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

تحري تعبيرية كل من عامل النمو الوعائي البطاني والبروتين الحال للقالب العضوي-9 في بعض الآفات سنية المنشأ

Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Matrix Metalloproteinase-9 in some Odontogenic Lesions

مخطط بحث علمي أعدَّ لنيل درجة الماجستير في علوم طب الأسنان الأساسية
اختصاص النسج والتشريح المرضي الخاص بالفم والأسنان

إعداد الباحثة :

رهام محمد هيثم الصفدي

إشراف :

المدرس الدكتور : ممدوح إبراهيم المحارب

قسم النسج والتشريح المرضي

طب الأسنان – جامعة دمشق

2018

بسم الله الرحمن الرحيم

الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

قرار مجلس البحث العلمي والدراسات العليا رقم / ٣٢١٦/ المتخذ
بالجلسة رقم /٢٥/ تاريخ ٢٠١٨/٨/٢٧

اطلع مجلس البحث العلمي والدراسات العليا على قرار مجلس كلية طب الأسنان رقم /٧٥٦/ تاريخ ٢٠١٨/٨/٧

وبعد الرجوع إلى اللائحة التنفيذية لقانون تنظيم الجامعات الصادرة بالمرسوم /٢٥٠/ لعام ٢٠٠٦ .

قرار مجلس جامعة دمشق رقم /٢٤٩٩/ص.م تاريخ ٢٠١٧/٧/٩ بشأن الموافقة على تسجيل رسالة الطالبة

وبنتيجة المذاكرة قرر مجلس البحث العلمي والدراسات العليا :

الموافقة على تأليف لجنة الحكم على رسالة الماجستير في قسم النسج والتشريح المرضي للفم والأسنان التي أعدتها الطالبة **رهام الصفدي** بعنوان : ((تحري تعبيرية كل من عامل النمو البطاني الوعائي والبروتين الحال للقالب العضوي ٩ في بعض الآفات سنية المنشأ)) بكلية طب الأسنان من السادة الأساتذة :

د. عمر أحمد حشمة	الأستاذ في قسم جراحة الفم والفكين	
جامعة دمشق	الاختصاص : جراحة الفم والفكين	كلية طب الأسنان
د. شريف بركات	الأستاذ في قسم النسج والتشريح المرضي للفم والأسنان	عضواً
جامعة دمشق	الاختصاص:النسج والتشريح المرضي	كلية طب الأسنان
د.ممدوح المحارب	المدرس في قسم النسج والتشريح المرضي للفم والأسنان	عضواً
جامعة دمشق	الاختصاص:النسج والتشريح المرضي	كلية طب الأسنان
		عضواً مشرفاً

وذلك وفق ما هو وارد في قرار مجلس الكلية آنف الذكر،،،

ملاحظة: يرجى إرسال نسخة عن الإعلان الخاص بتحديد موعد المناقشة فور صدوره إلى مكتب نائب رئيس الجامعة لشؤون البحث العلمي والدراسات العليا.

تصريح

لا يوجد أيّ جزءٍ من هذه الأطروحة تمّ أخذه بالكامل من عملٍ آخر، أو أنجِز للحصول على شهادةٍ أخرى في هذه الجامعة، أو في أيّة جامعةٍ أخرى، أو أيّ معهدٍ تعليميّ.

كلمة الإهداء

إلى من غاب عن دربي....ولكن ذكراه تنير قلبي ....أبي رحمه الله

إلى من كان دعائها سر نجاحي ....وحنانها بلسم جراحي ..... أمي

إلى من جسّد الحب كله فكان لي السند والعطاء .....زوجي

إلى العينين التي استمد منهم قوتي....القلب الطاهر والنفس البريئة....أطفالي جنى وكريم

إلى من أعيش معهم حاضري وذكرياتي....بسمة حياتي.... إخوتي

إلى من احتضنني بالمحبة وشعرت معهم بالسعادة والأمان .....عائلة زوجي

بكم أشرقت حياتي وأضيء طريقي ..حفظكم الله وأدامكم لي

كلمة شكر

أحمد الله وأشكره على نعمه كلّها ظاهرها وباطنها ما علمتُ منها وما لم أعلم.

أتقدم بجزيل الشكر ووافره، وكل الاحترام لأستاذي المشرف **المدرس الدكتور ممدوح المحارب** الذي لم يبخل عليّ بوقتٍ أو جهد، وكان عوناً لي حتى إتمام هذا البحث، وقدَّم لي الكثير... فجزاه الله عني كل خير.

كما أشكر لجنة التحكيم؛ الأستاذ الدكتور عمر حشمة رئيس قسم جراحة الوجه والفكين الذي شرفني بقبول المشاركة في تحكيم هذه الأطروحة، والأستاذ الدكتور شريف بركات على مساندته لي وإغناء هذا البحث بملاحظاته القيمة

وأتقدم بالشكر الجزيل **للأستاذ الدكتور أحمد المنديلي رئيس قسم النسج والتشريح المرضي**، الذي له الدورُ الأكبر في زرع محبة هذا القسم في قلوبنا منذ بداية مسيرتنا الجامعية

ولن أنسى من الشكر والامتنان **الأستاذ الدكتور نبيل قوشجي عميد كلية طب الأسنان جامعة الشام الخاصة** لتقديمه العون لي ومساعدته في جمع العينة،

كما أتوجه بجزيل الشكر لإدارة كلية طب الأسنان ممثلة **بالأستاذ الدكتور محمد سالم الركاب** عميد كلية طب الأسنان، **والأستاذ المساعد الدكتورة رانيا حداد** نائب عميد كلية طب الأسنان للشؤون العلمية، و**الأستاذ الدكتور المساعد أسامة الجبان** نائب عميد كلية طب الأسنان للشؤون الإدارية.

ولن أنسى من الشّكر والاعتراف بالفضل للسيد **ناصر كتابي** (العم أبو جمال) الناصح والموجّه والأب لطلاب قسم النسج والتشريح المرضي ولمساعدته القيّمة في تحضير العينة وتلوينها.

كما أشكر زميلاتي وزملائي في كلية طب الأسنان وقسم النسج والتشريح المرضي والذين كانوا عوناً لي في إنجاز القسم العملي والنظري لهذا البحث فلكم مني كل الاحترام.

قائمة المحتويات

قائمة المحتويات **6**

قائمة الجداول **10**

قائمة الأشكال التوضيحيّة **11**

قائمة المُخطّطات البيانيّة **13**

المقدّمة **15**

أهداف البحث **18**

الباب الأول المراجعة النظريّة **20**

أولاً: ورم مصورات الميناء Ameloblastoma 21

1-1: تعريف الورم ومنشؤه: 21

1-2: الآلية الإمراضية: 21

1-3: الأنماط السريرية: 22

1-3-1 ورم مصورات الميناء متعدد الأكياس أو الصلد (داخل العظمي)

solid or multicystic ameloblastoma (Intraosseous): 23

ثانياً: المظاهر الشعاعية: 24

ثالثا: المظاهر النسيجية: 24

1-النموذج الجرابي follicular pattern: 24

2- النموذج الضفيري plexiform pattern: 25

3- النموذج الشائك acanthomatous pattern: 25

4-نموذج قاعدي الخلايا basal cell pattern: 26

5- النموذج الحبيبي granular pattern: 26

رابعاً: العلاج والإنذار: 27

1-3-2 ورم مصورات الميناء وحيد الكيس unicystic ameloblastoma: 28

المعالجة والإنذار: 29

1-3-3 ورم مصورات الميناء المحيطي (خارج العظمي)

Peripheral ameloblastoma (Extraosseaus): 30

1-3-4 ورم مصورات الميناء نمط فرط التصنع الليفي Desmoplastic ameloblastoma: 31

1-4: ورم مصورات الميناء الخبيث Malignant Ameloblastoma وسرطان ذو الخلايا مصورات الميناء Ameloblastic carcinoma : 31

ثانياً: الكيس التاجي DENTIGEROUS CYST: 32

2-1 آلية تشكل الكيس: 33

2-2 المظاهر السريرية: 33

2-3 المظاهر الشعاعية: 34

2-4 المظاهر النسيجية : 34

2-5 العلاج: 35

ثالثاً: الواسمات الجزيئية المعبر عنها في الآفات سنية المنشأ: 35

3-1 واسمات جزيئية معبِّر عنها في ورم مصورات الميناء: 37

رابعاً: البروتينات الحالة للقالب العضوي Matrix Metalloproteinases (MMPs): 40

4-1 البروتين الحال للقاب العضوي-9 Matrix Metalloproteinase-9 : 43

4-2 التركيب : 43

4-3 الوظيفة: 45

4-4 مثبطات البروتينات الحالة للقالب العضوي tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs): 49

خامساً: عامل النمو الوعائي البطاني Vascular Endothelail Growth Factor (VEGF): 51

5-1 أهمية عامل النمو الوعائي البطاني: 52

5-2 وظائف ال VEGF الفيزيولوجية: 52

5-3 عائلة عامل النمو الوعائي البطاني: 53

1- عامل النمو الوعائي البطاني-A VEGF-A: 54

2-عامل النمو الوعائي البطاني نمط -B VEGF-B: 55

3-عامل النمو الوعائي البطاني-C VEGF-C: 56

4-عامل النمو الوعائي البطاني -D VEGF-D: 56

5-عامل النمو الوعائي البطاني- E VEGF-E: 57

6-عامل النمو الوعائي البطاني-F VEGF-F: 57

7-عامل النمو المشيمي Placental growth factor: 57

5-4 مســــــــتقبلات عامل النمو الوعائي البطاني VEGF Recepters 58

VEGFR-1 58

VEGFR-2 59

VEGFR-3 59

5-5 دراسات سابقة درست تعبيرية ال VEGF في آفات مرضية داخل الحفرة الفموية: 62

الباب الثاني مواد البحث وطرائقه 65

2-1 وصف العينة: 66

2-2 مواد البحث: 67

2- 4 الأجهزة المستخدمة: 68

2-5 طريقة العمل : 71

2-5-1 طريقة التلوين التقليدي بالهيماتوكسيلين والإيوزين : 71

2-5-2 طريقة التلوين المناعي: 72

البروتوكول المناعي المتبع: (VEGF + MMP-9) 73

2-5-3 تقييم العينة المدروسة: 76

2-5-4 طريقة العد وتفسير البيانات: 77

2-5-5 الاختبارات الإحصائية المستخدمة: 77

الباب الثالث : النتائج والدراسة الإحصائية 80

3-1 وصف العينة 81

3-2 المتغير الأول : قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF 82

3-2-1 المجموعة الأولى : ورم مصورات الميناء 82

3-2-2 المجموعة الثانية : الكيس التاجي. 85

3-3 المتغير الثاني: قيمة تعبيرية البروتين الحال للقالب العضوي-9 MMP-9 88

3-3-1 المجموعة الأولى : ورم مصورات الميناء 88

3-3-2 المجموعة الثانية: الكيس التاجي. 91

3-4 الدراسة الإحصائية 94

الاختبارات الإحصائية: 94

أولا : دراسة قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF في ورم مصورات الميناء والكيس التاجي: 94

ثانيا : دراسة قيمة التعبيرية للبروتين الحال للقالب العضوي-9 في ورم مصورات الميناء والكيس التاجي: 96

ثالثاً: دراسة تأثير نوع ورم مصوّرات الميناء في قيم كل من معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VEGF ومعدل تعبيرية البروتين الحالّ للقالب العضوي MMP-9 في ورم مصوّرات الميناء: 99

الباب الرابع المناقشة 102

مناقشة قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني في ورم مصورات الميناء: 106

مناقشة قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني في الكيس التاجي : 107

مناقشة الفرق بين ورم مصورات الميناء والكيس التاجي في قيمة عامل النمو الوعائي البطاني: 108

مناقشة قيمة تعبيرية البروتين الحال للقالب العضوي-9 في ورم مصورات الميناء: 110
مناقشة قيمة تعبيرية البروتين الحال للقالب العضوي-9 في الكيس التاجي: 112
مناقشة الفرق بين ورم مصورات الميناء والكيس التاجي في قيمة البروتين الحال للقالب العضوي-9 : 114
الباب الخامس الإستنتاجات 117
الباب السادس التوصيات والمقترحات 119
الباب السابع المراجع 121
الملخص باللغة العربية: 134
الملخص باللغة الإنكليزية 135

قائمة الجداول

جدول (1-1) : واسمات جزيئية مُعبر عنها في ورم مصورات الميناء..... 37
الجدول(3-1): نسب المجموعات ضمن العينة..... 81
الجدول (3-2) قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF في ورم مصورات الميناء..... 83
الجدول(3-3) قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF في الكيس التاجي 86
الجدول (3-4) قيمة تعبيرية البروتين الحال للقالب العضوي-9 MMP-9 في ورم مصورات الميناء..... 89
الجدول (3-5) قيمة تعبيرية البروتين للقالب العضوي-9 MMP-9 في الكيس التاجي..... 92
جدول (3-6) يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى من معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF..... 94
الجدول (3-7) يبين نتائج اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة لدراسة دلالة الفروق في متوسط قيم تعبيرية VEGF بين ورم مصورات الميناء والكيس التاجي 96
الجدول (3-8) يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى من معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي MMP-9..... 97
الجدول رقم (3-9) يبين نتائج اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة لدراسة دلالة الفروق في متوسط قيم تعبيرية MMP-9 بين ورم مصورات الميناء والكيس التاجي 99
الجدول (3-10) يبين نتائج اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة لدراسة دلالة الفروق في متوسط كل من قيم تعبيرية VEGF و MMP-9 بين النمط الضفيري والنمط الجرابي لورم مصورات الميناء..... 101

قائمة الأشكال التوضيحيّة

الشكل (1-1): بعض الأنماط النسيجية لورم مصورات الميناء 27

A: النموذج الضفيري B: النموذج الجرابي..... 27

C: النموذج الشائك D: النموذج الحبيبي 27

الشكل (1-2): صورة توضيحية للنماذج النسيجية ورم مصورات الميناء وحيد الكيس..... 29

الشكل(1-3): صورة توضيحية لتصنيف الMMPS 41

شكل (1-4): يوضح تركيب البروتين الحال للقالب العضوي-9 44

شكل (1-5): يوضح آلية تفعيل البروتين الحال للقالب العضوي-9 45

شكل (1-7): يوضح عائلة عامل النمو الوعائي البطاني ومستقبلاته 54

الشكل (1-8): ارتباط عائلة عامل النمو الوعائي البطاني مع مستقبلاته 61

الشكل (2-1) الكحول 69

الشكل(2-2) الإيكزيلول 69

الشكل (2-3) الشرائح الزجاجية والسواتر..... 69

الشكل (2-4) الهيماتوكسيلين والإيوزين..... 69

الشكل (2-5) ظروف المحلول الدارىء من DAKO 69

الشكل (2-6) محلول إسترجاع المستضد DAKO..... 69

الشكل (2-7) الكيت المناعي المفرد من BIO-SB 69

الشكل (2-8) ضد وحيد النسيلة MMP-9 69

70

الشكل (2-9) ضد وحيد النسيلة VEGF 70

الشكل (2-10) قلم التحديد..... 70

الشكل (2-11) المبشرة النسيجيّة..... 70

الشكل (2-12) المحمّ المائي 70

الشكل (2-13) السخّان..... 70

الشكل (2-14) المايكرويف 70

الشكل (2-15) الممص..... 70

الشكل (2-16) المجهر الضوئي 70

الشكل (2-17) يوضح فعالية الملون MMP-9 في الطحال..... 72

الشكل (2-18) يوضح فعالية الملون VEGF في المشيمة..... 72

الشكل (2-19) تحديد العينة بقلم DAKO 76
الشكل (2-20) تطبيق البيروكسيداز 76
الشكل (2-21) غمر السلايدات في السائل الدارىء 76
الشكل (2-22) تطبيق الضد الأولي 76
الشكل (2-23) تطبيق HRP-LABEL على النسيج 76
الشكل (2-24) تحضير الكروموجين 76
الشكل (2-25) تطبيق الكروموجين 76
الشكل (2-26) تطبيق الهيماتوكسيلين على النسيج 76
الشكل (3-1): ورم مصورات الميناء النمط الجرابي تلوين H&E ×400 82
الشكل (3-2): ورم مصورات الميناء النمط الضفيري تلوين H&E ×400 82
الشكل (3-3): يوضح التعبيرية الإيجابية لل VEGF بنسبة متوسطة في الخلايا البشروية الورمية لورم مصورات الميناء (الجرابي) ×400 84
الشكل (3-4): يوضح التعبيرية الإيجابية لل VEGF بنسبة مرتفعة في الخلايا البشروية الورمية لورم مصورات الميناء الجرابي) ×400 84
الشكل (3-6): يوضح التعبيرية الإيجابية لل VEGF بنسبة منخفضة في الخلايا البشروية الورمية واللحمة الضامة لورم مصورات الميناء (الجرابي) ×400 85
الشكل (3-7): يوضح التعبيرية الإيجابية للVEGF ضمن اللحمة الضامة لورم مصورات الميناء (الضفيري) بنسبة مرتفعة 85
400× 85
الشكل (3-8): توضح بشرة الكيس التاجي والجدار الضام تلوين H&E ×400 87
الشكل (3-9): يوضح تعبيرية إيجابية لل VEGF بنسبة متوسطة لبشرة الكيس التاجي وللجدار الضام ×400 87
الشكل (3-10): يوضح تعبيرية إيجابية لل VEGF بنسبة منخفضة جداً لبشرة الكيس التاجي وللجدار الضام ×400 87
الشكل (3-11): يوضح التعبيرية الإيجابية لل MMP-9 بنسبة مرتفعة في الخلايا البشروية الورمية واللحمة الضامة لورم مصورات الميناء (الجرابي) 90
400× 90
الشكل (3-12): يوضح التعبيرية الإيجابية للMMP-9 ضمن اللحمة الضامة لورم مصورات الميناء (الضفيري) بنسبة مرتفعة 90
400× 90
الشكل (3-13): يوضح التعبيرية الإيجابية لل MMP-9 بنسبة متوسطة في الخلايا البشروية الورمية واللحمة الضامة لورم مصورات الميناء (الجرابي) 90
400× 90

الشكل (3-14): يوضح التعبيرية الإيجابية لل MMP-9 بنسبة مرتفعة في الخلايا البشروية الورمية لورم مصورات الميناء (الضفيري)..... 91
400× 91
الشكل (3-15): يوضح التعبيرية الإيجابية لل MMP-9 بنسبة منخفضة في الخلايا البشروية الورمية لورم مصورات الميناء (الجرابي) ×400..... 91
الشكل (3-16): يوضح تعبيرية إيجابية لل MMP-9 بنسبة منخفضة لبشرة الكيس التاجي وللجدار الضام ×40093
الشكل (3-17): يوضح تعبيرية إيجابية لل MMP-9 بنسبة منخفضة لبشرة الكيس التاجي ×400..... 93

قائمة المُخطّطات البيانيَّة

المخطط (3–1) توزيع العينة وفقاً لنوع الآفة المدروسة.....76

المخطط (3–2) يمثل المتوسط الحسابي لمعدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF في كل من ورم مصورات الميناء واالكيس التاجي.....90

المخطط (3–3) يمثل المتوسط الحسابي لمعدل تعبيرية البروتين الحالّ للقالب العضوي MMP–9 في كل من ورم مصورات الميناء واالكيس التاجي.. 93

المخطط (3–4) يوضح قيم المتوسط الحسابي لمعدل تعبيرية VEGF لكل من النمط الجرابي والنمط الضفيري لورم مصورات الميناء..... 95

المخطط (3–5) يوضح قيم المتوسط الحسابي لمعدل تعبيرية MMP–9 لكل من النمط الجرابي والنمط الضفيري لورم مصورات الميناء..... 95

قائمة الاختصارات

المصطلح باللغة العربية	المصطلح باللغة الإنكليزية	الإختصار
بروتين القالب العظمي	Bone Matrix Proteine	BMP
القالب خارج الخلوي	Extracelluler Matrix	ECM
عامل النمو البشروي	Epidermal Growth Factor	EGF

ERM	Epithelial Rest of Malassez	بقايا ملاسيه البشروية
ECs	Endothelial cells	الخلايا البطانية
ERS	Epithelial Rests of Serres	بقايا سيرس البشروية
FGF	Fibroblast Growth Factor	عامل نمو مصورات الليف
IL	Imterleukin	الانترلوكين
KCOT	Keratocystic Odontogenic Tumour	الورم الكيسي المُتقّرن سني المنشأ
الإختصار	المصطلح باللغة الإنكليزية	المصطلح باللغة العربية
MMPs	Matrix Metalloproteinases	البروتينات الحالة للقالب العضوي
MT-MMPs	Membrane Type Of Matrix Metalloproteinases	البروتينات الحالة للقالب العضوي من النمط الغشائي
NRP	Neuropilins	النيروبيلين
REE	Reduced Enamel Epethelium	بقايا عضو الميناء البشروية
SPARK	secreted protein acidic and richin cysteine	بروتين الخل الغني بالسيستيئين
TIMPS	Tissue Inhibitor Of Matrix Metalloproteinases	مثبطات البروتينات الحالة للقالب العضوي
TGF	Transforming Growth Factor	عامل النمو التحولي
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor	عامل النمو الوعائي البطاني
VEGFR	Vascular Endothelial Growth Factor Recpters	مستقبل عامل النمو الوعائي البطاني
WHO	World Health Orgnization	منظمة الصحة العالمية

المقدِّمة

INTRODUCTION

المقدِّمة:

تظهر الآفات سنية المنشأ في عظام الفكين العلوي والسفلي، وتم تصنيفها إلى أنواع مختلفة من الأكياس والأورام (Sakamoto et al., 2016)، وعلى الرغم من أن هذه الآفات لها أصل مشترك في الظهارة السنية البدائية، إلا أن هناك تنوع في سلوكها ونموها.(Shahela et al., 2013)، حيث تساهم هذه الظهارة المسؤولة عن تشكيل الأسنان في ظهور الأورام والأكياس في المنطقة الوجهية الفكية بآلية غير مفهمومة بشكل دقيق حتى الآن (Dineshkumar et al., 2015) وذلك من خلال تكاثر بشروي أو إكتوميزانشيمي أو كليهما (Avelar et al., 2008). ومن أكثر الأورام السنية ذات الأصل البشروي انتشاراً ورم مصورات الميناء الذي يشكّل 11% من جميع الأورام سنية المنشأ، وينشأ هذا الورم من بقايا الصفيحة السنية أو من خلايا عضو الميناء الآخذة بالتطور، أو من البشرات المبطنة للأكياس سنية المنشأ وخاصة الكيس التاجي (Neville et al., 2009)، وهو من الأورام الحميدة ولكنه ذا سلوكٍ عدواني؛ حيث يتميز بالغزو الموضعي مع احتمالية كبيرة للنكس حتى بعد المعالجة الجراحية (Dineshkumar et al., 2015) وبسبب نموّه اللاعرضي فقد يصل إلى حجوم كبيرة قبل أن يُكتشف مما يشكل لاحقاً تحدياً أمام إزالته بدون الإضرار بالناحية الجمالية لوجه المريض(Neville et al., 2009).

أما الكيس التاجي الذي يعد من أكثر الأكياس التطورية شيوعاً، ويظهر حول الأسنان المنطمرة، وغالباً مايتم الكشف عنه مبكراً ومعالجته جراحياً ولكن في بعض الأحيان قد يأخذ أحجام كبيرة ويؤدي إلى تغيرات سريرية، بالإضافة إلى تحوله لبعض الأورام على الرغم من ندرة حدوث هذه

التحولات(Suojanen et al., 2014) ولكن يعتبر من الأكياس ذات الإنذار الجيد ومعدل النكس المنخفض ويشكل 20% من الأكياس الفموية (Sadri et al., 2016).

