٠ عينة مثبتة بالفورمول ومدمجة بالبارافين لورم مصورات الميناء، و ١٠ أخرى من الورم الكيس المتقرن سني المنشأ و ١٠ للكيس التاجي و ١٠ للبراعم الأسنان، والتي لونت تقليدياً "الهيماتوكسيلين - إيوزين ومناعي" بالضد متعدد النسيلة للأميلوجينين (AMEL).

النتائج : تبين بأن تعبيرية الأميلوجينين في كل من ورم مصورات الميناء والورم الكيسي المتقرن سني المنشأ منخفضة، بينما كانت تعبيرية الأميلوجينين مرتفعة في الكيس التاجي مقارنة بتعبيرية AMEL في البراعم السنية، وقد وُجد أن هناك فروقاً دالة إحصائية بين الأورام والبراعم السنية. يدل انخفاض تعبيرية الأميلوجينين في خلايا ورم مصورات الميناء والورم الكيسي المتقرن سني المنشأ على أنها لم تصل لكامل التمايز، وهذا يتوافق مع الطبيعة الورمية والسلوك السريري العدوانى لهما. بينما كانت خلايا بشرة الكيس التاجي أكثر تمايزاً ونضجاً والسلوك العدوانى بالتالي أقل.

الخلاصة : بينت الدراسة بأن بروتين الأميلوجينين يستخدم كواسم لتحديد البشرة سنية المنشأ، و التعبير عن الاميلوجينين قد يكون مؤشراً على تمايز الخلايا البشرية في الأوقات سنية المنشأ، وبالتالي التنبؤ عن السلوك البيولوجي للآفات سنية المنشأ.

الكلمات المفتاحية : ورم مصورات الميناء ، الورم الكيسي المتقرن سني المنشأ، الكيس التاجي، بروتين الأميلوجينين، التكون الورمي .

Abstract:

Abstract: Amelogenins are the major enamel proteins that play a major role in the biomineralization and structural organization of enamel, Aberrations of enamel-related proteins are thought to be involved in oncogenesis of odontogenic epithelium. The expression of amelogenin is possibly an indicator of differentiation of epithelial cells in the odontogenic lesions.

Aim of the study: Investigate the expression of amelogenin in odontogenic lesions, using an anti amelogenin polyclonal antibody, and compare it with AMEL expression in tooth buds as control, Investigate of role AMEL in differentiation and diagnosis.

Materials & Methods: The sample consisted of 10 formalin-fixed, paraffin-embedded specimens of ameloblastoma, 10 other of Keratocystic odontogenic tumour ,10 dentigerous cyst and 10 tooth buds were conventionally stained with H&E and immunohistochemically stained with AMEL polyclonal antibody.

Results: The expression of AMEL in ameloblastoma and keratocystic odontogenic tumour was low, while AMEL expression in dentigerous cyst was high compared with AMEL expression in tooth buds as control, Statistical analysis indicate significant differences between the expression in tumors and tooth buds. The low expression in ameloblastoma and Keratocystic odontogenic tumours' cells reflected the fact that cells aren't differentiated and that agree with this tumors natur and the aggressive clinical behaviors of both, while dentigerous cyst was more differentiated and maturated and has less aggressive behavior.

Conclusion: This study has concluded that Amelogenin protein be used as a marker for odontogenic epithelium, and the expression of amelogenin is possibly an indicator of epithelial cells differentiation in the odontogenic lesions, and therefore in prediction of the histological behavior of odontogenic lesions.

Keywords: Ameloblastoma, Keratocystic odontogenic tumour, Dentigerous cyst, Amelogenin protein, Oncogenesis.

الملحق:

Appendix



قبول نشر بحث
طالب دراسات عليا

الرقم: ٤٤٦

التاريخ: ١٤ / ١١ / ٢٠١٧

صفا زكريا

إلى طالب الدراسات العليا

جامعة: دمشق

كلية: طب الأسنان

نود إعلامكم بقبول بحثكم الموسوم:

تعبيرية الأملوجينين في كل من ورم مصورات

الميناء والكيس التاجي

للنشر في مجلة جامعة البعث بالمجلد 39 لعام 2017

بالمشاركة مع السيد الدكتور: معدوح المحارب

بعد أن تم تحكيمه من قبل مختصين.

نشكر لكم هذه المساهمة الطيبة ونتطلع إلى استمرار تواصلكم مع مجلتنا ومدها بما لديكم من جديد
والاطلاع على الأبحاث المنشورة في المجلة على موقع المجلة والرابط المدونين في أسفل الصفحة.

موقع الجامعة www.albaath-univ.edu.sy والرابط magazine@albaath-univ.edu.sy

رئيس تحرير مجلة جامعة البعث للعلوم الطبية
والهندسية الأساسية والتطبيقية



الطرائق الإحصائية التي تم استخدامها في تحليل البيانات هي :

١- اختبار Kruskal-Wallis:

وهو عبارة عن اختبار يُستخدم لدراسة دلالة الفروق في متغيرات من النوع الفئوي المتدرج عادةً بين أكثر من مجموعتين اثنتين وهو اختبار لا وسيطي ، يستخدم عندما مجتمعات العينات لا تتوزع طبيعياً، وينتمي هذا الاختبار إلى ما يسمى الاختبارات اللابارامترية Non-parametric Tests وهو يعتمد على مفهوم الرتب RANKS وعلى قيمة كاي مربع في تقرير قبول الفرضية أو رفضها. ويعد هذا الاختبار مناسب عندما تكون العينات صغيرة الحجم .