ونظراً لأهمية هذه الآفات فقد اكتَشفت العديد من الدراسات بعض العوامل أو الواسمات المتعلقة بالمكونات البشروية والميزانشيمية التي تشارك في تنظيم نمو وتطور الأورام والأكياس سنية المنشأ مثل وجود بعض البروتينات في القالب خارج الخلوي والتي قد تؤثر على سلوكية هذه الآفات وخاصةً الأورام حيث تساهم في تطوره وسلوكية عدوانية بشكل أعلى (Henriques et al., 2011). ومن هذه البروتينات البروتين الحال للقالب العضوي-9 الذي يُعرف دوره في حلّ الغشاء القاعدي وحل القالب العظمي المحيط بالآفات داخل العظمية (Anne et al., 2014).

كما أن تطور هذه الآفات يحتاج إلى تشكّل أوعية دموية جديدة لتأمين الغذاء، ويعد عامل النمو الوعائي البطاني من أكثر العوامل أهمية في تكوين الأوعية الدموية وهو المساهم في بدء تشكل الأوعية الغير ناضجة في الأورام ويعتبر من الواسمات الوعائية التي تساهم في تحديد السلوك الحيوي المتنوع للأورام والأكياس سنية المنشأ وهذا يساهم في التشخيص والعلاج المبكر وكذلك الحد من خطر النكس والتحولات الخبيثة (Sadri et al., 2016).

وفي هذه الدراسة نسعى إلى تحري تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF والبروتين الحال للقالب العضوي-9 MMP-9 في ورم مصورات الميناء وفي الكيس التاجي ومقارنتهما، وذلك للتحقق من إمكانية استخدام كل منهما كواسم يساعد في تشخيص كلتا الآفتين ومعرفة دورهما في السلوك الحيوي للآفات سنية المنشأ.

أهداف البحث

AIMS OF STUDY

يهدف هذا البحث إلى:

1- تحري تعبيرية كل من ال VEGFو MMP-9 في ورم مصورات الميناء .

2- تحري تعبيرية كل من ال VEGF و MMP-9 في الكيس التاجي .

3- مقارنة تعبيرية كل من ال VEGF و MMP-9 في ورم مصورات الميناء والكيس التاجي .

الباب الأول

المراجعة النظريّة

Literature Review

أولاً: ورم مصورات الميناء Ameloblastoma

1-1: تعريف الورم ومنشؤه:

يعتبر ورم مصورات الميناء من أكثر الأورام سنية المنشأ شيوعاً حيث يشكّل 11% من جميع الأورام سنية المنشأ، وقد يظهر هذا الورم في أي عمر ولكن غالباً ما نشاهده في العقد الثالث والرابع . وقد صنفت منظمة الصحة العالمية (WHO) ورم مصورات الميناء من الأورام السنية السليمة التي تنشأ من البشرة السنية (من بقايا الصفيحة السنية وخلايا عضو الميناء في مرحلة التطور) مع لحمة ضامة ليفية ولكن دون تداخل المكوّن السني الضام (Thompson, 2006)

وعلى الرغم من اعتبار أنّ هذا الورم من الأورام السليمة بطيئة النمو، لوحظ السلوك العدواني له، واحتمال الغزو الموضعي حيث يمكن لخلايا المشبهة بخلايا مصورات الميناء أن تغزو العظم خارج حدود الورم بالإضافة إلى حالات نكس متكررة بعد الاستئصال والقطع enucleation، لذلك يُنصح بإزالة حواف سليمة من العظم 1-2 سم حول الآفة لمنع حدوث النكس (Anne et al., 2014).

1-2: الآلية الإمراضية:

إن مصادر تشكل الخلايا البشروية الورمية تعود إلى خلايا عضو الميناء وبقايا البشرة المينائية سواء المرتبطة بالأكياس أم لا، وبقايا البشرة سنية المنشأ (بقايا مالاسيه وبقايا سيرس)، وعلى الرغم من أن آلية التحوّل الورمي لهذه البقايا البشروية مازالت غير واضحة تماماً (Regezi et al., 2008)، هناك بعض العوامل مثل (عامل نمو مصورات الليف Fibroblast Growth Factor FGF) تلعب دوراً أساسياً في تنشؤ نمط ورم مصورات الميناء الصلد، كما تساهم بعض البروتينات مثل الأميلوبلاستين ameloblastin، وبروتينات القالب المينائي والكلارتينين

claritinin والبروتينات الحالة للقالب العضوي MMPS بشكل هام في آلية إحداث هذا الورم. وتُحدِث بعض الجينات P53، P63، P73 تغييرات جزيئية لتشكيل هذه الآفة، حيث يلعب P53 دوراً هاماً في التمايز وانتشار الخلايا البشروية سنية المنشأ. وتطلق البروتينات الحالة للقالب العضوي MMPS إشارات لإحداث انقسامات خيطية مما يؤدي إلى انتشار الخلايا البشروية في ورم مصورات الميناء (Masthan et al., 2015).

1-3: الأنماط السريرية:

صنفت منظمة الصحة العالمية عام 2005 ورم مصورات الميناء إلى أربعة أنماط رئيسية (Milman et al., 2016):

أ- النمط الصلد أو متعدد الأكياس solid or multicystic: هو نمط عدواني يغزو نقي العظم وقد يظهر بؤراً متعددة الأكياس.

ب-نمط وحيد الكيس unicystic: هو نمط كيسي داخل عظمي.

ت-النمط المحيطي peripheral: يشاهد خارج العظم ويكون مترافق مع بشرة الحفرة الفموية الرصفية المطبقة.

ث-نمط فرط التصنع الليفي desmoplastic: هو ورم داخل عظمي يرتشح داخل مكونات اللحمة الضامة وقد يتشابه مع الآفات الليفية شعاعياً.

1-3-1 ورم مصورات الميناء متعدد الأكياس أو الصلد (داخل العظمي)

solid or multicystic ameloblastoma (Intraosseous):

يعتبر من أكثر الأنماط شيوعاً وعدوانية على عكس ورم مصورات الميناء وحيد الكيس والمحيطي (Scheper et al., 2012)؛ حيث ينشأ هذا النمط من بقايا الصفيحة السنية، أو نتيجة لتغيرات ورمية تحصل على حساب الخلايا البشروية المبطنة للأكياس سنية المنشأ ولاسيما الكيس التاجي والورم الكيسي المتقرن سني المنشأ (Masthan et al., 2015).

أولا: المظاهر السريرية:

يُظهر هذا النمط سلوكاً غازياً بالإضافة إلى حالات النكس المتعددة، ويظهر غالباً بين العقد الرابع والخامس ولكن نادراً مانشاهده عند الأطفال ولا يوجد ميل لجنس معين، يشاهد في الفك السفلي في المنطقة الخلفية والشعبة الصاعدة من الرأد بنسبة 85%، ويظهر بنسبة 15% في الفك العلوي وعادةً يكون في المنطقة الخلفية (Neville et al., 2009).

على الرغم من أن هذه الأفة تتطور ببطء ولكنها تنتشر ضمن العظم والمسافات النقيوية المجاورة وتؤدي إلى تمدد الصفائح القشرية، وإذا لم تعالج هذه الآفة قد تؤدي إلى تآكل هذه الصفائح وتمتد إلى النسج المجاورة، وقد يشعر المريض بحس تكسرّ شبيه بتكسرّ قشر البيض في الأورام الخلفية، عندها من الممكن أن تكون مستعمِرة للجيب الفكي بالكامل وقد تصل إلى الجمجمة (Masthan et al., 2015).

إنه ورم غير عرضي عندما يكون بأحجامه الصغيرة لذا قد يُكتشف بالمصادفة أثناء التصوير الشعاعي (Neville et al., 2009)

ثانياً: المظاهر الشعاعية:

هي آفة شافّة على الأشعة متعددة الحجرات في الغالب ولكن قد تظهر بعدة أشكال، ففي حال كانت الحجرات بحجم كبير فإنها تظهر بشكل يشبه (فقاعات الصابون)، أما إذا كانت الحجرات بحجم صغير فإنها تظهر بشكل يشبه (قرص العسل). نادراً مايظهر ورم مصورات الميناء الصلد على شكل آفة شافة وحيدة الحجر ولكن حينها تكون الحواف غير منتظمة ومتعرجة (Neville et al., 2009).

ثالثا: المظاهر النسيجية:

هناك عدة نماذج نسيجية لورم مصورات الميناء متعدد الأكياس (الصلد): النموذج الجرابي والضفيري وهما الأكثر شيوعاً، والنموذج القاعدي والنموذج الحرشفي والنموذج الحبيبي، وقد تشاهد هذه النماذج مختلطة مع بعضها البعض، وحينها يسمى الورم اعتماداً على النموذج الأكثر انتشاراً في الآفة (Masthan et al., 2015).

1-النموذج الجرابي follicular pattern:

يعتبر الشكل النموذجي لورم مصورات الميناء، وكما وصفه فيكرز وغورلين هو عبارة عن: جزر أو أجربة محاطة بطبقة محيطية من الخلايا البشروية الاسطوانية أو المكعبة (الخلايا المشبهة بمصورات الميناء ameloblast-like cell) تمتلك هذه الخلايا نواة معكوسة الاستقطاب، ومصابة بفرط الكروماتين، ويتمركز ضمن هذه الجزر نسيج مشبه بالنسيج الشبكي النجمي، و يحاكي هذا الشكل عضو الميناء في مراحله الجنينية، وقد تظهر استحالات كيسية داخل الأجربة

بشكل شائع في هذا النموذج (Masthan et al., 2015). ويبلغ معدل نكس هذا النموذج 23%(Neville et al., 2009).

2- النموذج الضفيري plexiform pattern:

تنضغط وتتفاغر جزر الخلايا البشروية في هذا النموذج مع بعضها البعض فتظهر بشكل صفوف مزدوجة من الخلايا الاسطوانية البشروية المشبهة بخلايا مصورات الميناء، تترتب ظهراً لظهر (Masthan et al., 2015) فتبدو هذه الخلايا على شكل شبكة أو ضفيرة ويشاهد ضمن عيون الشبكة اللحمة الضامة وهو عبارة عن نسيج ضام رخو غزير التوعية الدموية، ومن الممكن أن يتواجد القليل من النسيج المشبه بالنسيج الشبكي النجمي منحصراً بين صفي الخلايا الاسطوانية، نادراً مانشاهد استحالات كيسية في هذا النموذج ولكن إن وُجِدَت فإنها تكون على حساب اللحمة الضامة (Castro et al., 2012).

3- النموذج الشائك acanthomatous pattern:

يظهر هذا النموذج بشكل شائع في المناطق الأمامية وخاصة عند الأنياب، حيث يتميز سريرياً بشكل كتل غير منتظمة بجانب منطقة الأنياب، وله سلوك عدواني حيث يغزو النسج الداعمة حول السنية، علاجه الأكثر أماناً هو الاستئصال الجراحي مع حواف أمان ولكن قد نبتعد عن هذا الحل أحيانا بسبب النواحي التجميلية للمنطقة (Singh et al., 2013). نسيجياً: هو عبارة عن حؤول شائك ضمن الجزر البشروية على حساب خلايا النسيج المشبه بالنسيج الشبكي النجمي مع إمكانية تشكل لآلئ قرنين في مركز الجزر الورمية (Masthan et al., 2015).

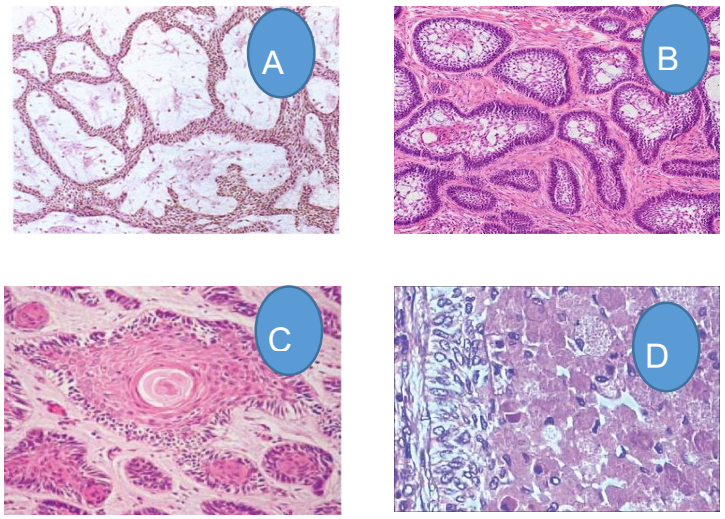
4-نموذج قاعدي الخلايا basal cell pattern:

هو من أندر نماذج ورم مصورات الميناء، وحتى الآن لا يوجد معلومات كافية عن سلوكه الحيوي (Sridhar et al., 2015) من الناحية النسيجية تبدو الخلايا الظهارية المتلونة بشكل قاتم أقل اسطوانية من النماذج الأخرى وتصطف بشكل سياجي balisading في المحيط (Adebiyi et al., 2006)، إن معدل النكس والتحوّل إلى خباثة متماثل مع باقي النماذج على الرغم من تشابه مظهره النسيجي إلى العديد من الأورام الخبيثة: مثل سرطان قاعدي الخلايا BCC والسرطان المختلط قاعدي شائك الخلايا BSCC (Ide et al., 1998).

5- النموذج الحبيبي granular pattern:

ويتميز هذا النموذج أيضاً بمعدل نكس عالٍ بنسبة 33.3% وبسلوك عدواني (Babu et al., 2015). نسيجياً: تحتل الخلايا الحبيبية ذات الشكل المضلع والهيولى الحبيبية الخشنة، التي تبدو بلون إيوزيني واضح بدلاً من خلايا النسيج الشبكي النجمي (Masthan et al., 2015).

وهناك بعض النماذج النادرة جداً مثل نموذج الخلايا الرائقة، وذو المكون الليفي. وبشكل عام عادة تكون ثلث الحالات من النموذج الجرابي والثلث الآخر من النموذج الضفيري (Lee and Kim, 2013).



الشكل (1-1): بعض الأنماط النسيجية لورم مصورات الميناء

A: النموذج الضفيري B: النموذج الجرابي

C: النموذج الشائك D: النموذج الحبيبي

إن الاختلاف في سلوكية الورم بين هذه الأنماط الفرعية مازال غير واضح، فمن جهة اعتقد بعض الباحثون أنه لا يوجد علاقة بين الأنماط الفرعية النسيجية والأعراض السريرية والسلوكية الحيوية، ومن جهة أخرى كشفت بعض الدراسات عن بعض الارتباط بين الأنواع الفرعية النسيجية و السريرية (Reichart et al., 1995).

رابعاً: العلاج والإنذار:

إن السلوك الحيوي لهذا الورم يثير الكثير من الجدل في طرق العلاج، فهو ورم بطي النمو ولكن له معدل نكس عالٍ نسبياً حيث بلغت نسبة النكس بعد العلاج الجذري (استئصال الآفة مع حواف أمان) radical treatment 15-25%، أما العلاج المحافظ conservative treatment فإنه يترافق مع معدل نكس 75-90%، لذلك يُوصى ببتر جزء واسع من الفك، بالإضافة إلى اتباع طرق علاج الأورام الخبيثة لورم مصورات الميناء(Dandriyal et al.,

2011)، وأدّت التطورات الحديثة في فهم السلوك الحيوي مثل استخدام بعض الواسمات الجزيئية التي تدل على مدى عدوانية الآفة وقابليتها للتكاثر والنمو إلى اتباع طرق علاجية جراحية أكثر محافظة حيث من الممكن الحد من استئصال حواف الأمان في بعض حالات الأورام ذات الإنذار الجيد (Chae et al., 2015)

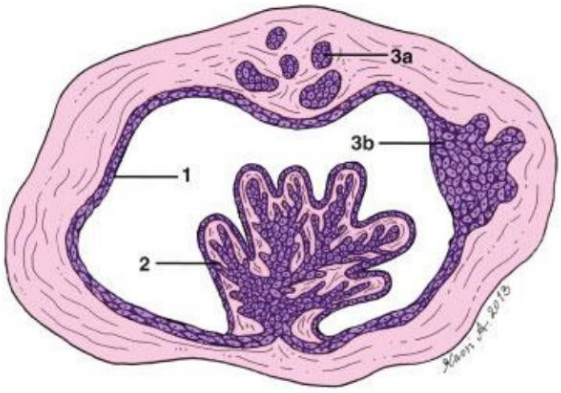
2-3-1 ورم مصورات الميناء وحيد الكيس unicystic ameloblastoma:

يمثل 13 % من جميع حالات ورم مصورات الميناء ويظهر في الفئة العمرية الأصغر من النمط الصلد، تقريباً في العقد الثاني أو الثالث، وله معدل نكس 40% عند علاجه بالتجريف وحينها قد يظهر بعد 9 سنوات من علاج الورم، و يؤدي إلى ثقب العظم القشري في 25% من الحالات (Regezi et al., 2008).

غالباً يظهر هذا الورم في المنطقة الخلفية للفك السفلي ويترافق مع أسنان منطمرة.

قد يتشابه الشكل السريري والشعاعي لهذه الآفة مع الأكياس سنية المنشأ ولكن المظهر النسيجي يوضح الخلايا المشبهة بمصورات الميناء التي تبطن جوف الكيس. وهذا النمط يعاكس النموذج الصلد في السلوك العدواني والغزو الموضعي حيث يساعد ذلك على اتباع طريقة علاج محافظة بشكل أكبر. وتم تصنيف ثلاثة أنواع لورم مصورات الميناء وحيد الكيس: اللمعي وداخل اللمعي والجداري، وذلك تبعاً لاتجاه تكاثر الخلايا البشروية المشبهة بمصورات الميناء؛ ففي النمط اللمعي Luminal unicystic Ameloblastoma يقتصر الورم على السطح اللمعي للكيس، حيث تتألف هذه الآفة من جدار الكيس الليفي مع بشرة مبطنة والتي تتألف من الخلايا المشبهة بمصورات الميناء. أما النوع الثاني هو نمو كتلة من هذه الخلايا إلى داخل اللمعة يسمى ورم مصورات الميناء وحيد الكيس داخل لمعي intraluminal unicystic Ameloblastoma و

تكون هذه الكتلة إما صغيرة أو كبيرة تغطي اللمعة بشكل كامل، و قد يظهر النموذج الضفيري أو الشبكي الذي نشاهده في النموذج التقليدي لورم مصورات الميناء. أما ورم مصورات الميناء وحيد الكيس الجداري mural unicystic Ameloblastoma تنمو الخلايا الظهارية مرتشحة باتجاه الجدار الضام الكيسي وتأخذ شكلاً جرابياً أو ضفيرياً الشكل (1-2) (Neville et al., 2009).



الشكل (1-2): صورة توضيحية للنماذج النسيجية ورم مصورات الميناء وحيد الكيس

1-بشرة الكيس 2-النمط داخل اللمعي 3a-النمط الجداري 3b-النمط اللمعي

المعالجة والإنذار:

نظرا لتشابه هذه الأفة سريريا مع الأكياس سنية المنشأ، فإنها تعالج بالاستئصال ثم يتم فحصها نسيجياً. في حال وجود نمو للخلايا الظهارية ضمن الجدار الضام للكيس، يُستطب العلاج بالقطع الجراحي خوفاً من وجود بعض الارتشاحات أما في حال اقتصر وجود خلايا المشبهة بمصورات الميناء في اللمعة أو داخل اللمعة يعتبر استئصال الكيس هو علاج كافٍ. حيث

يظهر النمط الجدراي نسبة عالية من النكس مقارنةً مع النمط اللمعي وداخل اللمعي (Sah et al., 2013) (Philipsen and Reichart, 1998).

1-3-3 ورم مصورات الميناء المحيطي (خارج العظمي)

Peripheral ameloblastoma (Extraosseaus):

قد يحدث ورم مصورات الميناء المحيطي أو خارج العظمي في اللثة أو في المخاطية الشدقية بشكل نادر جداً، وتظهر هذه الآفات عند الكبار في السن بين ال40-60 سنة، غالباً يكون مساراها حميد وغير عدواني ولا تغزو العظام المجاورة، وتعتبر حالات النكس بعد الاستئصال نادرة (Regezi et al., 2008).

يشكّل تقريباً 1% من جميع حالات ورم مصورات الميناء ، ولا يبدي هذا النمط أي مظاهر شعاعية أما نسيجياً فهو يشبه الشكل التقليدي لورم مصورات الميناء، يوجد مصدرين أساسيين لهذا الورم؛ إما طبقة الخلايا القاعدية للمخاطية الفموية أو من بقايا الصفيحة السنية (بقايا سيرز).

يتصل هذا النمط بنسبة أكثر من 50% بالطبقة القاعدية للمخاطية الفموية، وعندها يكون من الصعب إثبات أن هذا الورم قد نشأ من البشرة أو قد تطور ونمى من المنطقة تحت الظهارة. غالباً عندما يكون منفصل عن البشرة يعود منشؤه إلى بقايا الصفيحة السنية (Upadhyaya et al., 2017).

1-3-4 ورم مصورات الميناء نمط فرط التصنع الليفي Desmoplastic ameloblastoma

يميل هذا النموذج للظهور في المنطقة الأمامية ومنطقة الضواحك في الفك العلوي والسفلي، وغالباً مايشاهد شعاعياً كآفة مختلطة (شافة وظليلة)، في حين أن باقي أنماط ورم مصورات الميناء تشاهد كآفات شافة شعاعياً مع حواف واضحة (Luo et al., 2014)، يتميز بشكل نسيجي غير معتاد وذلك بوجود ألياف كولاجينية كثيفة مع فرط تصنع نسيجي في اللحمة الضامة يتخللها أعشاش وحبال صغيرة من الخلايا البشروية الميتائية الورمية(Luo et al., 2014)، عند معالجة هذا النمط بالاستئصال enucleation and/or curettage فإن معدل النكس يبلغ حوالي 15.9% وقد تنكس الحالة بعد 36 شهر (Masthan et al., 2015).

1-4: ورم مصورات الميناء الخبيث Malignant Ameloblastoma وسرطان ذو الخلايا مصورات الميناء Ameloblastic carcinoma :

يمثل ورم مصورات الميناء الخبيث حوالي 1.6-2.2% من الأورام سنيَّة المنشأ، وقد صنفت منظمة الصحة العالمية (WHO) ورم مصورات الميناء الخبيث إلى نموذجين: ورم مصورات الميناء الاستعماري (Metastasizing ameloblastoma) والسرطان البشروي 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 البشروي ذو الخلايا المصورة للميناء علائم نسيجية خبيثة، ويمكن أن ينقسم إلى نوعين: أولي وثانوي أما الأولي فهو الذي يتشكل من جديد، وأما الثانوي فَيظهر نتيجة لتحول خبيث لورم مصورات الميناء الحميد والمشخص سابقاً.

يشكل ورم مصورات الميناء الاستعماري غالباً مانسبته 2% من أورام مصورات الميناء الحميدة، لكنّ المعدل الفعلي للإصابة أقل من ذلك، أما المعدل الدقيق للإصابة بالسرطان البشروي 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 البشروي 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).

ثانياً: الكيس التاجي DENTIGEROUS CYST:

يُعتبر الكيس التاجي من أكثر الأكياس التطورية شيوعاً في الفكين، وثاني أكثر الأكياس السنية المنشأ شيوعاً بعد الأكياس الجذرية حيث يشكل تقريبا 20% من الأكياس التي تظهر في الفكين (Muniz-Lino et al., 2017). حيث يحدث بسبب تراكم السوائل بين بشرة الميناء الضامرة reduced enamel epithelium وبين سطح الميناء للسن المنطمر ويؤدي إلى انفصال بقايا الجراب عن سطح السن الغير بازغ (Khot et al., 2015) ويرتبط مع الملتقى الميناني الملاطي (Muniz-Lino et al., 2017).

2-1 آلية تشكل الكيس:

إن آلية تشكل هذا الكيس التطوري مازالت غير معروفة وغير واضحة بشكل جيد ولكن يعتقد أنه نشأ من توسع حدث في أجربة الأسنان المنطمرة حيث ظهر هذا التوسع نتيجة تراكم السوائل بين تاج السن والعناصر البشروية (Avitia et al., 2007).

2-2 المظاهر السريرية:

يكون عادةً غير عرضي وبطيء النمو، ويكشف مصادفةً أثناء التصوير البانورامي الروتيني ولكن عند اكتشاف الكيس بوقت متأخر قد يكون مترافقاً مع بعض الآلام (Meningaud et al., 2006)، وقد يسبب بعض الاختلاطات مثل الانتباج الناتج عن تمدد الصفائح العظمية وحركة في الأسنان المجاورة بالإضافة إلى قابلتيها للتحوّلات الخبيثة في بعض الأحيان (Zapala-Pospiech et al., 2013) ومن الممكن أن يُصاب الكيس بإنتان فيظهر تورم واحمرار وألم في مكان الأفة ويعتبر هذا الإنتان ثانوياً وليس من منشأ الكيس (Paul et al., 2013)، يظهر هذا الكيس بشكل أكثر عند الذكور بنسبة 1.6:1 وعادةً يكون مرتبطاً مع الأسنان المنطمرة أو الغير بازغة. حيث يترافق بشكل أكبر مع الأرحاء الثالثة السفلية، ثم الأنياب العلوية، ثم الضواحك السفلية، ويشاهد عند الأشخاص في العقد الثاني والثالث. وقد يترافق هذا الكيس مع الورم السني أو مع الأسنان اللبنية أو الأسنان الزائدة ولكن بشكل نادر(Shah et al., 2013).

ويتميز هذا الكيس بقدرته على التوسع وتخريب العظم المحيط به وخاصة في الفك العلوي ليصل إلى أحجام كبيرة (Motamedi and Talesh, 2005).

وقد يتطور هذا الكيس إلى عدة أورام سنية المنشأ، و لكن يعتبر تواتر تحوّله إلى أورام منخفضة وآلية تحوله مازالت غير واضحة (Kondamari et al., 2018) حيث من الممكن أن يتحول هذا الكيس إلى ورم مصورات الميناء وحيد الكيس (Zhang et al., 2010).

2-3 المظاهر الشعاعية:

يبدو الكيس التاجي كآفة شافة شعاعياً وحيدة الحجرة غالباً، ذا حدود واضحة حول تاج السن المنطمر، تبدأ شفوفيتها من الملتقى الميائي الملاطي عند عنق السن، قد نشاهد بشكل شائع التوسع في الصفيحة الدهليزية الشفوية وبشكل نادر في الصفيحة اللسانية، وتسبب الأكياس التاجية بشكل واضح حركة ليس فقط للأسنان المتورطة وإنما في الأسنان المجاورة أيضاً (Sridevi et al., 2015) ولكن بالرغم من المظهر الشعاعي النموذجي لهذا الكيس، فقد يتشابه التشخيص الشعاعي مع آفات أخرى مثل الورم الكيسي المتقرن سني المنشأ، وورم مصورات الميناء وحيد الكيس، ومع الجراب السني في حال كان حجم الكيس صغير لذلك نعتمد في تشخيصه على المظهر النسيجي (Zhang et al., 2010)، ولكن أُعتُقد أنه عندما يكون الفراغ بين السن والجراب المحيط به أكبر من 4 ملم فقد يكون على الأرجح آفة كيسية (Friedlander et al., 2015).

2-4 المظاهر النسيجية :

يتألف الكيس التاجي من جدار ليفي مع بشرة رقيقة مكونة من 2-4 طبقات من الخلايا البشروية المكعبة أو المسطحة، ويحتوي في المركز على لمعة تحوي سائلاً رائقاً (Muniz-Lino et al., 2017)، ومن الممكن أن تُبدي الخلايا البشروية انقلاباً أو تحولاً نسيجياً metaplasia فتبدأ بتشكيل القرنين، وبعض الأحيان قد نشاهد بين الخلايا البشروية خلايا مخاطية وخلايا مهدبة

(Mishra et al., 2014)، وعند الإصابة بالتهاب بشكل ثانوي قد نشاهد رشاحة التهابية مزمنة ضمن النسيج الضام (Aziz et al., 2002).

2-5 العلاج:

تعتبر إزالة السن المنطمر 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 والهياكل 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، لذلك من الممكن القيام بعملية تكوية لمدة 6 أشهر ومن ثم القيام باستئصال الكيس، وقد 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).

ثالثاً: الواسمات الجزيئية المعبر عنها في الآفات سنية المنشأ:

يعتمد تصنيف الأورام سنيَّة المنشأ أولاً على السلوك فيما إذا كان سليماً أم خبيثاً، وثم على التشكل النسيجي لهذه الآفات. حيث تشتق هذه الأورام من منشأ يعود للوريقة الخارجية Ectodermal أو من الأصل الإكتوميزانشيمي ectomesenchymal التي هي جزء من جهاز تشكيل الأسنان، أو من كليهما. وعليه فإن الأورام سنيَّة المنشأ تقسم إلى آفات مشتقة من الظهارة سنيَّة المنشأ فقط، وأورام مشتقة من إكتوميزانشيم سني المنشأ فقط، وأورام تتكون من كليهما (أورام مختلطة) (Barnes et al., 2005).

تشتق الأورام سنية المنشأ من الأنسجة المنتجة للأسنان أو من بقاياها الموجودة داخل عظم الفك أو مجاورة للأنسجة الرخوة، وهناك مصادر متنوعة لتطور وتشكّل هذه الأورام وتتمثل ب :

1- الصفيحة السنيَّة ماقبل الوظيفية The pre-functional dental lamina (الظهارة السنيَّة مع القدرة على إنتاج الأسنان) تتواجد بشكل شائع مكان الرحى الثالثة السفلية.

2- الصفيحة السنيَّة بعد الوظيفية The post functional dental lamina، وهي التي تعطي: بقايا سيرز البشروية(ERS) Epithelial Rests of Serres، وتوجد بالقرب من النسيج اللثوي، بقايا ملاسيه البشروية (ERM) Epithelial Rests of Malassez في الرباط حول السني، وبقايا عضو الميناء البشروية (REE) Reduced Enamel Epithelium التي تغطي سطح الميناء حتى بزوغ السن.

3- الحليمة السنيَّة The dental papilla، التي تشكّل اللب السني، وتنتج خلايا مصورات العاج.

4- الجراب السني The dental follicle.

5- الرباط حول السني The periodontal ligament (Taylor, 2008).

وتعتبر دقة التشخيص للآفات بشكل عام هو الهدف 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) باتت تلعب دوراً مهماً كأداة مساعدة في التشخيص، (Premalatha et al., 2013).

تساهم دراسة الأليات الجزيئية المتعلقة بتشكيل الأورام سنيَّة المنشأ في التنبؤ بمسار وسلوكية الأورام سنيَّة المنشأ، و هذا يؤدي إلى تطوير مفاهيم علاجية جديدة لتدبيرها، على الرغم من أن المسببات المرضية للأورام سنيَّة المنشأ لا تزال مجهولة (Kumamoto, 2006)

3-1 واسمات جزيئية معبَّر عنها في ورم مصورات الميناء:

Molecular marker	Expression in ameloblastoma	Indicates
CD133, Bmi-1, ABCG2	Increased	Oncogenesis, cell differentiation and malignant potential
PCTH 1	Increased	Proliferation of odontogenic epithelium
GLi 1	Increased	Cell proliferation
β catenin	Increased	Cell-to-cell adhesion and signal transduction in odontogenic epithelium
BMP-2, -4, -7	Increased	Cell proliferation, differentiation, chemotaxis, extracellular matrix production and apoptosis
TGF β	Activated	Aggressiveness
Syndecan-1	Decreased	Aggressiveness, invasiveness
Cadherins	Decreased	Aggressiveness
Integrins	Increased	Invasiveness
Claudin 7	Decreased	Invasiveness
Podoplanin	Increased	Invasiveness, tumor metastasis
MT	Increased	Invasiveness, anti-apoptotic and high recurrence
Ki-67	Increased in peripheral cells	Aggressiveness, cell proliferation
Cyclin D1	Increased	Invasiveness, aggressiveness, poor prognosis and lymph node metastasis
Telomerase	Increased	Oncogenesis, cell proliferation
PCNA	Expressed during late G_1 and S phases	Aggressiveness, recurrence and malignant potential
FGF-7 and -10	Increased	Growth of tumor
Fas, FasL	Central cells in acanthomatous and granular cell ameloblastoma	Cytodifferentiation
Bcl-2, bcl-x	Peripheral cells	Anti-apoptotic, cytodifferentiation
Caspase 3	Central area of tumor islands	Cell death
PTEN	Increased	Aggressiveness
MMP-1, -2 and -9	Increased	Tumor invasion
PTHrP	Increased	Infiltrative growth and destructive behavior
RANKL	Increased	Osteoclastogenesis tumor expansion
OPN, CD44v6	Increased	Invasiveness, cell migration
CD10	Increased	Growth of neoplastic cells, recurrence
p53	Increased	Increased cellular proliferation and malignant potential

ABCG2: ATP-binding cassette subfamily G member 2, PCTH: Patched, GLi: Glioma-associated, BMP: Bone morphogenetic protein, TGF β: Transforming growth factor β, PCNA: Proliferating nuclear cell antigen, FGF: Fibroblast growth factor, PTEN: Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10, PTHrp: Parathyroid hormone-related protein, RANKL: Receptor activator of nuclear factor KB ligand, MT: Metallothionein, OPN: Osteopontin, MMP: Matrix metalloproteinases, CD: Cluster of Differentiation

جدول (1-1) : واسمات جزيئية مُعبر عنها في ورم مصورات الميناء

- تنشط جينات Wnt (عائلة من البروتينات السكرية) عدداً من مسارات التأشير signaling pathways التي لها دور حاسم في تعديل سلوك الورم والخلايا البشروية الميتائية، وهناك دراسات أشارت إلى أن التعبيرية الزائدة لهذه العائلة يزيد من هجرة الخلايا الورمية وانتشارها في حين أن تثبيطها يقلل من هجرتها (Tompkins, 2006).
- يلعب بروتين تشكل العظم BMP وهو عامل تمايز شكل الخلايا دوراً حاسماً في تكاثر الخلايا وتمايزها وتشكيل القالب خارج الخلوي (ECM) والموت الخلوي المبرمج أثناء نمو الورم. حيث تم التعبير عن الBMP ومستقبلاتها بشكل واضح في جميع الخلايا الظهارية سنية المنشأ في كل من عضو الميناء والأورام البشروية سنية المنشأ(Kumamoto and Ooya, 2006).
- تصنف مجموعة Smad (Small mothers against-decapeutaplegic) إلى مجموعات مختلفة تبعاً لوظيفتها، حيث ينظم بعضها مسار عامل النمو المحوَّل-ß (TGF-ß) والذي له دور مهم في غزو ورم مصورات الميناء في المراحل المتقدمة ، وتقوم مسارات TGF-B/SMAD في المراحل المبكرة بتثبيط نمو وغزو الورم، بينما تتحول في المراحل المتقدمة لتشجع على نمو الورم بشكل أكبر (Lee and Kim, 2013).
- وجدت بعض الدراسات بعض بروتينات القالب الميتائي مثل الأميلوجينين تُنتسخ من قبل مختلف أنواع الخلايا الميتائية ونتيجة لذلك ظهرت تعبيريته داخل الخلايا البشروية المشبهة بمصورات الميناء الورمية (Gomes et al., 2010)، وكما تم العثور على تعبيرية للكلارتينين في البشرة الميتائية الداخلية أثناء تشكّل السن وله دور أساسي في تحوّل بقايا الصفيحة السنية إلى ورم مصورات الميناء(Alaeddini et al., 2008).

- بعض الواسمات الجزيئية المسؤولة عن التكاثر مثل:Ki_67 وهو بروتين نووي ويعد من أكثر الواسمات شيوعاً للتعبير عن تكاثر وانتشار الخلايا، وتأخذ جميع أنوية الخلايا الورمية في ورم مصورات الميناء تعبيرية لهذا البروتين وخاصة الخلايا المشبهة بخلايا مصورات الميناء في النموذج الجرابي والضفيري، كما يوجد في الخلايا القاعدية في النموذج الكيسي، ووجدت بعض الدراسات أن تعبيريته تزداد في الخلايا المحيطية أكثر من الخلايا المركزية، وهذا يشير إلى أن الخلايا المحيطية أكثر قدرة على التكاثر (Florescu et al., 2012b)
- تلعب عوامل النمو بأنواعها دوراً مهماً في تطور نمو الورم حيث وجد ميوكين وزملاؤه أن عامل نمو مصورات الليف FGF له دور في نمو وغزو الورم وذلك من خلال تحريض البروتينات الحالّة proteases (Myoken et al., 1995)
- إن تشكل أوعية دموية جديدة هو حدث أساسي لعملية انتشار الأورام لذلك يعتبر عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) من المنظمين الرئيسيين لهذه العملية، إن تنشيط مسار مستقبلات هذا العامل يؤدي إلى سلسلة من العمليات التي تعزز نمو الخلايا البطانية والهجرة من الأوعية الدموية، كما يشارك في تعديل نفوذية الأوعية، فهو مرتبط بتولّد الأوعية الدموية الورمية، ولكن تم العثور على تعبيرية منخفضة له داخل الخلايا الشائكة والحبيبية في ورم مصورات الميناء الذي يحوي على تلك الأنماط من الخلايا .(Kumamoto et al., 2002)
- تعتبر مورثة الP53 من أكثر الجينات المتغيرة باستمرار في الأورام، وارتبطت الطفرات الحاصلة في هذه المورثة بزيادة انتشار الورم وإمكانية تحوّله للخباثة، وفي ورم مصورات الميناء لاحظ Kumamoto وزملاؤه زيادة التعبيرية لp53 في النموذج الضفيري عن

النموذج الجرابي، فأشارت النتائج أن التغيرات في هذا البروتين يؤدي إلى تكون الورم وزيادة إمكانية التحول الخبيث للخلايا البشروية سنية المنشأ (Kumamoto et al., 2004).

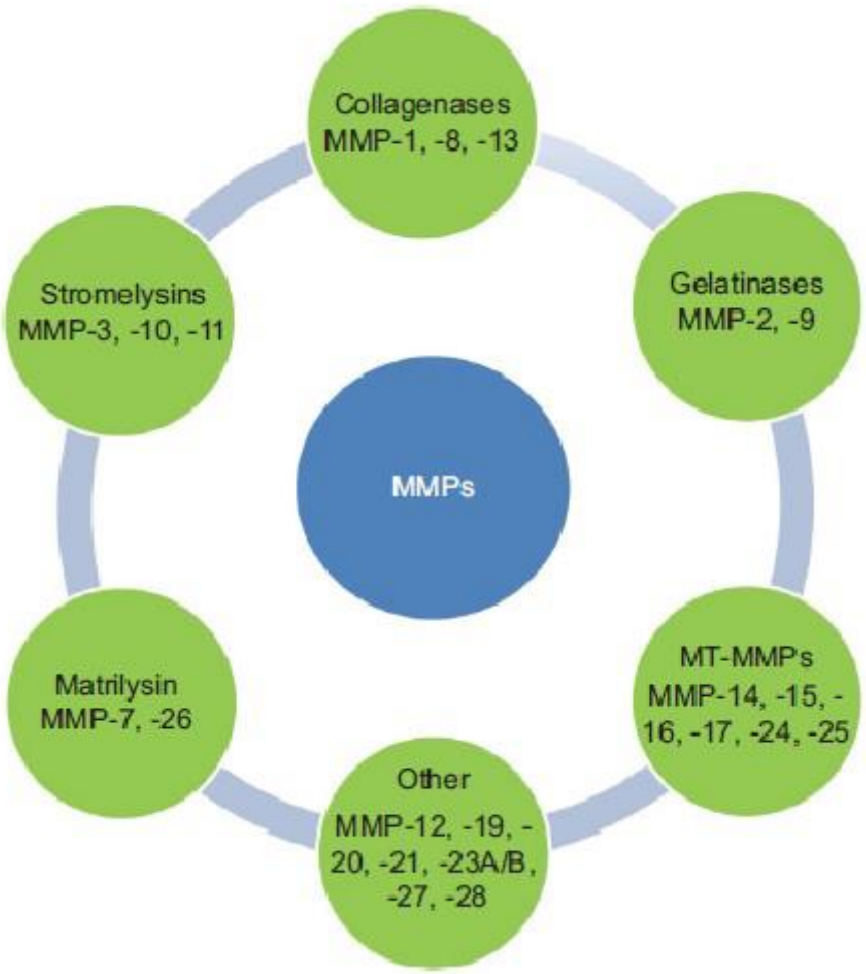
- وجدت العديد من الدراسات دور البروتينات المسؤولة عن انحلال القالب خارج خلوي ECM في غزو ورم مصورات الميناء ومنها البروتينات الحالة للقالب العضوي MMPS وهي أنزيمات حالة معتمدة على الزنك وتقوم بإعادة قولبة القالب خارج خلوي ECM .

وإن زيادة تعبيرية ال MMP-2,9 تشير إلى زيادة إمكانية الغزو لهذا الورم بالإضافة إلى دورها في تحريض تشكيل الأوعية الدموية الجديدة (Pinheiro et al., 2004) ويقوم هذان البروتينان بحل الكولاجين النمط الرابع في الغشاء القاعدي. وهناك تفاعل بين الMMPs ومعقد بروتين SPARK/osteonectin (secreted protein acidic and richin cysteine الخل الغني بالسيستيئين) وهذا التفاعل قد يظهر بسبب نمو الورم والغزو والمساهمة في السلوك العدواني (Shen et al., 2010).

رابعاً: البروتينات الحالة للقالب العضوي Matrix Metalloproteinases (MMPs):

هي عائلة البروتينات المعتمدة على الزنك zinc-dependent proteins التي تعمل على انحلال القالب الخارج خلوي (الكولاجين collagen، الإلاستين elastin، الجيلاتين gelatin، الكازيين casein)(Anne et al., 2014) وتتألف هذه العائلة من أكثر من 20 بروتيناً حيث تقسم إلى: عدة كولاجينازات collagenases مثل (MMP-1,8,13)، جيلاتينازات gelatinases (MMP-2,9)، سترومليزينات stromelysins (MMP-3,10,11)،

ماتريليزينات matrilysins (MMP-7,26) وأنواع غشائية MMPS -MT منها (MMP-14,15,16 ,17,24,25) و غيرها other MMPS (MMP7,12,19,20,21,22 ,23A/B,27,28) (Curran and Murray, 2000) الشكل (1-3).



الشكل(1-3): صورة توضيحية لتصنيف الMMPs

إن طليعة الأنزيمات للMMPs تكون عادة بمستويات قليلة، ولكن عندما يحدث إعادة قولبة للنسيج ترتفع مستوياتها بشكل سريع كما يحدث في الالتهابات والتئام الجروح والسرطانات (Nagase and Woessner, 1999, Sorsa et al., 2011).

تكون هذه البروتينات مخزنة على شكل حبيبات ضمن الخلايا الالتهابية، ولكن عندما تُفرز ترتبط مع سطح الخلايا أو ببروتينات أخرى أو مع بروتينات القالب خارج خلوي (Birkedal-Hansen et al., 1993).

تقوم الكولاجينازات (MMP-1,MMP-8 and MMP-13) بشطر الكولاجين الأول والثاني والثالث إلى جزيئات يصبح من السهل هضمها من قبل بروتينات القالب خارج الخلوي الأخرى (Visse and Nagase, 2003).

تهضم الجيلاتينازات (MMP-2 and MMP-9) الجيلاتين بشكل سريع بمساعدة ثلاثة من الفيبيرونكتين النمط الثاني حيث يشكل معقداً جيلاتينياً-كولاجينياً، كما أنها تهضم أنواعاً متعددة من الكولاجين (IV, V، XI) الموجودة في القالب الخارج خلوي ECM واللامنين .....إلخ (Patterson et al., 2001).

تشارك الستروميليزينات (MMP-3, MMP-10 and MMP-11) في تفعيل PRO-MMPs وتهضم بعض الجزيئات الموجودة في القالب خارج خلوي.

تفتقر الماتريليزينات (MMP-7 and -26) إلى مجال الهيموبكسين، حيث يتم إنتاج ال MMP-7 من الخلايا الظهارية ، ويوجد MMP-26 في الخلايا الطبيعية مثل بطانة الرحم وفي بعض الأورام الخبيثة، ويُخزن هذا البروتين داخل الخلايا بشكل كبير على عكس معظم ال MMPs الأخرى (Marchenko et al., 2004).

يتم تنشيط البروتينات المرتبطة بالغشاء MT-MMP (MMP-14,15,16,17,24,25) داخل الخلايا وغالباً يتم التعبير عنها على سطح الخلايا، وأظهرت بعد الدراسات أن عوز-MT1 MMPs عند الفئران أدى إلى تشوهات تطورية بعد الولادة (Holmbeck et al., 1999).

بالإضافة إلى وجود بعض من أنواع الMMPs غير مصنفة ضمن المجموعات المذكورة سابقاً(Zitka et al., 2010)

4-1 البروتين الحال للقاب العضوي-9 Matrix Metalloproteinase-9 :

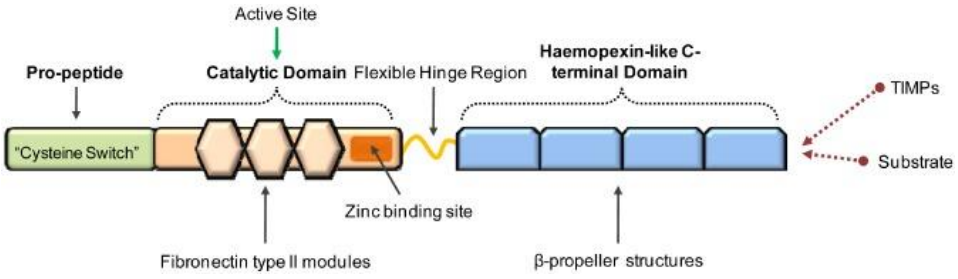
ينتمي هذا البروتين إلى عائلة الأنزيمات المتعمدة على الزنك التي تشارك في انحلال القالب خارج خلوي ويعرف بعدة أسماء أيضاً **Gelatinase B(GELB), 92-kDa gelatinase, 92-kDa type IV collagenase** ويتواجد على شكل طليعة أنزيم (propeptide) ويكون جاهزاً لاستقبال إشارة قادرة على تحفيزه حيث يتألف من ثلاثة متتاليات من الفيبرونكتين النمط الثاني وملحق بالمجال المشبه بالهيموبكسين الطرفي الرابط (Anne et al., 2014).