نستخدم في هذا الاختبار القيمة المقدرة لمستوى الدلالة التي عادة ما تسمى في الكتب الإحصائية بـ $P - value$ ، وهي عبارة عن احتمال الحصول على قيمة كاي مربع الناتجة (أو احتمال أن تكون المجموعات قد سحبت من مجتمع إحصائي واحد). والحقل الذي يحتوي على قيمة مستوى الدلالة هو الحقل الأساس في تقرير فيما إذا كانت الفرضية المطروحة (فرضية عدم وجود فروق ذات دلالة إحصائية) محققة أم لا، فعندما نعتمد مستوى الثقة ٩٥% ، فإننا ننظر في قيمة مستوى الدلالة هذا، فإذا كان يساوي أو أقل من ٠,٠٥ فإننا نقرر عدم تحقق الفرضية (فرضية العدم، أي عدم وجود فروق دالة)، ونقرر وجود الفروق الإحصائية بين اثنتين من المجموعات المدروسة على الأقل، والعكس بالعكس.

٢- اختبار Mann-Whitney U : (مان وتني)

وهو عبارة عن اختبار لا وسيطي يستخدم لدراسة دلالة الفروق بين مجموعتين اثنتين في متغيرات من النوع الفئوي المتدرج أيضاً وهو يعتمد على مفهوم الرتب RANKS ، يعد هذا الاختبار مناسباً عندما لا تحقق البيانات شرط التوزيع الطبيعي وعندما تكون العينات صغيرة ، وفي حال كون البيانات اسمية أو ترتيبية أو نسبية ، ويعتمد هذا الاختبار على قيمة U المحسوبة وتعتمد على القيمة المقدرة لمستوى الدلالة في تقرير قبول الفرضية أو رفضها (أي أنه تتم مقارنة القيمة المقدرة لمستوى الدلالة مع القيمة ٠,٠٥ عندما يكون مستوى الثقة المحدد ٩٥%)، فإذا كانت قيمة مستوى الدلالة هذه أصغر من القيمة ٠,٠٥ نستنتج وجود فروق دالة إحصائية بين المجموعتين المدروستين والعكس بالعكس).

٣- تحليل التباين أحادي الجانب One-Way ANOVA:

يستخدم اختبار تحليل التباين أحادي الجانب ANOVA للمقارنة في التباين بين أكثر من مجموعتين من القيم (المتغيرات بارامترية ذات توزيع طبيعي - أي تلك المتغيرات التي نستطيع حساب متوسط حسابي له معنى لها) أي مقارنة معيار معين بين عدة مجموعات منفصلة ، إذ تحسب قيمة المعنوية ($P=$ value) من إحصاء الاختبار (f) ثم مقارنتها بالقيمة ($a=0.05$) ، فعندما نعلم مستوى الثقة ٩٥% فإذا كان قيمة مستوى الدلالة يساوي أو أقل من ٠,٠٥ ، فإننا نقرر عدم تحقق الفرضية (فرضية العدم، أي عدم وجود فروق دالة بين المتوسطات)، ونقرر وجود الفروق الإحصائية بين اثنتين على الأقل من المجموعات المدروسة على الأقل، والعكس بالعكس.

٤- طريقة Bonferroni لإجراء المقارنات الثنائية بين المتوسطات:

وهي طريقة للمقارنة الثنائية بين المجموعات المدروسة (أي للمقارنة بين كل زوج من متوسطات المتغير المدروس على حدة)، وتعتبر اختباراً بعدياً Post-Hoc Test يلي اختبار تحليل التباين ANOVA في حال تم رفض فرضية العدم المختبرة فيه لاكتشاف أي من المتوسطات يختلف اختلافاً جوهرياً عن المتوسطات الأخرى. وهو يعتمد من حيث المبدأ على اختبار T ستيودنت المعروف ولكن مع إدخال عامل تصحيح (وعامل التصحيح يساوي عدد المقارنات الثنائية المُجرَاة) نظراً لأن المقارنة تتم بين أكثر من مجموعتين اثنتين في الاختبار الذي يسبقه (أي اختبار تحليل التباين ANOVA).

٥- اختبار كاي مربع Chi Square Test:

هو عبارة عن اختبار من الاختبارات المسماة الاختبارات اللابارامترية Non-parametric Tests (أي الاختبارات التي لا نستطيع حساب بارمتر أو معلم لها مثل المتوسط الحسابي والانحراف المعياري) واختبار كاي مربع أنواع عديدة، منها اختبار يستخدم لمعرفة إذا كان هناك استقلالية ما بين متغيرين مدروسين، وهو يعتمد على حساب نسبة تكرار حدوث ظاهرة ما في مجموعة أولى مقارنة بتكرارات حدوث الظاهرة نفسها في مجموعة أو مجموعات أخرى ، ويظهر في الجدول الخاص بهذا الاختبار قيمة كاي مربع وقيمة مقدرة لمستوى الدلالة P-Value ، وقيمة مستوى الدلالة تُستخدم للإقرار فيما إذا كان المتغيران مستقلان أو

مرتبطان، فعند مستوى الثقة ٩٥% نقارن قيمة مستوى الدلالة مع القيمة ٠,٠٥، فإذا كانت أصغر منها أو تساويها فإننا نقرر أن المتغيرين مرتبطان ببعضهما ونقرر وجود الفروق الدالة بين المجموعات المدروسة في التكرارات. إن اختبار كاي مربع يسمح لنا بمعرفة استقلال أو ارتباط متغيرين ببعضهما ولكنه لا يعطينا أية معلومات عن اتجاه وشدة هذه العلاقة لذلك نلجأ لجداول التكرارات والنسب المئوية لتقرير طبيعة الفروقات الحاصلة إن وجدت.