4-2 التركيب :

يتشكل هذا البروتين كطليعة أنزيم من بقايا 707 من الحموض الأمينية ويتضمن إشارة لببتيد الحمض الأميني 19 ويفرز بشكل MMP-9 غير مفعل. ويتكون بروتين MMP-9 عند الإنسان من 5 مجالات أهمها: البروببتيد pro-peptide ذو رابط أميني والمجال المحفز بالزنك catalytic domain والمجال المشبه بالهيموبكسين haemopaxin-like C-terminal domain. يحوي مجال طليعة الببتيد على cysteine الذي يعرف cysteine switch حيث

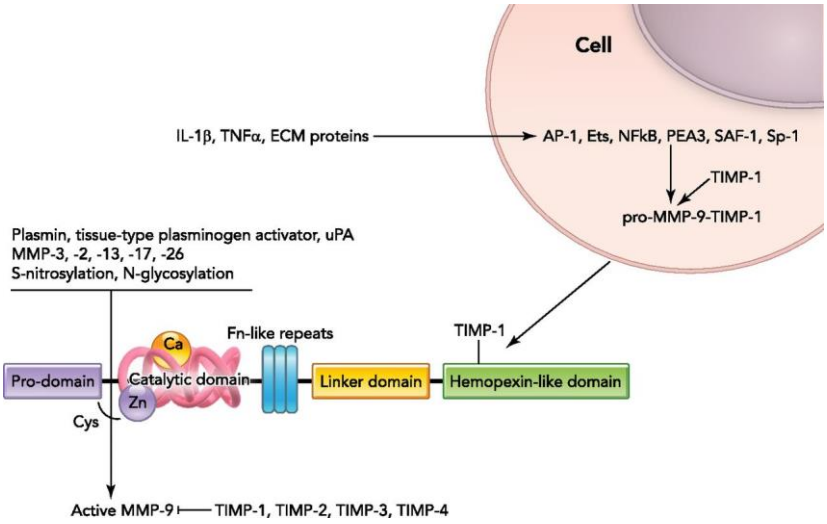
يعمل على إبطاء التحفيز للحفاظ على هذا البروتين بالشكل الغير نشط الشكل (1-4)

. (Nagase and Woessner, 1999)



شكل (1-4): يوضح تركيب البروتين الحال للقالب العضوي-9

ويتحقق التفعيل من خلال تفاعل سلسلة من البروتينات الحالة تشمل البلازمين والستروميليزين1 (MMP-3). حيث يتشكل ال3-MMP المفعل من خلال مولد الأنزيم الخاص به . ويشطر ال3-MMP المفعل البروبتيد في ال9-MMP ذو الوزن الجزيئي 92 كيلو دالتون وينتج البروتين المفعل ذو 82 كيلو دالتون (Ramos-DeSimone et al., 1999) . حيث تستبدل منطقة البروبتيد الذي انشطر في الأنزيم المفعل، ويتألف المجال المحفز من ذرتين من الزنك و3 ذرات من الكالسيوم؛ حيث ترتبط ذرة زنك محفزة واحدة مع 3 ذرات من الحمض الأميني الهيستيدين(Bode et al., 1993).



شكل (1-5): يوضح آلية تفعيل البروتين الحال للقالب العضوي-9

4-3 الوظيفة:

تعتبر MMPs من البروتينات الحالّة المهمة التي تسبب تغييرات بنيوية ووظيفية في القالب خارج الخلوي (Khot et al., 2015) في الحالات الفيزيولوجية الطبيعية مثل النمو الجنيني، التكاثر، تشكيل أوعية دموية جديدة، التئام الجروح، هجرة الخلايا والتعلم والذاكرة (Wang and Tsirka, 2005). كما تشارك في بعض الحالات المرضية مثل التهاب المفاصل والنزوف الدماغية والأورام الخبيثة (Wang and Tsirka, 2005) تفرز معظم هذه البروتينات على شكل أنزيم غير فعال أو خامل ويتفعل عندما يشتق من البروتينات الخارج خلوية . يحفز هذا الأنزيم بواسطة المحل-4 (degrade-4) والكولاجين-4 وغيره من البروتينات الخارج خلوية(Van den Steen et al., 2002).

هذا وإن أهم الوظائف التي يتمتع بها MMP-9 هي:

1- مساعدة العدلات :

يلعب ال MMP-9 بالتعاون مع البروتين الحال الelastase دور عامل تنظيمي لهجرة العدلات عن طريق الغشاء القاعدي (Delclaux et al., 1996)، كما يقوم بالعديد من الوظائف أثناء عمل العدلات مثل تحطيم القالب خارج الخلوي وتفعيل الانترلوكين-ب1

il-B1، وينتج عن العديد من الكيموكينات (Opdenakker et al., 2001)، و أظهرت بعض الدراسات أن نقص ال MMP-9 أدى إلى مقاومة متلازمة الصدمة التسممية toxic schock syndrome مما يشير إلى دوره المهم في الإنتان(Dubois et al., 2002).

2-تشكيل الأوعية الدموية :

قد يلعب الMMP-9 دوراً مهماً في تشكيل الأوعية الدموية الجديدة، فعلى سبيل المثال يساهم هذا البروتين في إعادة تشكيل أوعية دموية جديدة مشوهة في الأورام الدبقية الخبيثة(Forsyth et al., 1999)، ويعتبر المنظم الرئيسي في غضاريف الاتصال؛ حيث يقوم بتكوين الأوعية الدموية في صفائح النمو ويحث بالتالي على توليد خلايا غضروفية متضخمة(Vu et al., 1998).

ويؤدي نقص ال MMP-9 إلى تأخر في الموت المبرمج، وفي تشكيل الأوعية الدموية وتعظم الخلايا الغضروية المتضخمة (Vu et al., 1998)، وهناك أدلة كثيرة أن MMP-9 ضروري في تكاثر الخلايا البطانية (المكوّن الأساسي في تشكيل الأوعية الدموية الجديدة)(Heissig et al., 2002).

3- التئام الجروح:

له دور كبير في تنظيم شفاء الخلايا البشروية في الجهاز التنفسي عند الإنسان (Buisson et al., 1996) وفي دراسات على الفئران التي لديها نقصاً في ال MMP-9 ، أظهر وجود هذا البروتين مساعدةً في التئام الجروح في الخلايا البشروية، بينما الفئران التي لديها نقص في هذا البروتين لم تكن قادرة على تحطيم علقة الفيبرينوجين أثناء التئام الجروح (Mohan et al., 2002)، عند التفاعل مع عامل النمو TGF-B1 يحرّض MMP-9 على تقلّص الكولاجين مما يساعد على إغلاق حواف الجرح (Kobayashi et al., 2014).

4- أظهرت عدة دراسات أن MMP-9 مرتبط بالعديد من الأمراض مثل الأمراض المناعية، الأورام، أمراض القلب والأوعية الدموية:

- التهاب المفاصل:

ظهرت مستويات مرتفعة لهذا البروتين في حالات التهاب المفاصل الروماتيزمي (Gruber et al., 1996).

- الأورام:

يلعب MMP-9 دورًا أساسياً في تطور الورم، بدءًا من تكوين الأوعية الدموية، إلى إعادة تشكيل الخلايا، وفي النهاية نمو هذا الورم وتشكيل نقائل، وبالرغم من ذلك قد يكون من الصعب الاستفادة من تثبيط MMP-9 في طرائق علاج السرطان (بسبب وظيفته الفيزيولوجية).

يشارك ال9-MMP في تطور العديد من الأورام السليمة والخبيثة وذلك عن طريق تحلل الكولاجين IV في الغشاء القاعدي والقالب الخارج خلوي، وهذا يسهل نمو الورم إن كان عن طريق الغزو أو النقائل وبالإضافة إلى تكوين الأوعية (Groblewska et al., 2012).

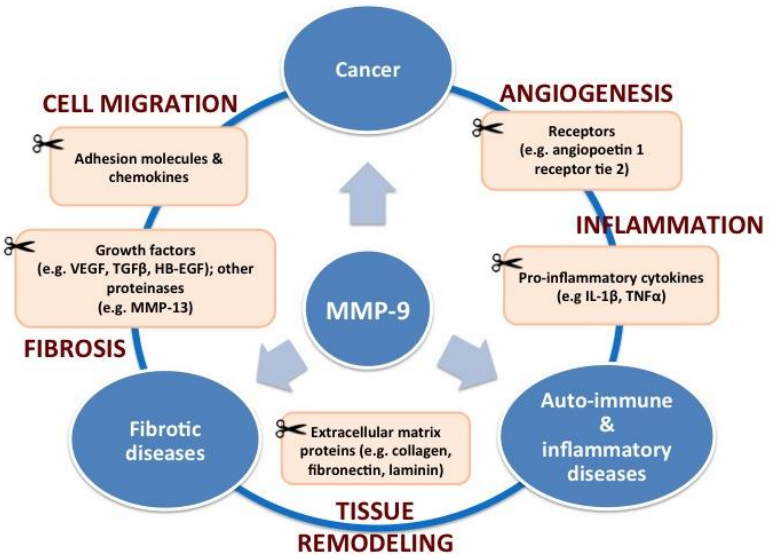
ارتبطت تعبيرية ال 9-MMP مع ورم مصورات الميناء في بعض الدراسات بالغزو الموضعي ونمو هذا الورم (Shen et al., 2010).

إن وجود ال 9-MMP في ورم مصورات الميناء قد يساعد في تحطيم القالب العظمي المحيط بالآفة حيث يرسل إشارات للخلايا لتنقسم وهذا يزيد من نسبة تكاثر الخلايا الورمية (Pinheiro et al., 2004).

Qian and Huang وجدو أن نسبة تعبيرية ال 9-MMP في ورم مصورات الميناء متباينة جداً، حيث اعتقدوا وجود ارتباط بين نسب تعبيرية هذا البروتين والأنماط النسيجية والسلوك الحيوي (Qian and Huang, 2010).

- أمراض القلب والأوعية الدموية :

ظهرت مستويات مرتفعة لل 9-MMP مترافقة مع زيادة الرجفان الأذيني مجهول السبب، كما أنه مرتبط مع تمدد الشريان الأبهري، وإنDoxycycline قد يمنع تمدد هذا الشريان من خلال تثبيطه 9-MMP (Lindeman et al., 2009).



الشكل (1-6): شكل يوضح دور ال9-MMP في إمراضية عدة آفات

4-4 مثبطات البروتينات الحالة للقالب العضوي tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs):

إن تنظيم نشاط ال MMPs في مراحل مختلفة يعتمد على مثبطات الأنسجة TIMPs و Macroglobulin- 2α (Rundhaug, 2003). حيث ينظم ال Macroglobulin- 2α طيفاً واسعاً من حالات البروتين، في حين أن ال TIMPs يعمل على تثبيط معظم الMMPs. يشاهد ال macroglobulin- 2α بشكل وفير في سوائل الأنسجة، وهو عبارة عن بروتين سكري بلازمي (Hua et al., 2011)، ولايمنع هذا البروتين تفعيل ال MMPs ولكن يخترق البروتينات الحالّة ويشكل معقدا معه (Nagase et al., 2006)، وهذا المعقد يتم التقامه والتخلص منه عن طريق بروتين شحمي منخفض الكثافة (Hua et al., 2011).

هناك أربعة أنواع مختلفة من ال TIMPs عند الإنسان وهي عبارة عن بروتينات مفرزة ذات وزن جزيئي منخفض، حيث ترتبط هذه البروتينات مع الموقع النشط من الMMPs (Rundhaug, 2003). وتتغير مستويات ال TIMPs تبعاً لبعض الحالات المرضية المتربطة بنشاط ال MMPs (Nagase et al., 2006) تتكون هذه المثبطات من 184-194 حمض أميني وتنقسم إلى مجالين n-terminal و c-terminal، حيث تشترك الأنواع الأربعة في ال-n terminal بينما تختلف عن بعضها في ال c-terminal، تثبط ال TIMPs جميع أنواع ال MMPs باستثناء ال TIMP-1 فإنه غير قادر على تثبيط MT-MMP-1 (Nagase et al., 2006).

وهناك تفضيلات مختلفة بهذه المثبطات حيث يفضل الTIMP-1 تثبيط ال MMP-9 ، كما أن الTIMP-2,4 يفضلا تثبيط ال MMP-2 عن الMMP-9 (Hua et al., 2011).

وقد تكون هذه المثبطات على الأرجح مفيدة في بعض الأمراض مثل أمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان . ولكن لايزال تطبيق ال TIMPs كأداة علاجية من خلال العلاج الجيني أو تطبيق البروتين بشكل مباشر في مراحله المبكرة من التطوير.

يفضل تثبيط أنواع محددة من ال MMPs التي تلعب دوراً في بعض الحالات المرضية، وهنا تكمن المشكلة حيث أن الTIMPs تثبط عدة أنواع من MMPs لذلك من المستحسن العمل على تطوير هندسية ذات خصوصية مختلفة لهذه المثبطات (Nagase et al., 2006).

ومن جهة أخرى، هناك العديد من الدراسات التي أظهرت تعبيرية عالية للTIMP-1,2 للأورام سيئة الإنذار، وهذا قد يعكس حقيقة التوازن بين ال MMPs والTIMPs على الرغم من أن المستويات الأعلى للMMPs وذلك بسبب إعادة قولبة القالب العضوي . لذلك من الممكن أن

تكون ال TIMP مرتبطة مع المراحل المتطورة من الورم ومع الإنذار الأسوأ (Egeblad and Werb, 2002).

خامساً: عامل النمو الوعائي البطاني Vascular Endothelail Growth Factor (VEGF):

كان يعرف هذا العامل سابقاً بعامل نفوذية الأوعية الدموية vascular permeability factor (VPF) (Senger et al., 1983)، ويتم إنتاج هذا البروتين من قبل خلايا مختلفة (Sadri et al., 2016) وذلك عن طريق إشارة من الخلايا التي تُحفز تكوين أوعية دموية جديدة، وتعتبر عائلة الVEGF (التي هي بروتينات إشارية مهمة تشارك في كل من التكوّن الوعائي vasculogenesis – تشكيل الجهاز الوعائي الجنيني – وتكوين الأوعية angiogenesis – نمو أوعية دموية جديدة من أوعية دموية موجودة من قبل) هي فرع من عائلة عوامل النمو. ويعتبر الVEGF جزءً من النظام الذي يعيد إمداد الأكسجين إلى الأنسجة التي يكون فيها الدوران الدموي غير كافٍ مثل حالات نقص الأكسجين (Palmer and Clegg, 2014) ولوحِظ في بعض الدراسات أن التركيز المصلي للVEGF يكون مرتفعاً في الربو القصبي وفي الداء السكري (Cooper et al., 1999).

يمتلك VEGF دوراً حاسماً في التطور الجنيني، وفي عمليات فيزيولوجية أخرى، وعمليات مرضية بما في ذلك التئام الجروح، التهاب المفاصل الروماتيزمي، اتساع الأوعية الدموية في العين، تطور الأورام، وأمراض القلب والأوعية الدموية (Roy et al., 2006).

5-1 أهمية عامل النمو الوعائي البطاني:

يعتبر هذا العامل نوعاً من البروتينات السكرية، والذي يمتلك عوامل وعائية وعوامل انقسامية ونفوذية وعائية، وبالتالي تعزيز نشاط الخلايا البطانية، لذلك وجدت علاقة بينه وبين العديد من السرطانات البشروية بالإضافة إلى زيادة تعبيرية VEGF-C , VEGFR-3 في المراحل البدئية للأورام التي تغزو العقد اللمفاوية (Ferrara, 2004).

تتطور الأوعية الدموية المبكرة عند الجنين بتجمع خلايا الأرومة الوعائية في شبكة بدئية من الأنابيب البطانية البسيطة. وحالما تتقولب الأوعية البدئية إلى النظام الناقل الوظيفي، تخضع لتكاثر موضعي، إضافة إلى التفرع والهجرة (Coultas et al., 2005). و بالمقابل فإنّ تنشؤ الأوعية Angiogenesis هي عملية تشكل أوعية جديدة من الشبكة الوعائية الموجودة مسبقاً بواسطة انتشار sprouting الشعيرات الدموية (Aghi and Chiocca, 2005)، وعندها تنقسم الخلايا البطانية-أثناء هذه العملية- وتساهم في تشكيل أوعية جديدة، ولذلك تعد إشارات عامل النمو الوعائي البطاني VEGF ضرورية من أجل تنفيذ تكون الأوعية وتوالد الأوعية. تتفق الكثير من المشاهدات المترافقة مع نقص التروية الدموية ischemia وتشكل الأورام مع مبدأ تكون الأوعية الدموية vasculogenesis كما يحدث هذا أيضاً أثناء تطور الأوعية ما بعد الولادة (Aghi and Chiocca, 2005).

5-2 وظائف ال VEGF الفيزيولوجية:

1- يساهم في تشكيل الأوعية الدموية والمحافظة على الخلايا البطانية.

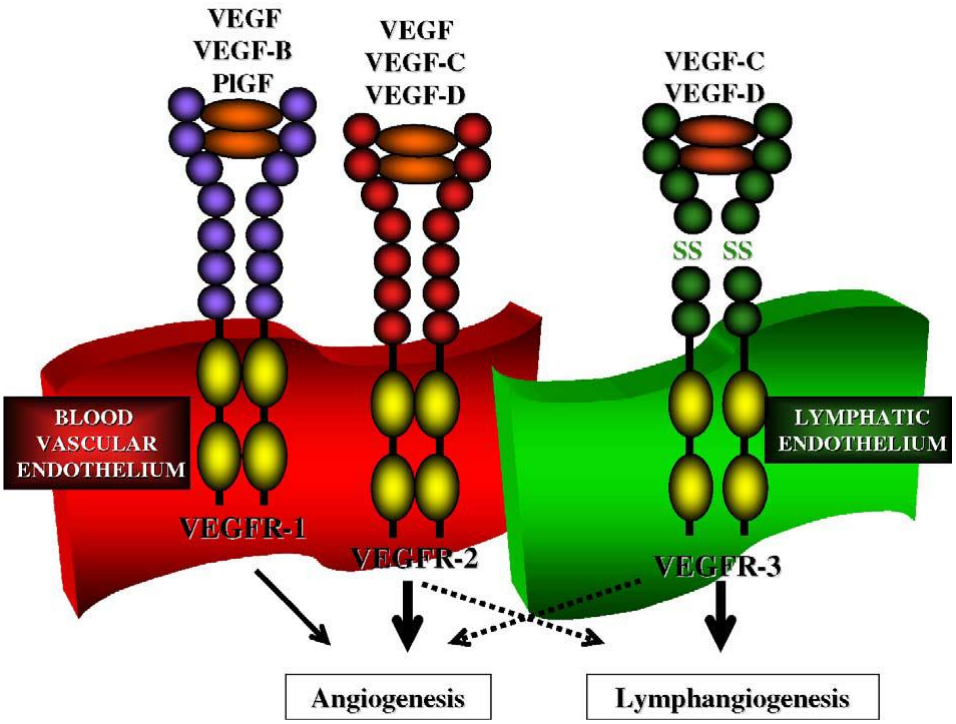
2- يساعد على تحريض تشكل أكسيد النتريك الذي يلعب أيضاً دوراً جوهرياً في نفوذية الأوعية.

3-يلعب دوراً مهماً في التعظم الغضروفي. (Gupta et al., 2016a)

3-5 عائلة عامل النمو الوعائي البطاني:

تتألف هذه العائلة من 7 أفراد: VEGF-A، VEGF-B، VEGF-C VEGF-D، VEGF-E، VEGF-F وعامل النمو المشيمي (PlGF) وعلى الرغم من أنهم يشتركون في تركيب مميز من بقايا السيستيئين في مجال متجانس فإن كل واحد منها يمتلك خصائص فيزيائية وبيولوجية مختلفة، وتتفعل من خلال مستقبلات خاصة بها VEGFR-1, VEGFR-2 and VEGFR-3 بالإضافة لارتباط بعض أفراد هذه العائلة مع NRP- Neuropilin-1,2 (1,2) (Roy et al., 2006).

إن معقد VEGF/VEGF-receptor هو عنصر أساسي في عملية تكوين الأوعية المعقدة والتي تشمل العديد من المحفزات الأخرى والمثبطات ومعدلات التوعية. ومن أهم وظائف VEGF-C , VEGF-D مع رابطيهما VEGFR-3 تنظيم التكوّن الوعائي اللمفي lymphangiogenesis ، في حين يرتبط PlGF بتكوين الشرايين (Roy et al., 2006).



شكل (1-7): يوضح عائلة عامل النمو الوعائي البطاني ومستقبلاته

1- عامل النمو الوعائي البطاني-A VEGF-A:

يعتبر جزيئاً مهماً في تحريض توليد الأوعية angiogenesis، وتكون أوعية جديدة vasculogenesis، حيث يساهم في انتشار ونمو وهجرة الخلايا بالإضافة إلى تشكيل القالب خارج خلوي (Ferrara et al., 2003)، يتفعّل VEGF-A عند ارتباطه مع مستقبلاته الأساسية VEGFR-2, VEGFR-1 ولكن من الممكن أن ترتبط مع NRP-2, NRP-1. إن التعبيرية العالية لهذا البروتين يُظهر استجابة وعائية قوية في أنسجة مختلفة، حيث ينتج غالباً أوعية كبيرة ومتوسعة (Rissanen et al., 2004)، قد يتواجد VEGF-A في سوائل وبروتينات البلازما بما في ذلك الفيبرين وذلك لتعزيز الهجرة من القالب خارج خلوي، بالإضافة إلى أنه يسبب توسعاً بالأوعية وذلك عن طريق تحريض إنزيم أكسيد النتريك البطاني وزيادة إنتاج أكسيد النتريك (Roy et al., 2006).

معظم الدراسات ركزت على دور هذا العامل في القالب العضوي خارج الخلوي ECM، ولكن هناك دراسات وصفت دوره في بعض الخلايا من خلال تحريضه للانقسام الخيطي للخلايا الظهارية الشبكية وخلايا شوان كما يؤثر على بعض الخلايا العصبية المركزية عند نقص الأكسجة في التصلب الجانبي الضموري amyotrophic lateral sclerosis، كما يساهم في التخثر عن طريق تحفيز البادئ لعامل تجلط الدم في القالب العضوي والخلايا وحيدة النوى (Roy et al., 2006).

تؤثر العديد من السيتوكينات مثل: عامل النمو المشتق من الصفيحات (PDGF) platelet derived growth factor وعامل النمو البشروي (EGF) epideral growth factor وعامل نمو الخلايا المصورة لليف الأساسي (b-FGF) basic fibroblast growth factor وعامل النمو التحولي (TGF) transforming growth factor في تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي في الخلايا (Ferrara, 2004).

2-عامل النمو الوعائي البطاني نمط B- VEGF-B:

يرتبط هذا العامل مع NRP-1 , VEGFR-1 وله شكلان: VEGF-B167 و VEGF-B186. ويتم التعبير عن الشكل VEGF-B167 في العضلات المخطّطة والعضلة القلبية والشحوم البنية وتمثل أكثر من 80% من مجمل VEGF-B، بينما يتم التعبير عن الشكل VEGF-B186 في مستوى أقل وفي عدد محدود من الأنسجة ولكن لا يزال الدور الدقيق لـ VEGF-B غير معروفاً (Tammela et al., 2005).

إن انخفاض تكون الأوعية الدموية في التهاب المفاصل في غياب الVEGF-B يشير إلى دوره في تكوين الأوعية في النسيج الالتهابي (Mould et al., 2003)، وأظهرت بعض الدراسات أن عوز هذا العامل عند الفئران يؤدي إلى تشكّل قلب أصغر حجماً وشفاءً أقل بعد الاحتشاء التجريبي وقد يدل هذا أن تجديد الأوعية الجانبية عن طريق تنشؤ الشرايين قد يعتمد على VEGF-B بشكل جزئي على الأقل (Bellomo et al., 2000).

3-عامل النمو الوعائي البطاني-C VEGF-C:

يحفز هذا العامل الانقسام الخيطي وهجرة الخلايا والحفاظ على القالب خارج خلوي، وأظهر VEGF-C تعبيرية في القلب والمشيمة والمبيض والأمعاء الدقيقة والغدة الدرقية عند البالغين (Roy et al., 2006). وأثبت عوز هذا البروتين خلال عدة تجارب دوره كعامل نمو لمفي. ويساهم هذا العامل في الأورام والإلتهابات المترافقة مع تكوّن وعائي لمفي lymphangiogenesis. كما أنه ينجذب بشكل عالٍ إلى مستقبلاته VEGFR- 2 و VEGFR-3، حيث يتم زيادة نفوذية الأوعية عند ارتباط VEGF-C مع VEGFR-2 (Roy et al., 2006) . أثناء التطور يعبر VEGF-C عن نفسه عن طريق مستقبله VEGFR-3 بشكل أساسي في المناطق التي تتطور فيها الأوعية اللمفاوية (Karkkainen et al., 2004).

4-عامل النمو الوعائي البطاني -D VEGF-D:

هو عبارة عن بروتين سكري ويماثل بشكله البنيوي بنسبة 48% VEGF-C. ويتم التعبير عنه في العديد من الأنسجة مثل البطانة الوعائية، القلب، العضلات الهيكلية، الرئة والأمعاء ويرتبط مع VEGFR- 2و VEGFR-3، وقد أُثبِت مخبرياً وسريرياً امتلاكه لخصائص وعائية المنشأ، ويساهم يشكل مماثل لVEGF-C في التكون الوعائي اللمفاوي

lymphangiogenesis حيث وُجِد أن عوزه عند الفئران يؤدي إلى فقدان الأوعية اللمفاوية العميقة (Mould et al., 2003)، وتبيّن وجود قيمة لـ VEGF-D من أجل تحديد الإنذار في سرطانات محددة وذلك عن طريق معدّل البُقية وغزو الأوعية الدموية (He et al., 2004).

5-عامل النمو الوعائي البطاني- VEGF-E E:

أُكتشِفَ هذا العامل مترافقاً مع (Orf virus) الذي يصيب الأغنام والماعز وأحياناً البشر فإن الإصابة بهذا الفيروس تسبب آفات جلدية تكاثرية. حيث تحرض السلالات المختلفة ال **VEGF-E** والذي يرتبط تحديداً مع VEGFR-2 و NRP-1 وعندئذ يقوم بتحفيز الانقسام الخيطي في خلايا القالب خارج الخلوي ECM وزيادة النفوذية الوعائية، و يعتبر هذا الجين محرّضاً قوياً على الاستجابة الوعائية (Roy et al., 2006).

6-عامل النمو الوعائي البطاني-VEGF-F F:

تم العثور على العضو السابع من عائلة الVEGF في الآونة الأخيرة في سُم الثعبان ، حيث يتكون من بروتينين ذات صلة بالVEGF ، ويرتبط بشكل انتقائي مع VEGFR-2 (Yamazaki et al., 2005).

7-عامل النمو المشيمي Placental growth factor:

عامل النمو المشيمي (PIGF) هو عضو من عائلة VEGF الذي اكتُشِف لأول مرة في المشيمة ولكن وُجِد أيضاً في في القلب والرئتين ، له أربعة أنواع (PIGF-1,2,3,4). ترتبط جميع أشكال هذا العامل مع VEGFR-1 بينما يرتبط PIGF-2 مع NRP-2 , NRP-1 (Roy et al., 2006)، إن تفعيل VEGFR-1 يتم إما بواسطة عامل النمو المشيمي أو عامل النمو

الوعائي البطاني، ويؤدي إلى زيادة تعبيرية جينات مختلفة وفسفرة نهايات التيروزين كيناز المختلفة (Autiero et al., 2003).

أظهرت إحدى الدراسات على بعض الفئران أنها شفيت ببطئ من احتشاء تجريبي عند حقنها بهذا العامل وأظهرت تشكّل أوعية دموية جانبية كاستجابة على نقص التروية (Carmeliet et al., 2001). وظهر عند حقن PlGF دوره كعامل انجذاب قوي للخلايا وحيدة النوى مساهماً في تراكم البالعات الكبيرة (Ahmed et al., 2000). كما أظهرت العديد من الدراسات زيادة تعبيرية هذا البروتين في بعض الحالات المرضية مثل سرطان القولون والمستقيم، وعند التئام الجروح، في حين تنخفض مستوياته في حالة التسمم أثناء الحمل، كما له دور في تصلب الشرايين (Khurana et al., 2005).

5-4 مستقبلات عامل النمو الوعائي البطاني VEGF Recepters الشكل (1-8):

- **VEGFR-1**(VEGFR-1 ينظم التشكّل في الأوعية الدموية Mophogenesis):

يرتبط VEGFR-1 مع VEGF-A و VEGF-B و PLGF ارتباطاً قوياً. ينقل VEGFR-1 بنفسه إشارات ضعيفة محدثة للانقسام الخيطي في الخلية البطانية (Ferrara et al., 2003)، ولكن بإمكانه التمازج مع VEGFR-2 مشكلاً معقداً ذا خواص أقوى من خواص المستقبلين منفردين (Huang et al., 2001).

يظهر VEGFR-1 في الخلايا البطانية وخلايا مصورات العظم، والخلايا البالعات الكبيرة والوحيدات وخلايا الأرومة المغذية المشيمية trophoblast، إضافة إلى بعض الخلايا الجذعية

المشكلة للدم (Zachary and Gliki, 2001). تزداد تعبيرية VEGFR-1 أثناء التنشؤ الوعائي ونقص الأكسجة، بخلاف الـ VEGFR-2 و VEGFR-3 (Partanen et al., 1999). ويُقترح أن التنشؤ الوعائي المرافق للأورام المستحدثة يثبَّط جزئياً بواسطة مضادات أضداد VEGFR-1 (Luttun et al., 2002).

- **VEGFR-2** (VEGFR-2 ينظم النفوذية الوعائية vessel permeability):

يرتبط VEGFR-2 مع كلٍّ من VEGF-C وVEGF-A وVEGF-D. (Gille et al., 2001) . ويعتبر المستقبل الأساسي الذي ينقل إشارات VEGFs في النسيج الخلالي ، ويعد مسار إشارة VEGFR-2 مهماً جداً في إنجاز ال VEGF لتأثيراته بما في ذلك توسع الأوعية vasodilatation، هجرة الخلايا البطانية، وتكاثر الخلايا (Roy et al., 2006).

يظهر هذا المستقبل في عدة خلايا مثل: الخلايا العصبية، والخلايا المصورة للعظم، وخلايا الأقنية البنكرياسية، وخلايا الشبكية السليفة، والخلايا الجذعية المكونة للدم (Matsumoto and Claesson-Welsh, 2001). تقل تعبيرية VEGFR-2 في الخلايا البطانية للأوعية الدموية الناضجة ولكنها تزداد ثانية في الخلايا البطانية للأوعية المتولدة الجديدة (Partanen et al., 1999).

- **VEGFR-3** (VEGFR-3 ينظم التكون الوعائي اللمفاوي lymphangiogenesis):

يرتبط هذا المستقبل مع VEGF-C و VEGF-D، ويوجد أثناء التطور الجنيني في جميع الخلايا البطانية، ولكن عند البالغين يصبح مقتصراً على القالب العضوي اللمفاوي (Roy et al., 2006) حيث اقترحت الدراسات التطورية أن إشارات VEGFR-3 تلعب دوراً أساسياً في

تطور الأوعية الدموية في المرحلة الجنينية، بينما تصبح زائدة في المرحلة اللاحقة، بالإضافة إلى أنه ينظم التوعية في القالب خارج الخلوي للأورام (**Makinen et al., 2001**).

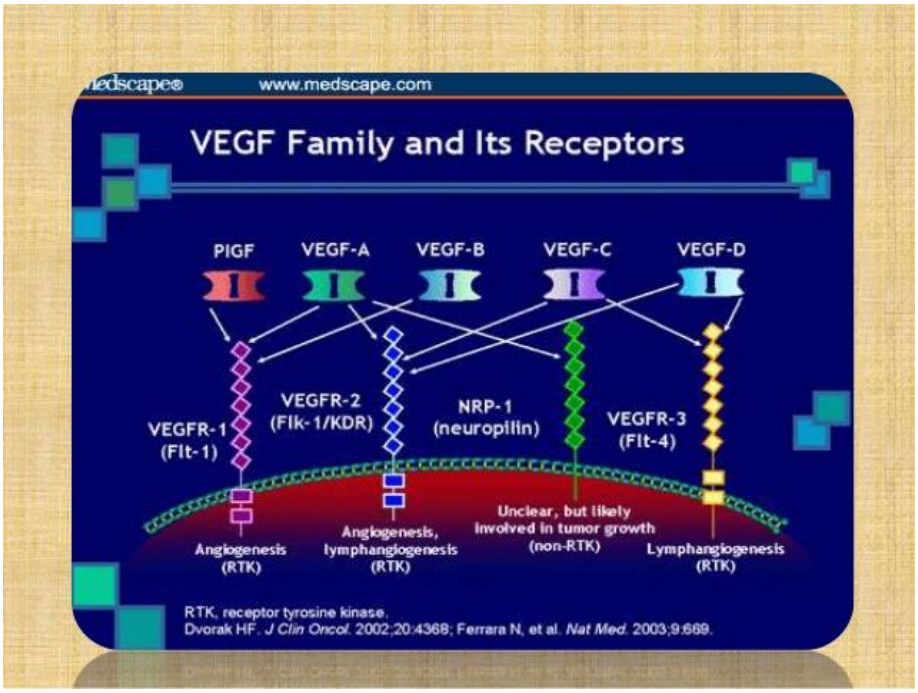
يعتبر هذا المستقبل مهماً في التكون الوعائي اللمفاوي lymphangiogenesis، حيث أشارت بعض الدراسات على الفئران المعدلة وراثياً أن زيادة هذا VEGFR-3 يؤدي إلى افتقار في الأوعية اللمفاوية الجلدية (Makinen et al., 2001) يزيد تعبير VEGFR-3 عن نفسه في الخلايا البطانية للأوعية الدموية في الحالات المرضية مثل الأورام الوعائية و محيط الأورام الوعائية (Skobe et al., 2001).

- النيروبيلين Neuropilins:

يمتلك النيروبيلين دوراً مهماً في المناعة والتطور العصبي، بالإضافة إلى دوره في التنشؤ الوعائي، وله شكلان NRP-1 و NRP-2 حيث يرتبط NRP-1 مع VEGF-A165 و VEGF-B و PLGF . بينما يقوم NRP-2 بربط VEGF-A165 ، PLGF و VEGF-C. يعد NRP-1 كمستقبل مشارك لتحفيز تفاعلات VEGF-VEGFR-2 كما أنه يشكل معقدات مع VEGFR-1 (Herzog et al., 2001).

وأظهرت الدراسات على الفئران المعدلة وراثياً أن التعبيرية الزائدة لNRP-1 ينتج عنها فرطاً في تشكل الشعيرات الدموية والأوعية الدموية والنزف، بالإضافة إلى حدوث تشوهات قلبية (Roy et al., 2006) إن تعبيرية NRP-1 البطاني تكون محصورة في الشرايين، بينما NRP-2 في الأوردة، مما يشير إلى دورهما في تحديد هوية الخلايا البطانية الوريدية/الشريانية (Herzog et al., 2001).

إن تفعيل التنشؤ الوعائي أثناء نمو الأورام يتزايد بشكل ملحوظ كحادثة ثانوية هامة في التكون الورمي tumorigenesis ,2007 Folkman)(. تتضمن حلقة إشارات ماقبل التنشؤ الوعائي من عائلة VEGF وخصوصاً VEGF-A (Chung et al., 2010).



الشكل (1-8): ارتباط عائلة عامل النمو الوعائي البطاني مع مستقبلاته

إن ارتباط VEGFs إلى مستقبلات التيروزين كيناز (VEGFR-1 و VEGFR-2 و VEGFR-3 والنيروبيلين) يعتبر قادح زناد لشلال الإشارات التي تؤدي إلى تفعيل الخلايا البطانية وتكاثرها وديموتها وهجرتها. يعدّ VEGF قادراً على تحريض فرط النفوذية الوعائية، ويعمل على حشد الخلايا السليفة للخلايا البطانية والخلايا المناعية والداعمة (Chung et al., 2010).

5-5 دراسات سابقة درست تعبيرية ال VEGF في آفات مرضية داخل الحفرة الفموية:

1-وجد Salem وزملاؤه تعبيرية لل VEGF في بعض الآفات القبيل سرطانية مثل الحزاز المنبسط، ووجد علاقة بين تعبيرية هذا العامل ودرجة الالتهاب الحاصلة في الآفة (Salem et al., 2011)، كما قام Cheng وزملاؤه بدراسة الVEGF على البشرة الفموية الطبيعية وعلى السرطان شائك الخلايا الفموي (OSCC) مع نقائل للعقد اللمفاوية، فوجد أن تعبيريته كعامل تشخيصي للمرضى ذوي الإنذار السيء تكون عالية (Cheng et al., 2011). تعتبر بعض البروتينات كمؤشرات حيوية فعالة للتسرطن مثل VEGF, MMP-2,MMP-9 حيث وجد أن لها تعبيرية عالية في كل من الآفات السرطانية والقبيل السرطانية (Gupta et al., 2016a).

2-درس Faur وزملاؤه تعبيرية هذا العامل VEGF في مختلف آفات الغدد اللعابية بما فيها الأورام الحميدة والخبيثة فوجد أهمية تعبيريته في الأورام الخبيثة مقارنةً مع الأورام الحميدة، ووجد أن تعبيريته في الأوعية الدموية الدقيقة في الأورام هو عنصر مهم في التشخيص وتقييم تطوّر هذه الأورام (Faur et al., 2014).

3-كما وجدت بعض الدراسات تعبيرية VEGF في اللثة السليمة وفي التهابات الأنسجة الداعمة والورم الحبيبي المتقيح، ولكن أظهرت زيادة في التعبيرية بشكل ملحوظ في الورم الحبيبي المتقيح وشوهد التلون الإيجابي في هيولى الخلايا البالعة الكبيرة والخلايا المصورة لليف (Rubini et al., 2011).

4-درس Rubini وزملاؤه تعبيرية هذا العامل في الأكياس سنية المنشأ فوجدوا اختلافاً كبيراً في تعبيريته بين الورم الكيسي المتقرن سني المنشأ KCOT والكيس التاجي، حيث كانت نسبة التلون

الإيجابي في الخلايا البشروية ل KCOT أكثر من 50%، بينما كان الكيس التاجي متلوناً بنسبة 10% فقط وبشكل مشابه في الخلايا البطانية ، حيث دعمت نتائجهم الفرضية القائلة أن التشكل الوعائي يكون في آليته الفعالة عند النمو والغزو وخاصة في KCOT (Rubini et al., 2011).

5-حدد Chen وزملاؤه العلاقة بين تعبيرية أكسيد النتريك المحرض و VEGF و CD34 في ورم مصورات الميناء، ودرَسَ العلاقة بين تعبيرتيهما وبين التشكل الوعائي مع سلوكيات الورم السريرية والحيوية حيث اكتشف أن أكسيد النتريك وعامل النمو الوعائي البطاني ارتبطا ارتباط وثيقاً مع التشكل الوعائي ضمن الورم ومع السلوك الغازي العدواني (Chen et al., 2009). كما قيم Gupta تعبيرية VEGF وكثافة الأوعية الدقيقة microvessel باستخدام الأجسام المضادة anti-CD31، فوجد أهمية هذا العامل في تشكيل الأوعية الدموية في الأورام البشروية سنية المنشأ (Gupta et al., 2016a). ودرس Kumamoto وزملاؤه تعبيرية هذا العامل في كل من الخلايا البشروية السليمة والورمية سنية المنشأ، فوجد التعبيرية المفرطة في الخلايا الورمية الخبيثة وبتعبيرية أقل في الخلايا الورمية السليمة في ورم مصورات الميناء (Kumamoto et al., 2002).

كل ماسبق نكتشف أهمية هذا العامل في مختلف الدراسات ودوره في التشكل الوعائي، ومساهمة الأشكال المختلفة لعائلة عامل النمو الوعائي البطاني في التشخيص الأكثر دقةً وتفصيلاً، حيث أن زيادة مستويات هذا العامل من الممكن أن تعزز نمو الورم عن طريق التشكل الوعائي وهذا قد يصبح هدفاً في علاج السرطانات المتعددة. بالإضافة إلى اعتباره علامة مفيدة للتشخيص قبل العلاج حيث يساعد على اختيار طريقة العلاج المناسبة ويساعد أيضاً في الكشف المبكر عن

السرطانات وبهذا يساهم في انخفاض معدل الوفيات. ولكن مازال هناك حاجة إلى مزيد من المعرفة الدقيقة عن الأدوار المختلفة للوسطاء وعن كيفية ابتداء مساراتهم، وماهي التغييرات التي تحدث عند تثبيط مستقبلاتها وعندها يصبح واسماً إنذارياً مهماً للآفات الخبيثة (Gupta et al., 2016a).

الباب الثاني

مواد البحث وطرائقه

MATRIALS AND METHODS

2-1 وصف العينة:

تم الحصول على عينة البحث المطلوبة لإجراء هذه الدراسة التي تتألف من 30 خزعة محفوظة في قوالب شمع البارافين من أرشيف قسم النسج والتشريح المرضي في كلية طب الأسنان جامعة دمشق حيث أُخذت جميع حالات ورم مصورات الميناء وحالات الكيس التاجي الحديثة المتوفرة.

وتم قطع هذه العينات وتلوينها بالهيماتوكسلين-إيوزين وفحصها تحت المجهر الضوئي لاختيار العينات المناسبة حيث تم ضبط العينة عن طريق معايير إدخال وإخراج خاصة بكل آفة.

شملت معايير إدخال ورم مصورات الميناء التالي:

- أن يكون من النمط داخل العظمي.
- أن يكون من النمط متعدد الكيسات أو الصلد (الجرابي-الضفيري).

معايير الاستبعاد:

تم استبعاد جميع حالات ورم مصورات الميناء من النمط الكيسي والنمط المحيطي.

أما معايير إدخال الكيس التاجي:

- ألّا يكون ملتهباً نظراً لتأثير الالتهاب على البنية النسيجية والجزيئية والمناعية للخلايا.

وبذلك انقسمت العينة إلى مجموعتين :

15 قالباً شمعياً من ورم مصورات الميناء

15 قالباً شمعياً من الكيس التاجي

ثم تم الحصول على شريحتين من كل عينة وتلوينها وفق الآتي :

1- الشريحة الأولى: تم تلوينها بالضد الأول وهو عامل النمو الوعائي البطاني.

2- الشريحة الثانية: تم تلوينها بالضد الثاني وهو البروتين الحال للقالب العضوي-9.

2-2 مواد البحث:

1- الكحول بتراكيز مختلفة الشكل رقم (2-1).

2- الإكزيلول الشكل رقم (2-2).

3- سلايدات زجاجية من شركة (Sail Brand) الصينية الشكل رقم (2-3).

4- مواد التلوين بملونات الهيماتوكسيلين و الإيوزين التقليدية الشكل رقم (2-4).

5- بلسم كندا

6- سواتر زجاجية رقيقة من نوع Citoglas

2-3 مواد الملونات المناعية :

A . سلايدات زجاجية عليها لاصق مناعي من شركة Marienfeld الألمانية.

B . ظروف المحلول الدارىء من Dako الشكل رقم (2-5).

C . محلول إسترجاع المستضد Antigen retrieval الشكل رقم (2-6).

D . كيت التلوين المناعي المفرد من شركة Bio SB الأمريكية الشكل (2-7) ويضم:

Chromogen solution-DAB BUFFER-HRP LABEL-PEROXIDASE

E . ضد وحيد النسيلة Rabbit monoclonal to VEGF ممدد من شركة Bio SB ويتوضع هذا الواسم في السيوبلاسما (الهيولى) الشكل رقم (2-8).

F . ضد وحيد النسيلة Rabbit monoclonal to MMP-9 ممدد من شركة Bio SB ويتوضع هذا الواسم في السيوبلاسما (الهيولى) الشكل رقم (2-9).

G . قلم التحديد من شركة Dako الشكل رقم (2-10).

2- 4 الأجهزة المستخدمة:

1-المبشرة النسيجية (Microtome) لقطع الأنسجة بثخانة رقيقة 4 ميكرونات من نوع Leica الألمانية الشكل رقم (2-11)

2- المحم المائي للحصول على الماء الفاتر بدرجة 45-40 الشكل رقم (2-12)

3- السخان من نوع (Leica - ألمانيا) الشكل رقم (2-13).

4- المايكرويف الشكل رقم (2-14).

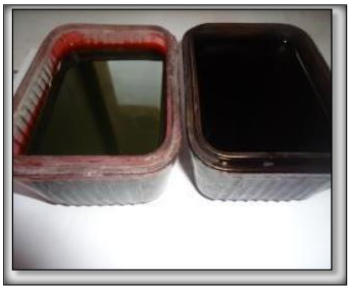
5- الممصات Pipette الشكل رقم (2-15).

6- المجهر الضوئي نوع Nikon Olympus – cx21 - اليابان الشكل رقم (2-16).

الشكل (2-1) الكحول

الشكل(2-2) الإيكزيلول

الشكل (2-3) الشرائح الزجاجية والسواتر



الشكل (2-4) الهيماتوكسيلين والإيوزين

الشكل (2-5) ظروف المحلول الدارىء

من Dako

الشكل (2-6) محلول إسترجاع المستضد

Dako

الشكل (2-7) الكيت المناعي المفرد من

Bio-SB

الشكل (2-8) ضد وحيد النسيلة

MMP-9

الشكل (2-9) ضد وحيد النسيلة VEGF

الشكل (2-10) قلم التحديد

الشكل (2-11) المبشرة النسيجيّة

الشكل (2-12) المحمّ المائي

الشكل (2-13) السخّان

الشكل (2-14) المايكروويف

الشكل (2-15) الممص

الشكل (2-16) المجهر الضوئي

2-5 طريقة العمل :

2-5-1 طريقة التلوين التقليدي بالهيماتوكسيلين والإيوزين :

1- تم تثبيت المكعب الشمعي على المبشرة النسيجية Microtome وتحدد سماكة القطع ب 4 ميكرون.

2- تم فرش المقاطع البارافينية في محم مائي يحتوي على ماء مقطر بدرجة حرارة 40-45 درجة مئوية لإزالة التجاعيد وتحميلها على الشرائح الزجاجية.

3- تم تمرير الشرائح الزجاجية في فرن التجفيف بدرجة حرارة 45-50 درجة مئوية لتجفيفها من الماء لمدة 10 دقائق.

4- ثم مُررت الشرائح في 3 حمامات من الكزيلول لمدة 15 دقيقة لكل حمام بهدف إزالة شمع البارافين.

5- وتم تمرير بعد ذلك الشرائح في الكحول المطلق، ثم كحول بنسبة 95% يليها 70% ثم 50% لمدة 15 دقيقة لكل حمام لتتم إزالة الكزيلول.

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

7- تم وضع الشرائح بعد ذلك في الإيوزين لمدة تتراوح بين دقيقة ودقيقة ونصف وغُسلت بالماء لإزالة الإيوزين الزائد.

8- تم وضعهم في حمام كحول 70% لمدة دقيقة ثم 95% لمدة دقيقة، ثم في حمامين من الكحول المطلق لمدة دقيقة واحدة لكل حمام ليتم طرد الماء من النسيج.

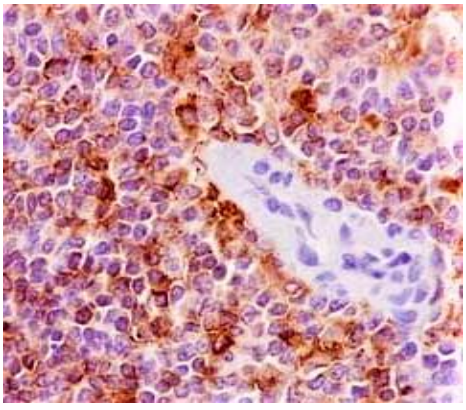
9 – تم تجفيف العينة ووُضعت في الكزيلول لمرتين متتاليتين لمدة 3 دقائق في كل مرة لطرد الكحول.

10 – وأخيراً تم ستر السلايدات الزجاجية بالسواتر باستخدام بلسم كندا لتصبح جاهزة للفحص النسيجي.

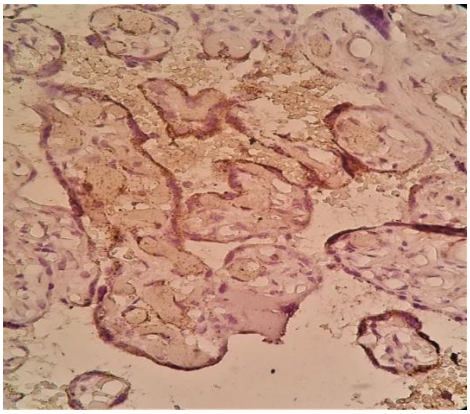
بعد تطبيق معايير الإدخال و الاستبعاد الواردة في وصف العنية انتقلنا إلى المرحلة الثانية وذلك بالتلوين بالملونات المناعية.

2-5-2 طريقة التلوين المناعي:

بدايةً تم اختبار فعالية مواد التلوين ومجموعة التلوين المفرد ، وذلك باستخدام الملونات على عينة شاهدة إيجابية سليمة (Positive control) فقمنا باختيار الطحال كعينة شاهدة إيجابية لـMMP-9 الشكل (2-17) والمشيمة لـ VEGF الشكل(2-18) وذلك حسب ماورد في دفتر تعليمات الشركة المصنعة.



الشكل (2-17) يوضح فعالية الملون MMP-9 في الطحال



الشكل (2-18) يوضح فعالية الملون VEGF في المشيمة

بعد نجاح اختبار فعالية المواد تم البدء بالعمل لتلوين محضرات الدراسة الحالية.

البروتوكول المناعي المتبع: (VEGF + MMP-9)

1- إزالة شمع البارافين :

- حُضرت المقاطع النسيجية بالمبشرة بثخانة 4 ميكرونات.

- وُضعت المقاطع النسيجية على شرائح الزجاجية ذات اللاصق المناعي.

- وُضعت الشرائح في فرن التجفيف مدة 120 دقيقة بدرجة 50 درجة مئوية.

- مُررت الشرائح في سلسلة من الحمامات تتضمن حمامين من الكزيلول النقي لمدة (3- 5 دقائق) لكل منهما، ليتبع بثلاثة حمامات من الكحول تبدأ بالكحول المطلق ثم الكحول 75% ، ومن ثم 50% مدة خمس دقائق لكل حمام، وبعدها تغسل الشرائح بالماء الجاري بلطف.

2- عملية إسترجاع المستضد target retrieval:

- تم تحضير محلول إسترجاع المستضد حسب تعليمات الشركة المصنعة، وذلك بتمديده بالماء المقطر بنسبة (100/1) ، 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 15 دقيقة (حوالي 10 دقائق بعد الغليان).

- تُركت الشرائح الزجاجية لتبرد بدرجة حرارة الغرفة من 10-20 دقيقة.

- ثم وُضعت الشرائح في حوض يحوي السائل الدارئ PBS لمدة 5 دقائق، ثم نقلت إلى حوض آخر يحوي السائل الدارىء أيضاً PBS لمدة 3 دقائق مع الانتباه لعدم جفاف المقاطع النسيجية خلال مراحل التلوين كافة.

3- تطبيق Peroxidase Blocker:

- أُزيل المحلول الدارىء PBS الزائد ومُسح حول العينة بلطف، واستُخدم قلم التحديد من DAKO لتحديد حول المقاطع النسيجية بهدف منع تسرب المواد المطبقة خارج النسيج الشكل رقم (2-19). وطُبقت المادة بواسطة الممص (Eppendorf) بحيث غطت كامل العينة وتركت 5 دقائق الشكل رقم (2-20).

- غُسلت الشرائح بعدها بالمحلول الدارىء PBS مع تجنب الغسيل المباشر للعينة النسيجية، ثم وضعت في حمام جديد من السائل الدارىء لمدة 5 دقائق الشكل رقم (2-21)

4- تطبيق الضد الأولي Primary antibody:

-حُضرت الملونات ومُددَت بالسائل الدارىء PBS حسب التراكيز المذكورة سابقاً، وبعدها أزيل المحلول الدارىء الزائد مع المسح حول العينة بلطف، ثم طبق الضد الأولي بواسطة الممص بحيث تغطى كامل العينة، وكان زمن الحضن 45 دقيقة الشكل رقم (2-22).

- غُسلت بعدها الشرائح بالمحلول الدارىء ووضعت في حوض من السائل الدارىء لمدة 5 دقائق.

5- تطبيق Secondary Biotinylated و HRP Label لمدة عشر دقائق لكل منهما الشكل رقم (2-23).

6- تطبيق DAB:

حُضر حسب توصيات الشركة المنتجة (1 مل من Substrate buffer مقابل 20 ميكروناً من DAB + Chromogen) مع المزج جيداً ضمن عبوة مناسبة الشكل رقم (2-24)، كذلك أُزيل

المحلول الدارىء من حول العينة وطبقت المادة بلطف بواسطة الممص بحيث تغطي 1 مل العينة وتركت لمدة 5 دقائق، ثم غسلت الشرائح بلطف الشكل رقم (2-25).

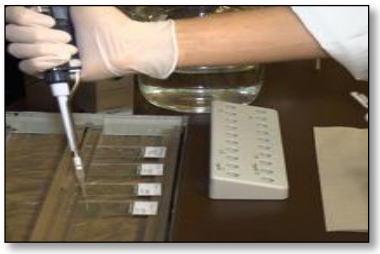
7- ثم طُبق الهيماتوكسيلين على العينات لمدة تقارب 30 ثانية ثم غسلت بالماء الشكل رقم (26-.2)

8- بعدها مُررت الشرائح بحمامات متتالية من الكحول ثم الكحول المطلق (كل حمام لمدة 3 دقائق) ثم حمامين من الكزيلول (3-5 دقائق)، وفي النهاية سُترت العينات ببلسم كندا وأصبحت جاهزة للدراسة المناعية.

وبالتالي حصلنا على 30 شريحة ملونة بتلوين الهيماتوكسيلين والإيوزين التقليدي، 60 شريحة ملونة تلويناً مناعياً (30 شريحة ملونة بـ VEGF - 30 شريحة ملونة بـ MMP-9).

الشكل (2-19) تحديد العينة بقلم Dako

الشكل (2-20) تطبيق البيروكسيداز



الشكل (2-21) غمر السلايدات في السائل الدارىء

الشكل (2-22) تطبيق الضد الأولي

الشكل (2-23) تطبيق HRP-Label على النسيج

الشكل (2-24) تحضير الكروموجين

الشكل (2-25) تطبيق الكروموجين

الشكل (2-26) تطبيق الهيماتوكسيلين على النسيج

2-5-3 تقييم العينة المدروسة:

تم تقييم التلوين بعامل النمو الوعائي والبطاني والبروتين الحال للقالب العضوي-9 على إعتبار أنهما موجودين في هيولى الخلايا البشروية وخلايا النسيج الضام بلون بني، وبالتالي تعبيرية

إيجابية، وعُدَّ الملون سلبياً في حال غياب اللون البني في هيولى خلايا البشروية وخلايا النسيج الضام المكونة للآفات، وبالتالي تكون التعبيرية سلبية.

2-5-4 طريقة العد وتفسير البيانات:

تم تفسير البيانات عن طريق عدّ الخلايا المتلونة في المحضّرات الملوّنة مناعيّاً وتقسيمهم إلى خمس مجموعات (Shen et al., 2010) ، وقد تم تحديد أربع ساحات في كل من مواقع الخلايا البشروية ومواقع خلايا النسيج الضامّ، وتم تحديد نسبة عدد الخلايا غير المتلونة (السلبية) وعدد الخلايا المتلونة (الإيجابية) بالملوّن المدروس في كل شريحة من الشرائح النسيجية المدروسة في عينة البحث، وتم حساب كل من معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF ومعدل تعبيرية البروتين الحالّ للقالب العضوي MMP-9 لكل شريحة من الشرائح النسيجية المدروسة في عينة البحث وفقاً للمعادلة التالية:

معدّل تعبيرية الخلايا بالملوّن المدروس في كل شريحة نسيجية = (عدد الخلايا المتلوّنة بالملوّن المدروس نفسه (4ساحات) ÷ عدد الخلايا الكلي الخاصة بالملوّن المدروس نفسه(4ساحات)) × 100 في الشريحة النسيجية نفسها

2-5-5 الاختبارات الإحصائية المستخدمة:

أُجريت الدراسة الإحصائيّة باستخدام برنامج SPSSv.19 ، واستُخدِم التحليل التالي:

- اختبار T ستيودنت:

هناك أكثر من نوع لاختبار T ستيودنت يسمى النوع الأول (اختبار T ستيودنت للعينة الوحيدة One Sample T Test)، وهو مخصص لمقارنة متوسط متغير ما لعينة وحيدة مع قيمة

معيارية معينة. أما النوع الثاني (الذي نسميه اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة Independent Samples T Test) فهو لاختبار فرضية تساوي متوسطين حسابيين لمجموعتين مختلفتين (بين مجموعة الذكور ومجموعة الإناث مثلاً)، والنوع الثالث هو ما يسمى بـ (اختبار T ستيودنت للعينات المترابطة Paired Samples T Test)، وهو مخصص لمقارنة متوسطي متغير ما لعينة وحيدة ولكن في فترتين مختلفتين (بين قيم متغير ما قبل المعالجة وقيمه بعد المعالجة في المجموعة الشاهدة مثلاً).

وتم استخدام النوع الثاني في دراستنا : اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة Independent Samples T Test

الإحصاءات الوصفية : وتتضمن وصفاً للمتغيرات الإحصائية وهي العدد والمتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري.

نتائج اختبار T ستيودنت : ونجد في هذا النوع من الجداول (قيمة t المحسوبة) وهي القيمة التي من المفترض مقارنتها مع قيمة نظرية توجد في الجداول الإحصائية ووفق درجات الحرية المذكورة في الجدول نفسه (إذا أردنا استخدام الطريقة اليدوية في اتخاذ القرار الإحصائي)، ونجد أيضاً عموداً يحتوي على الفروقات في المتوسط الحسابي وفي الانحراف المعياري وفي الخطأ المعياري، وجميع هذه الفروقات بالإضافة إلى قيمة t المحسوبة تستخدم لحساب (قيمة مستوى الدلالة) التي عادة ما تسمى في الكتب الإحصائية أو في برنامج Excel بـ P –value، وقد تسمى في الكتب والبرامج الأخرى بالدلالة أو Significance، وهي عبارة عن احتمال تساوي المتوسطات. والحقل الذي يحتوي على قيمة مستوى الدلالة هو الحقل الأساس في تقرير وجود فروق دالة بين المتوسطين المدروسين أم لا، فعندما نعتمد مستوى الثقة 95% (وهذا هو

المستوى الذي عادة ما يأخذ به الإحصائيون والباحثون)، فإننا ننظر في قيمة مستوى الدلالة هذا، فإذا كان يساوي أو أقل من 0.05 فإننا نقرر عدم تحقق الفرضية (فرضية العدم، أي عدم وجود فروق دالة إحصائياً)، ونقرر وجود الفروق الإحصائية، والعكس بالعكس.

الباب الثالث :

النتائج والدراسة الإحصائية

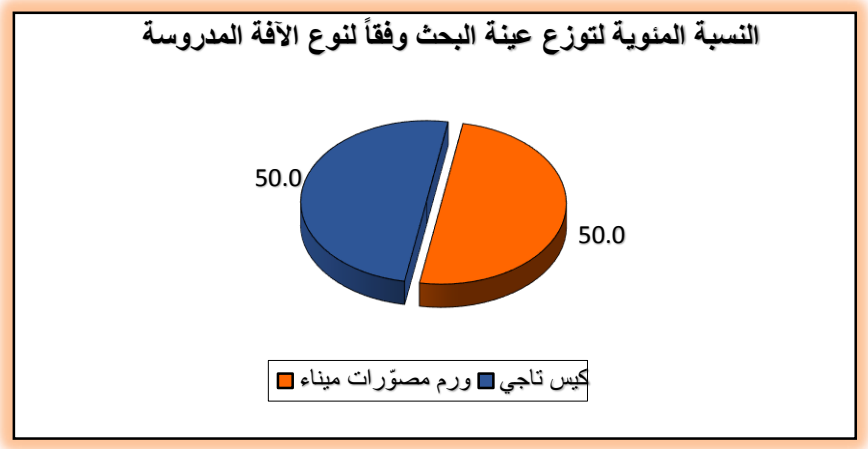
Results and statistical study

3-1 وصف العينة

تألفت عينة البحث من 30 حالة، مقسمة إلى مجموعتين كما هو موضح في الجدول رقم (3-1) والمخطط (3-1):

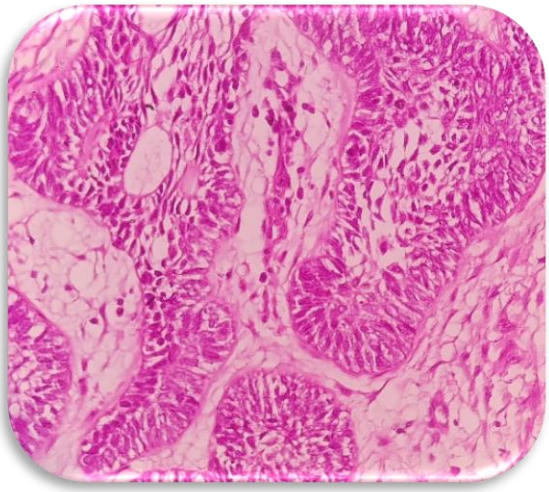
نوع الآفة المدروسة	عدد الخزعات النسيجية	النسبة المئوية
ورم مصوّرات ميناء	15	50.0
كيس تاجي	15	50.0
المجموع	30	100

الجدول(3-1): نسب المجموعات ضمن العينة

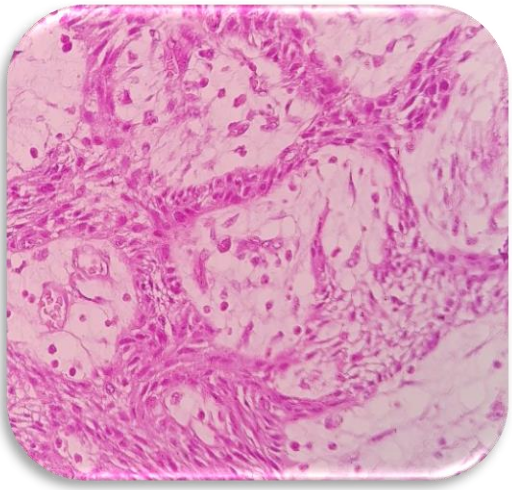


المخطط (3-1) توزيع العينة وفقاً لنوع الآفة المدروسة

انقسمت عينات ورم مصورات الميناء على الشكل التالي: 10 حالات من ورم مصورات الميناء النمط الجرابي folicullar type و5 حالات من ورم مصورات الميناء النمط الضفيري (الشبكي) plexiform type.



الشكل (3-1): ورم مصورات الميناء النمط الجرابي تلوين H&E ×400



الشكل (3-2): ورم مصورات الميناء النمط الضفيري تلوين H&E ×400

3-2 المتغير الأول : قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF

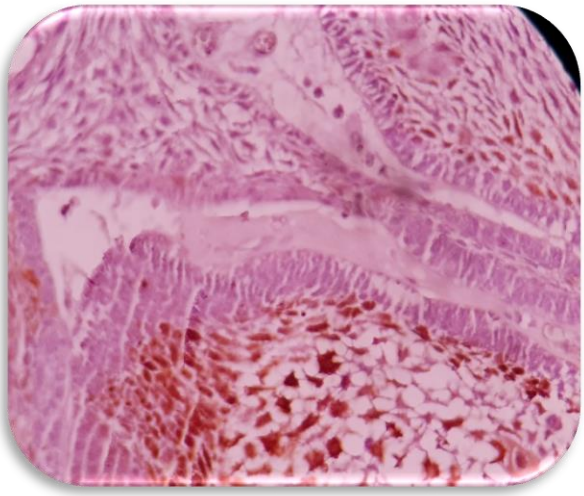
3-2-1 المجموعة الأولى : ورم مصورات الميناء.

أظهرت جميع عينات ورم مصورات الميناء بنمطيها : الجرابي والضفيري تعبيرية إيجابية متفاوتة لعامل النمو الوعائي البطاني في هيولى الخلايا البشروية الورمية (الخلايا المشبهة بمصورات الميناء وخلايا المشبهة بخلايا النسيج الشبكي النجمي وبعض تحولات الخلايا القاعدية والحرشفية في مركز الجراب) حيث كانت مرتفعة أحياناً بنسبة 90% الشكل (3-4,5) أو متوسطة أحياناً الشكل (3-3) ومنخفضة أحياناً بنسبة 10% الشكل (3-6) وبلغ متوسط التعبيرية في كامل

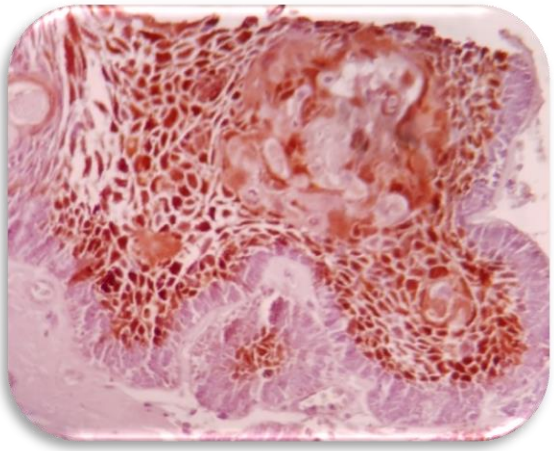
العينات 55%، وبشكل مماثل ظهرت تعبيرية إيجابية متفاوتة في خلايا اللحمة الضامة الشكل رقم (3-7) (خلايا مصورات الليف والخلايا الالتهابية والخلايا البطانية للأوعية الدموية) حيث كانت متوسط تعبيريته 45% الجدول رقم (3-2).

نوع الآفة	العينة	النموذج	متوسط نسبة الخلايا المتلونة ب VEGF في الخلايا البشروية	متوسط نسبة الخلايا المتلونة ب VEGF في مكونات النسيج الضام
ورم مصورات الميناء	1	جرابي	85%	43%
	2	جرابي	60%	39%
	3	جرابي	45%	40%
	4	جرابي	47%	34%
	5	جرابي	75%	40%
	6	جرابي	35%	13%
	7	جرابي	33%	28%
	8	جرابي	10%	3%
	9	جرابي	54%	15%
	10	جرابي	80%	45%
	11	ضفيري	82%	65%
	12	ضفيري	74%	70%
	13	ضفيري	17%	35%
	14	ضفيري	90%	74%
	15	ضفيري	38%	20%

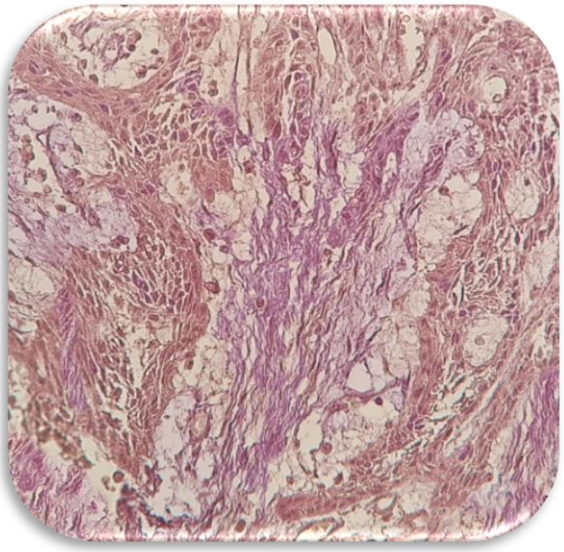
الجدول (3-2) قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF في ورم مصورات الميناء



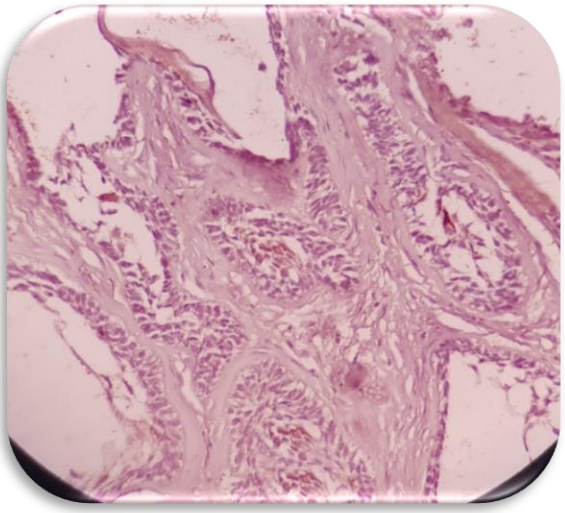
الشكل (3-3): يوضح التعبيرية الإيجابية لل VEGF بنسبة متوسطة في الخلايا البشروية الورمية لورم مصورات الميناء (الجرابي) ×400



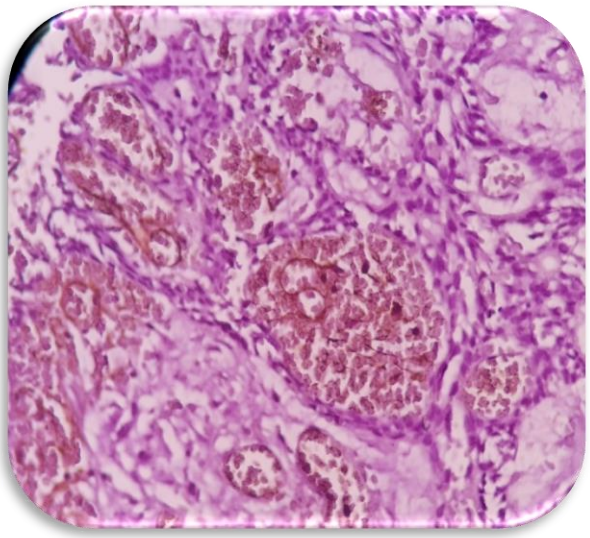
الشكل (3-4): يوضح التعبيرية الإيجابية لل VEGF بنسبة مرتفعة في الخلايا البشروية الورمية لورم مصورات الميناء الجرابي) ×400



الشكل (3-5): يوضح التعبيرية الإيجابية لل VEGFبنسبة مرتفعة في الخلايا البشروية الورمية لورم مصورات الميناء (الضفيري)×400



الشكل (3-6): يوضح التعبيرية الإيجابية لل VEGF بنسبة منخفضة في الخلايا البشروية الورمية واللحمة الضامة لورم مصورات الميناء (الجرابي) ×400



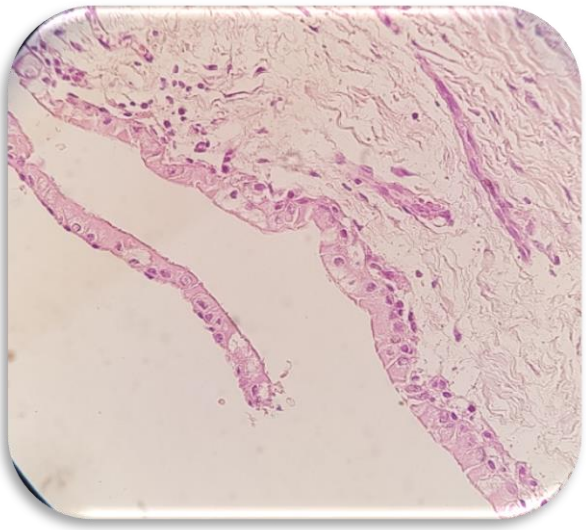
الشكل (3-7): يوضح التعبيرية الإيجابية لVEGF ضمن اللحمة الضامة لورم مصورات الميناء (الضفيري) بنسبة مرتفعة ×400

3-2-2 المجموعة الثانية : الكيس التاجي.

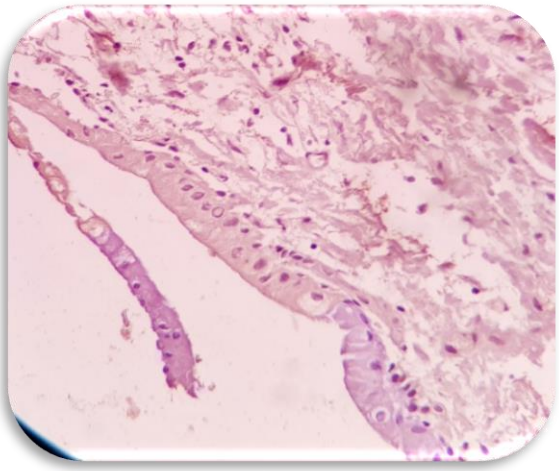
أظهرت معظم عينات الكيس التاجي تعبيرية إيجابية لعامل النمو الوعائي البطاني في الخلايا البشروية وخلايا الجدار الضام ولكن تعتبر هذه الإيجابية منخفضة نسبياً في أغلب العينات الشكل (3-10)، كما أظهرت عينة واحدة فقط سلبية بالكامل تجاه هذا العامل، بينما كانت أعلى قيمة 65% الشكل رقم (3-9) ومتوسط التعبيرية في كامل العينات 28.7% للبشرة أما خلايا النسيج الضام أخذت تعبيرية بشكل أقل الجدول (3-3) .

نوع الآفة	العينة	متوسط نسبة الخلايا المتلونة بVEGF في الخلايا البشروية	متوسط نسبة الخلايا المتلونة بVEGF في مكونات النسيج الضام
الكيس التاجي	1	64%	48%
	2	30%	10%
	3	14%	9%
	4	38%	8%
	5	65%	20%
	6	40%	19%
	7	36%	9%
	8	17%	4%
	9	0%	0%
	10	7%	2%
	11	42%	13%
	12	4%	4%
	13	35%	15%
	14	12%	5%
	15	27%	20%

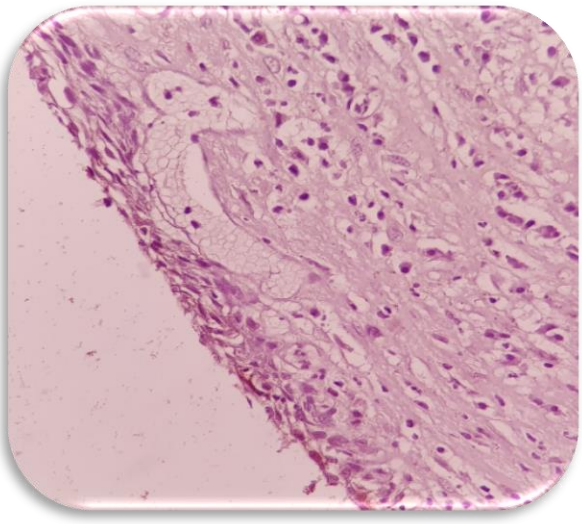
الجدول(3-3) قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF في الكيس التاجي



الشكل (3-8): توضح بشرة الكيس التاجي والجدار الضام تلوين H&E 400×



الشكل (3-9): يوضح تعبيرية إيجابية لل VEGF بنسبة متوسطة لبشرة الكيس التاجي وللجدار الضام 400×



الشكل (3-10): يوضح تعبيرية إيجابية لل VEGF بنسبة منخفضة جداً لبشرة الكيس التاجي وللجدار الضام 400×

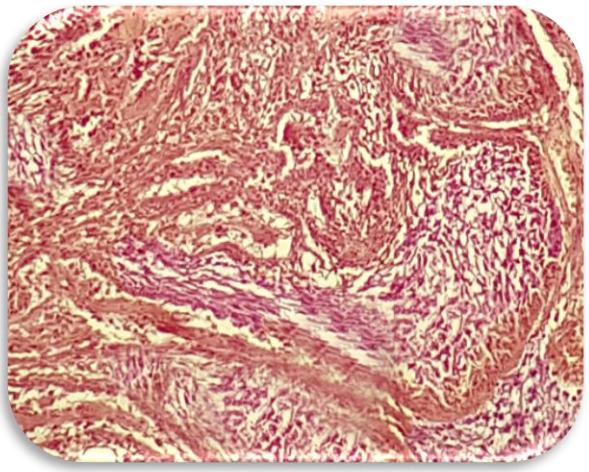
3-3 المتغير الثاني: قيمة تعبيرية البروتين الحال للقالب العضوي-9 MMP-9

3-3-1 المجموعة الأولى : ورم مصورات الميناء .

كانت جميع عينات ورم مصورات الميناء بنمطيها الجرابي والضفيري إيجابية لل9-MMP وتوزعت هذه التعبيرية الإيجابية بين الخلايا البشروية الورمية وبين خلايا النسيج الضام فأخذت قيم مرتفعة تارة الشكل رقم (3-11,14) وقيم منخفضة تارةً أخرى الشكل رقم (3-15) ولكن لم يلاحظ وجود سلبية في التعبيرية في أي من المقاطع النسيجية فبلغ متوسط التعبيرية للخلايا البشروية في كامل العينات النسيجية المدروسة 46,6% وبشكل متقارب جداً للحمة الضامة 44% الجدول (3-4).

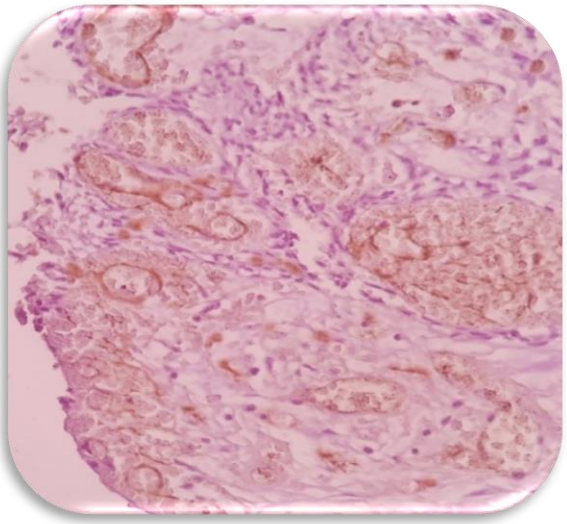
نوع الآفة	العينة	النموذج	متوسط نسبة الخلايا المتلونة بmmp9 في الخلايا البشروية	متوسط نسبة الخلايا المتلونة بmmp9 في مكونات النسيج الضام
ورم مصورات الميناء	1	جرابي	60%	50%
	2	جرابي	40%	24%
	3	جرابي	41%	37%
	4	جرابي	44%	57%
	5	جرابي	70%	59%
	6	جرابي	40%	25%
	7	جرابي	15%	19%
	8	جرابي	13%	10%
	9	جرابي	50%	40%
	10	جرابي	73%	50%
	11	ضفيري	80%	68%
	12	ضفيري	60%	75%
	13	ضفيري	15%	52%
	14	ضفيري	79%	80%
	15	ضفيري	20%	15%

الجدول (3-4) قيمة تعبيرية البروتين الحال للقالب العضوي-9 MMP-9 في ورم مصورات الميناء.



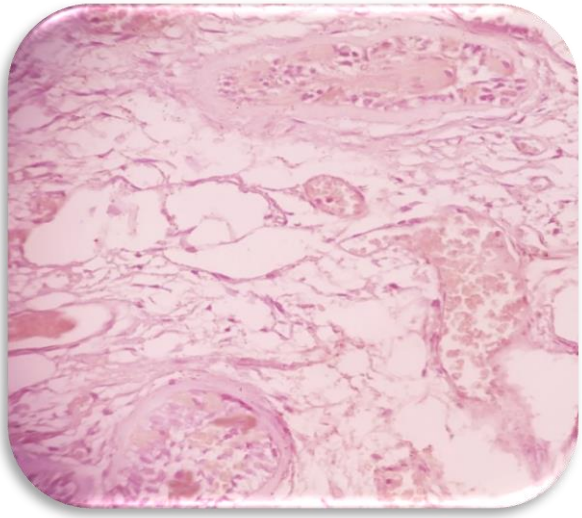
الشكل (3-11): يوضح التعبيرية الإيجابية لل MMP-9 بنسبة مرتفعة في الخلايا البشروية الورمية واللحمة الضامة لورم مصورات الميناء (الجرابي)

400×



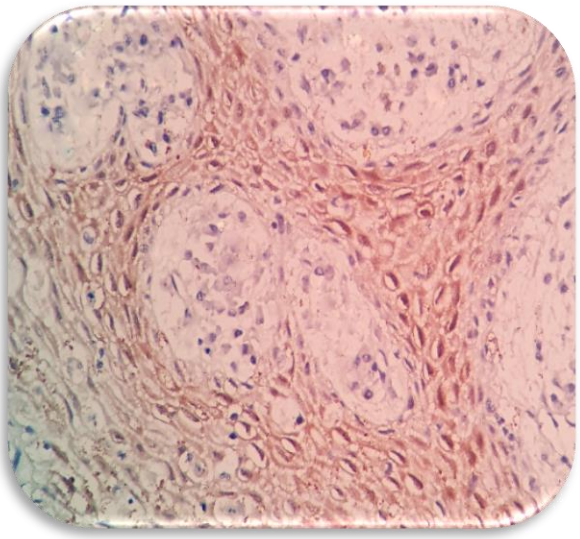
الشكل (3-12): يوضح التعبيرية الإيجابية لMMP-9 ضمن اللحمة الضامة لورم مصورات الميناء (الضفيري) بنسبة مرتفعة

400×

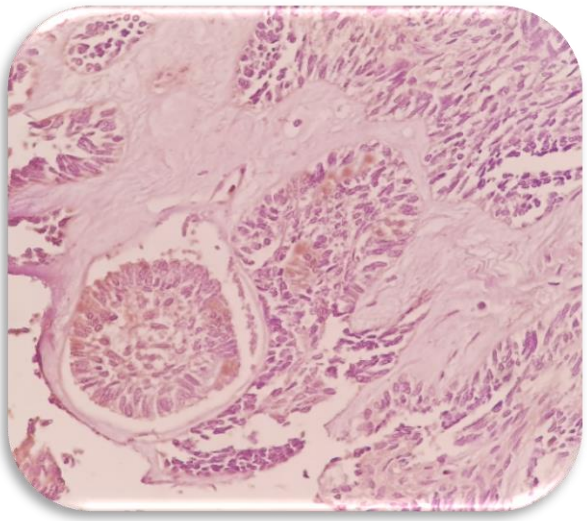


الشكل (3-13): يوضح التعبيرية الإيجابية لل MMP-9 بنسبة متوسطة في الخلايا البشروية الورمية واللحمة الضامة لورم مصورات الميناء (الجرابي)

400×



الشكل (3-14): يوضح التعبيرية الإيجابية لل MMP-9 بنسبة مرتفعة في الخلايا البشروية الورمية لورم مصورات الميناء (الضفيري) 400×



الشكل (3-15): يوضح التعبيرية الإيجابية لل MMP-9 بنسبة منخفضة في الخلايا البشروية الورمية لورم مصورات الميناء (الجرابي) 400×

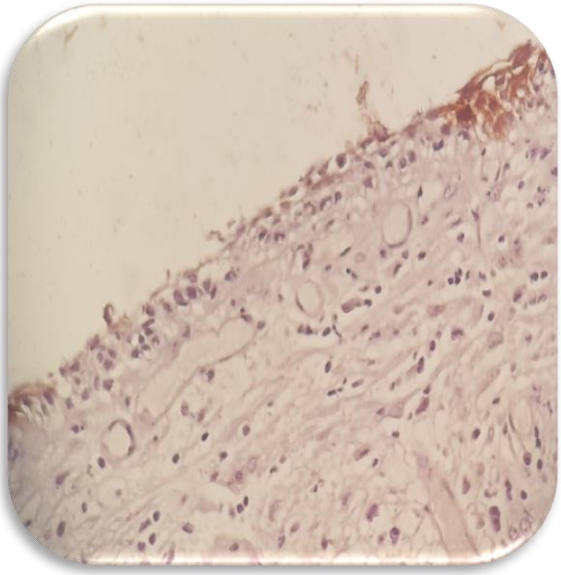
3-3-2 المجموعة الثانية: الكيس التاجي.

كانت جميع عينات الكيس التاجي إيجابية لل MMP-9 ولم يلاحظ وجود سلبية في التعبيرية في أي من مقاطع النسيجية وتوزعت التعبيرية ضمن البشرة المبطنة للكيس التاجي والجدار الضام المحيط بالبشرة، ولكن كانت قيمة تعبيّرية هذا البروتين في أغلب العينات منخفضة نسبياً الشكل

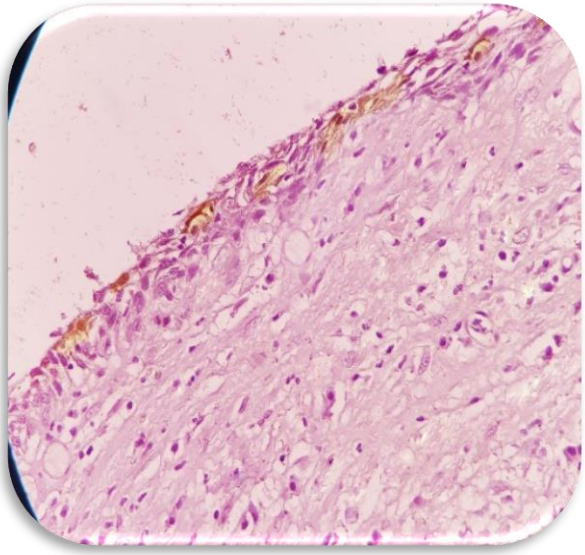
رقم (3-16,17)، حيث بلغ متوسط قيمة التعبيرية في بشرة الأكياس التاجية 14.8% وفي الجدار الضام 9.2 % الجدول رقم (3-5) .

نوع الآفة	العينة	متوسط نسبة الخلايا المتلونة ب MMP-9 في الخلايا البشروية	متوسط نسبة الخلايا المتلونة ب MMP-9 في مكونات النسيج الضام
الكيس التاجي	1	45%	25%
	2	18%	17%
	3	9%	3%
	4	5%	3%
	5	29%	10%
	6	30%	7%
	7	19%	10%
	8	13%	8%
	9	2%	3%
	10	5%	4%
	11	14%	7%
	12	3%	3%
	13	20%	13%
	14	7%	5%
	15	6%	20%

الجدول (3-5) قيمة تعبيرية البروتين للقالب العضوي-9 MMP-9 في الكيس التاجي



الشكل (3-16): يوضح تعبيرية إيجابية لل MMP-9 بنسبة منخفضة لبشرة الكيس التاجي وللجدار الضام 400×



الشكل (3-17): يوضح تعبيرية إيجابية لل MMP-9 بنسبة منخفضة لبشرة الكيس التاجي 400×

3-4 الدراسة الإحصائية

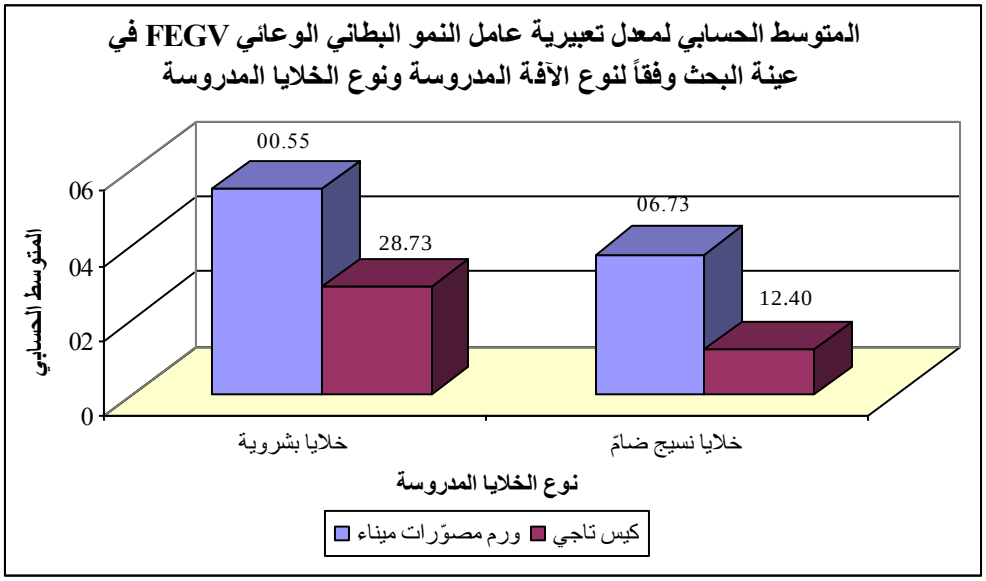
الاختبارات الإحصائية:

أولا : دراسة قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF في ورم مصورات الميناء والكيس التاجي:

يلخص الجدول (3-6) ، المخطط (3-2) وصفاً إحصائياً لتعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF:

المتغير المدروس	نوع الخلايا المدروسة	نوع الآفة المدروسة	عدد الشرائح النسيجية	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الحد الأدنى	الحد الأعلى
معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF	خلايا بشروية	ورم مصوّرات ميناء	15	55.00	25.46	10	90
		كيس تاجي	15	28.73	19.98	0	65
	خلايا نسيج ضامّ	ورم مصوّرات ميناء	15	37.60	20.63	3	74
		كيس تاجي	15	12.40	11.77	0	48

جدول (3-6) يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى من معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF



مخطط (3-2) يمثل المتوسط الحسابي لمعدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF في كل من ورم مصورات الميناء والكيس التاجي.

تم إجراء **اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة** لدراسة وجود فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط كل من معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF بين مجموعة ورم مصوّرات الميناء ومجموعة الكيس التاجي في عينة البحث، وذلك وفقاً في الجدول **(7-3)** والذي يبين أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05 مهما كان نوع الخلايا المدروسة أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق دالة إحصائياً في متوسط معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF بين مجموعة ورم مصوّرات الميناء ومجموعة الكيس التاجي، وبذلك نستنتج أن قيم كل من معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF في مجموعة ورم مصوّرات الميناء كانت **أكبر منها** في مجموعة الكيس التاجي في الخلايا البشروية وخلايا النسيج الضام المدروسة في عينة البحث.

المتغير المدروس	نوع الخلايا المدروسة	قيمة t المحسوبة	درجات الحرية	الفرق بين المتوسطين	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF	خلايا بشروية	3.144	28	26.27	0.004	توجد فروق دالة
	خلايا نسيج ضامّ	4.109	28	25.20	0.000	توجد فروق دالة

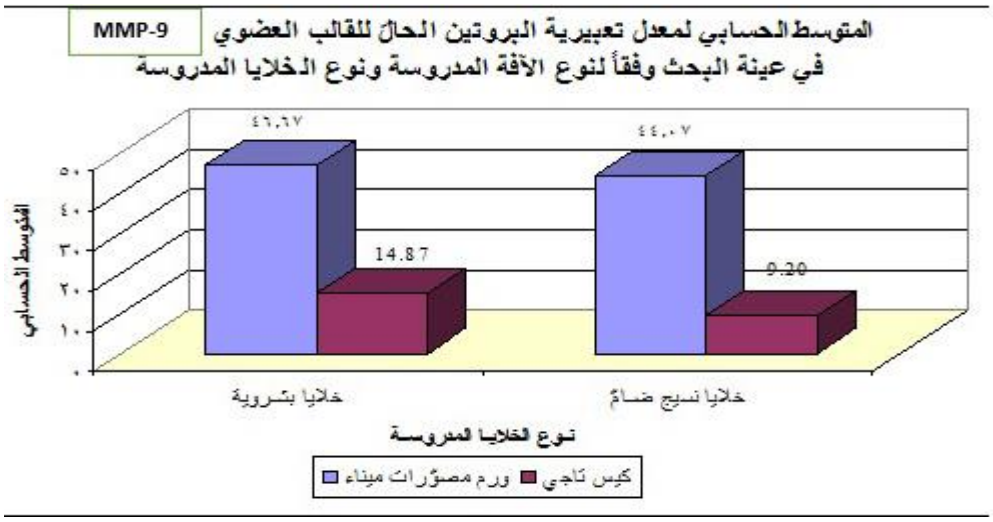
الجدول (3-7) يبين نتائج اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة لدراسة دلالة الفروق في متوسط قيم تعبيرية VEGF بين ورم مصورات الميناء والكيس التاجي

ثانيا : دراسة قيمة التعبيرية للبروتين الحال للقالب العضوي-9 في ورم مصورات الميناء والكيس التاجي:

يلخص الجدول رقم (3-8) والمخطط (3-3) وصفاً إحصائياً لتعبيرية البروتين الحال للقالب العضوي-9:

المتغير المدروس	نوع الخلايا المدروسة	نوع الآفة المدروسة	عدد الشرائح النسيجية	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الحد الأدنى	الحد الأعلى
معدل تعبيرية البروتين الحالّ للقالب العضوي MMP-9	خلايا بشروية	ورم مصوّرات ميناء	15	46.67	23.51	13	80
		كيس تاجي	15	14.87	12.32	0	45
	خلايا نسيج ضامّ	ورم مصوّرات ميناء	15	44.07	22.06	10	80
		كيس تاجي	15	9.20	6.83	3	25

الجدول (3-8) يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والحد الأدنى والحد الأعلى من معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي MMP-9



مخطط (3-3) يمثل المتوسط الحسابي لمعدل تعبيرية البروتين الحالّ للقالب العضوي MMP-9 في كل من ورم مصورات الميناء والكيس التاجي.

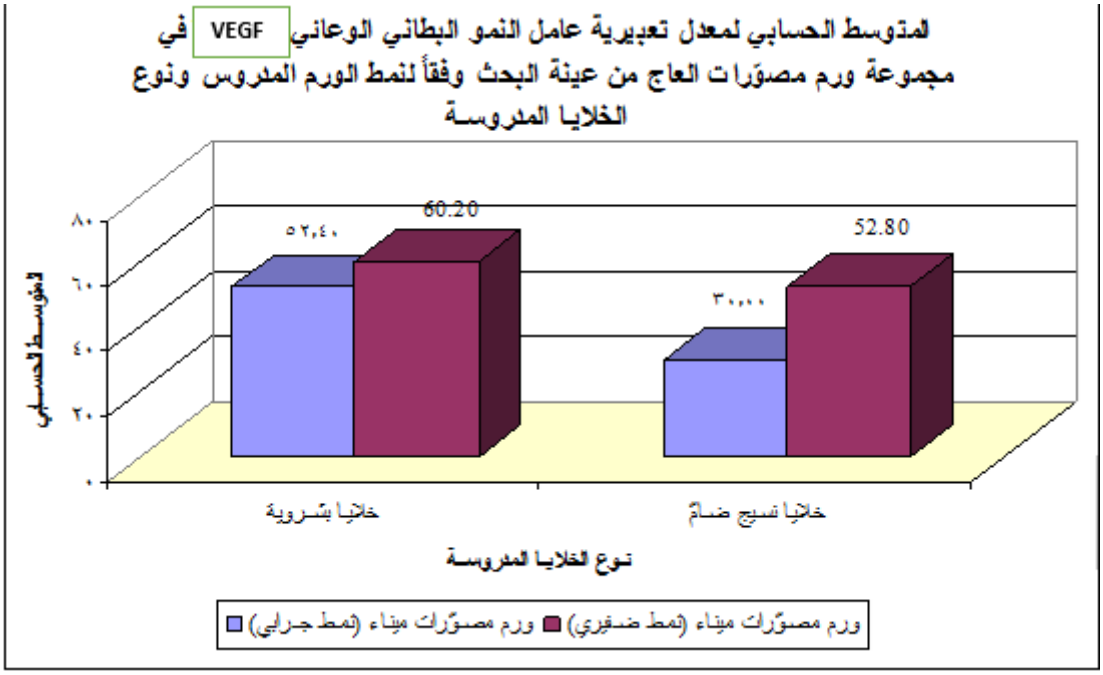
تم إجراء **اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة** لدراسة وجود فروق ذات دلالة إحصائية في متوسط كل من معدل تعبيرية البروتين الحالّ للقالب العضوي MMP-9 بين مجموعة ورم مصوّرات الميناء ومجموعة الكيس التاجي في عينة البحث، وذلك وفقاً لنوع الخلايا المدروسة في الجدول رقم (3-9) والذي يبيّن أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05 مهما كان نوع الخلايا المدروسة أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق دالة إحصائياً في متوسط معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF بين مجموعة ورم مصوّرات الميناء ومجموعة الكيس التاجي ، وبذلك نستنتج أن قيم كل من معدل تعبيرية البروتين الحالّ للقالب العضوي MMP-9 في مجموعة ورم مصوّرات الميناء كانت **أكبر منها** في مجموعة الكيس التاجي في الخلايا البشروية وخلايا النسيج الضام المدروسة في عينة البحث.

المتغير المدروس	نوع الخلايا المدروسة	قيمة t المحسوبة	درجات الحرية	الفرق بين المتوسطين	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
معدل تعبيرية البروتين الحالّ للقالب العضوي MMP-9	خلايا بشروية	4.640	28	31.80	0.000	توجد فروق دالة
	خلايا نسيج ضامّ	5.849	28	34.87	0.000	توجد فروق دالة

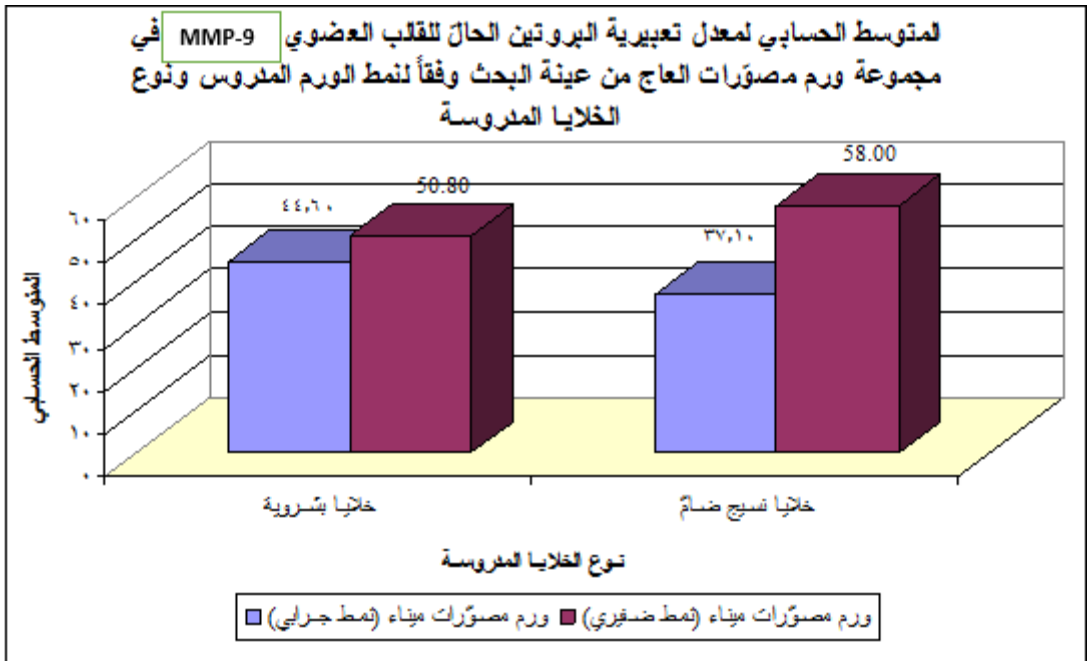
الجدول رقم (3-9) يبين نتائج اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة لدراسة دلالة الفروق في متوسط قيم تعبيرية MMP-9 بين ورم مصورات الميناء والكيس التاجي

ثالثاً: دراسة تأثير نوع ورم مصوّرات الميناء في قيم كل من معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF ومعدل تعبيرية البروتين الحالّ للقالب العضوي MMP-9 في ورم مصوّرات الميناء:

تبين أن تعبيرية كل من VEGF و MMP-9 في ورم مصورات الميناء النمط الضفيري أخذت تعبيرية أكثر في كل من الخلايا البشروية واللحمة الضامة المخطط رقم (3-4,5)



مخطط (3-4) يوضح قيم المتوسط الحسابي لمعدل تعبيرية VEGF لكل من النمط الجرابي والنمط الضفيري لورم مصورات الميناء



مخطط (3-5) يوضح قيم المتوسط الحسابي لمعدل تعبيرية MMP-9 لكل من النمط الجرابي والنمط الضفيري لورم مصورات الميناء

تمّ اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة لدراسة دلالة الفروق في متوسط كل من معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF ومعدل تعبيرية البروتين الحالّ للقالب العضوي MMP-9 بين مجموعة ورم مصوّرات الميناء (النمط الجرابي) ومجموعة ورم مصوّرات الميناء (النمط الضفيري) في مجموعة ورم مصوّرات الميناء من عينة البحث، وذلك وفقاً لنوع الخلايا المدروسة وفق الجدول رقم (3-10) الذي يبين أن قيمة مستوى الدلالة أصغر من القيمة 0.05 بالنسبة لمعدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF في مجموعة خلايا النسيج الضامّ، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق دالة إحصائياً في متوسط معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF بين ورم مصوّرات الميناء (النمط الجرابي) وورم مصوّرات الميناء (النمط الضفيري) في خلايا اللحمة الضامة فقط.

المتغير المدروس	نوع الخلايا المدروسة	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
معدل تعبيرية عامل النمو البطاني الوعائي VGEF	خلايا بشروية	0.595	لا توجد فروق دالّة
	خلايا نسيج ضامّ	0.038	توجد فروق دالة
معدل تعبيرية البروتين الحالّ للقالب العضوي MMP-9	خلايا بشروية	0.648	لا توجد فروق دالّة
	خلايا نسيج ضامّ	0.083	لا توجد فروق دالّة

الجدول (3-10) يبين نتائج اختبار T ستيودنت للعينات المستقلة لدراسة دلالة الفروق في متوسط كل من قيم تعبيرية VEGF و MMP-9 بين النمط الضفيري والنمط الجرابي لورم مصورات الميناء

الباب الرابع

المناقشة

DISSCUSION

المناقشة :

يتميز ورم مصورات الميناء بسلوكيته الغازية موضعياً والذي يزيد من معدلات النكس، ولكن الآلية الإمراضية لطريقة غزو بقايا هذا الورم مازالت غير مفهومة بشكل واضح، حيث يعرف الغزو باندخال الخلايا الورمية إلى المناطق المجاورة. وإن عملية الغزو غير مرتبطة بالأمراض السرطانية فقط، إنما يشاهد أيضاً أثناء التطور الجنيني والعديد من الأمراض الغير سرطانية. وتعرف الخطوات الأساسية لهذه العملية: الالتصاق، التحلل البروتيني للقالب خارج الخلوي، إعادة تشكيل هيكل خلوي ، ومن ثم هجرة الخلايا(Florescu et al., 2012a)(.

ولذلك فإن التعرف على واسمات إنذار السلوك الحيوي لورم مصورات الميناء يعتبر مهماً لتحديد التشخيص والعلاج المناسب (Florescu et al., 2012a). فجاءت دراستنا للتحقق من بعض هذه الواسمات في ورم مصورات الميناء مثل عامل النمو الوعائي البطاني والبروتين الحال للقالب العضوي-9.

وجد Pinheiro وزملاؤه في دراستهم أن أكثر من نصف خلايا ورم مصورات الميناء الورمية وخاصة في الحالات الغازية أنها تركب بروتيناً، ومن الممكن أن يتنشط هذا البروتين ويشارك في آلية تساعد على نمو الورم، وإن هذا البروتين النشط قد يتألف من أنزيمات حالة للبروتينات تشارك بظاهرة الغزو مثل عائلة البروتينات الحالة للقالب العضوي (Pinheiro et al., 2004).

ومن بين هذه العائلة ال MMP-9 الذي يشارك في عملية غزو الورم من خلال المشاركة في تدمير الغشاء القاعدي وإعادة تشكيل القالب الخارج خلوي، ويعتبر من أهم البروتينات الحالة التي تشارك في امتصاص العظم (Andersen et al., 2004).

وكما اقترحت بعض الدراسات نظرية التشكل الوعائي داخل الأورام وهي أن الخطوة الأولى في تطور ونمو الورم هي المرحلة ماقبل التشكل الوعائي preangiogenic phase حيث يكون الورم في هذه المرحلة أقل من 1–3 ملم^3 وينمو ببطء ومن الممكن أن يقوم بارتشاح موضعي و تظهر النقائل بشكل نادر، ولكن عندما تبدأ الأوعية الدموية بالتشكل ضمن الورم يدخل ضمن مرحلة التشكل الوعائي angiogenic phase حيث ينمو الورم بشكل سريع وتتولد الأوعية بشكل غير منتظم وينتج عن ظهور نقائل لهذا الورم بشكل سريع، حيث من وظائف الأساسية لهذه الأوعية الدموية الجديدة تأمين التغذية الجيدة للورم والتخلص من منتجات الاستقلاب وبذلك تكون هذه الأوعية قد ساهمت في نمو وانتقال الأورام الصلبة. وإن الVEGF يملك خصائص تشكيل وعائي قوية (Chen et al., 2009) ويملك ورم مصورات الميناء شبكة أوعية دموية غنية، وزيادة كثافة الأوعية الدموية يزيد من حالات النكس وقابلية التحول إلى خباثة وأثبتت هذه النتيجة في كثير من الدراسات على الأورام الصلبة (Chen et al., 2009).

إن عامل النمو الوعائي البطاني يعزز نمو الورم عن طريق آليتين: الأولى عن طريق زيادة نفوذية الأوعية الدموية لتسمح بتسرب بروتينات المصل وتوفير ركائز مناسبة لنمو الخلايا الورمية والتكوين الشعري الجديد، أما الآلية الثانية فمن خلال تنشيط مستقبلاته والتعبير عنه في الخلايا البطانية وبذلك ينشط عملية الانقسام الخيطي لهذه الخلايا (Chen et al., 2009). وقد أُثبت مؤخرا أن هذا العامل يلعب دوراً في تكاثر الخلايا الغير بطانية بما ذلك الخلايا البشروية وهذا يساعد على انتشار الخلايا الورمية البشروية عن طريق آلية outocrine بالإضافة إلى تشكيل نشاط وعائي عن طريق آلية paracrine. وهكذا قد يكون الVEGF مسؤولاً عن الفرق في معدل النمو والسلوك الورمي (Gupta et al., 2016b)

أما الآفة الثانية التي قمنا بدراستها وهي الكيس التاجي الذي يعتبر ثاني أكثر الأكياس سنية المنشأ شيوعاً وينتج عن وجود تراكم السوائل بين ميناء تاج السن وبين البشرة المينائية المتبقية التابعة لجراب السن، وفي حال لم يتم تشخيصه بشكل مبكر والقيام بالتدبير اللازم فإنه قد يتوسع ويؤدي إلى امتصاص العظم وفقدان الأسنان المجاورة (Friedlander et al., 2015).

وقد يشارك عامل النمو الوعائي البطاني في تطور عدد من الأكياس، ولكن تعبيرية هذا العامل في الأكياس سنية المنشأ تأخذ نسباً مختلفة، حيث يأخذ عادةً الورم الكيسي المتقرن سني المنشأ والكيس الجذري تعبيرية مرتفعة بينما الكيس التاجي تكون تعبيريته منخفضة وبذلك قد ترتبط تعبيرية هذا العامل في السلوكية الحيوية والسريرية للأنسجة وترتبط أيضاً في العمليات الالتهابية، إن وجود هذا العامل في الكيس التاجي يؤدي إلى تراكم السوائل ضمن لمعته فيقوم بتحريض بشرة الكيس على التكاثر (Friedlander et al., 2015).

استنتج Suojanen وزملاؤه أن بعض حالات الأكياس التاجية ذات الطبيعة المدمرة للعظم المحيط لا يمكن ربطها مع تعبيرية أعلى لMMPs في الخلايا البشروية المتكاثرة حيث لم يجدوا في دراستهم أي فوارق ذات دلالة إحصائية لMMPs بين الأجربة السنية وبين الأكياس التاجية ، فمن الممكن وجود آليات حالة للعظم أخرى تفسر آلية توسع الكيس التاجي حيث لايمكننا الاعتماد بذلك على البروتينات الحالة للقالب العضوي (Suojanen et al., 2014).

تم الأخذ بعين الاعتبار استبعاد الأكياس التاجية المصابة بالالتهاب لما للالتهاب من آثار قد تؤدي إلى تشويش النتيجة، إذ يقود الالتهاب إلى زيادة الضغط الحلولي داخل الكيس مما يؤدي إلى تسارع توسع الكيس الأمر الذي قد يؤدي إلى زيادة الفعالية التكاثرية للخلايا المبطنة للكيس حتى تعوّض زيادة السطح الناتجة عن توسع الكيس (Toller, 1967).

وعلى الرغم من وجود عدة دراسات تُظهر دور عامل النمو الوعائي البطاني والبروتين الحال للقالب العضوي في الأكياس والأورام سنية المنشأ ولكن هناك حاجة للمزيد من هذه الدراسات الجزيئية على المكونات البشروية والضامة للتحقق عن وظيفة وآلية تأثير هذين العاملين بشكل أدق ، نتيجة لذلك قمنا بدراسة الMMP-9 و الVEGF على إحدى الأورام سنية المنشأ : ورم مصورات الميناء وإحدى الأكياس سنية المنشأ : الكيس التاجي.

مناقشة قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني في ورم مصورات الميناء:

أظهرت جميع عينات ورم مصورات الميناء تعبيرية إيجابية للVEGF في الخلايا البشروية وفي خلايا النسيج الضام (الخلايا البطانية للأوعية الدموية والخلايا الالتهابية وخلايا مصورات الليف) ولكنها أخذت قيم متفاوتة فكانت مرتفعة في بعض الحالات ومنخفضة في حالات أخرى حيث بلغت أعلى قيمة للخلايا البشروية 90% وأدنى قيمة 10 % فكان المتوسط الحسابي 55% أما خلايا النسيج الضام فكانت القيمة العليا 74% والقيمة الدنيا 3% وبلغت قيمة المتوسط الحسابي 37%. وقد يفسر هذا التفاوت بين العينات لاختلاف حجم وسرعة نمو هذا الورم.

تقاربت نتائج دراستنا مع نتائج دراسة Gupta وزملاؤه حيث قاموا بدراسة VEGF في ورم مصورات الميناء والورم الكيسي المتقرن سني المنشأ والكيس التاجي وأخذت جميع عينات ورم مصورات الميناء تعبيرية إيجابية لهذا العامل بقيم مرتفعة، وكما اتفقنا أيضاً مع دراسته حيث ظهرت الإيجابية بشكل أكبر في الخلايا البشروية وخاصةً خلايا النسيج المشبه بالنسيج الشبكي النجمي كما شاهدنا في معظم الحالات لدينا وقد فسر هذه النتيجة لعدة أسباب ومن بينها أن بروتين cyclin d1 يأخذ تعبيرية إيجابية في الخلايا المحيطية والمركزية أيضاً؛ وهناك علاقة ارتباط وثيقة إيجابية بين ال VEGF, cyclin d1 وبالإضافة إلى ارتفاع نسبة السيتوكينات

مثل ال IL-6 و IL-1a في الخلايا المركزية التي تظهر نتيجة وجود عامل الVEGF كما شوهد نفس نمط التلوين في أنواع مختلفة للأورام مثل سرطان الرئة وبالإضافة إلى اختلاف أنواع الأجسام المضادة antibody (Gupta et al., 2016b).

وقد قام chen وزملاؤه بدراسة كثافة الأوعية الشعرية في ورم مصورات الميناء microvascular density (MVD) وذلك عن طريق تقييم تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني ولاحظ التعبيرية الإيجابية المرتفعة في الخلايا البطانية وبالإضافة للخلايا الورمية وبهذا تشابه مع دراستنا حيث وجدنا إيجابية للخلايا البطانية ضمن النسيج الضام وقد عزا Chen هذه الإيجابية إلى الارتباط الوثيق بين زيادة كثافة الأوعية الشعرية مع زيادة حجم الورم حيث اقترح إمكانية إفراز عامل النمو البطاني الوعائي من الخلايا الورمية لتحفيز الورم بالنمو والغزو(Chen et al., 2009).

اتفقت نتائج دراستنا مع komomato وزملاؤه في قيم التعبيرية المتفاوتة لعامل النمو الوعائي البطاني في ورم مصورات الميناء بمختلف أنواعه مع غالبية ارتفاع القيم العليا نسبياً حيث قام بدراسة 35 حالة لهذا الورم وسجلت 20 حالة منها قيم مرتفعة نسبياً (Kumamoto et al., 2002).

مناقشة قيمة تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني في الكيس التاجي :

أظهرت معظم حالات الكيس التاجي تعبيرية إيجابية لعامل ال VEGF في البشرة وخلايا النسيج الضام، ولكن كانت هذه التعبيرية منخفضة في أغلب العينات، بالإضافة إلى وجود عينة أخذت سلبية بالكامل تجاه هذا العامل فبلغت أعلى قيمة في البشرة 65% وأدنى قيمة 0% ومتوسط التعبيرية 28.7%، أما خلايا النسيج الضام فأخذت تعبيرية بشكل أقل حيث كانت أعلى قيمة

48% وأدنى قيمة 0% وبلغ المتوسط الحسابي 12.4% وهناك عدة أسباب لتأخذ بعض العينات القيمة صفر ومن أهمها قد يكون حجم هذا الكيس صغيراً جداً وغير مهيأ للنمو والامتداد وبذلك من الممكن الاستفادة من هذا العامل في تشخيص ومعرفة سلوك هذه الأكياس.

تشابهت دراستنا مع دراسة Gupta وزملاؤه إلى حد كبير في ظهور التعبيرية المنخفضة لمعظم حالات الكيس التاجي، بالإضافة إلى وجود بعض الحالات التي أخذت سلبية بالكامل وبلغ متوسط التعبيرية لديه 27% في البشرة (Gupta et al., 2016b).

كما أننا اتفقنا مع Sadri وزملاؤه الذي قارن تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني بين الورم الكيسي المتقرن سني المنشأ والكيس التاجي، واستنتج التعبيرية المنخفضة للكيس التاجي بالإضافة إلى السلبية الكاملة لبعض الحالات، ووجد ارتباط بين زيادة كثافة الأوعية الشعرية مع ارتفاع تعبيرية هذا العامل وهذا يؤكد ما ذكرناه سابقاً عن ارتباط هذا العامل بزيادة حجم الآفة حيث من الممكن أن يحفز زيادة الحجم عن طريق زيادة التوعية في الجدار الضام المحيط بالآفة (Sadri et al., 2016).

وقد وجد Nonaka وزملاؤه دور VEGF في تجميع السائل في الآفات الكيسية، حيث يساعد في تسريب بروتينات البلازما داخل الكيس، وهذا ما يفسر وجود ارتفاع نسبي لتعبيرية بعض الحالات وقد يلعب ذلك دوراً في زيادة حجم الكيس أيضا عن طريق زيادة ضغط السائل على جدار الكيس (Nonaka et al., 2008).

مناقشة الفرق بين ورم مصورات الميناء والكيس التاجي في قيمة عامل النمو الوعائي البطاني:

أبدى عامل النمو الوعائي البطاني تعبيرية إيجابية في جميع حالات ورم مصورات الميناء بنمطيه الجرابي والضفيري وبنسبة مرتفعة نسبياً بينما ظهرت الإيجابية في معظم حالات الكيس التاجي منخفضة نسبياً في حال مقارنتها بورم مصورات الميناء وبفروق ذات دلالة إحصائية حيث بلغ مستوى الدلالة للخلايا البشروية (p=0.004)، بالإضافة إلى وجود اختلاف في تعبيرية خلايا النسيج الضام حيث كانت قيمة p value = 0.000)، وبهذا اتفقت دراستنا مع نتائج Gupta وزملاؤه حيث أظهرت دراسته أيضاً اختلاف بين الآفتين بفوارق ذات دلالة إحصائية p<0.001 (Gupta et al., 2016b). وقد يعود هذا الفرق في التعبيرية بينهما إلى اختلاف سلوكية هاتين الآفتين حيث يتميز ورم مصورات الميناء بسلوكية عدوانية وبالغزو الموضعي على عكس الكيس التاجي، وذلك بسبب قدرة خلايا الورم على التكاثر بشكل أكبر. حيث اقترحت بعض الدراسات وجود آلية إفراز خارجية outocrine تقوم بإفراز VEGF عن طريق الخلايا البشروية، وُوجِد تعبيرية لمستقبلات هذا العامل

VEGFR-2,3 للخلايا ذاتها حيث يساعد ذلك في تكاثر هذه الخلايا ونتيجة لذلك فإن تثبيط إفراز VEGF قد يؤدي إلى تثبيط النشاط الانقسامي للخلايا الورمية (Amura et al., 2007) لذلك يُقترح وجود علاقة بين VEGF وتكاثر الخلايا سواء بطريقة مباشرة أو غير مباشرة .(Gupta et al., 2016b)

ويعتبر حاجة ورم مصورات الميناء للوارد الدموي والغذائي عند نمو الورم من أسباب هذا الفرق الجوهري بين ورم مصورات الميناء والكيس التاجي حتى وإن كان بطيء النمو ويتجلى ذلك في زيادة التنشؤ الوعائي Angiogenesis ضمن النسيج الضام لتقوم بتغذية الورم ، فقد درس Seifi وزملاؤه Microvessel Densities (MVD) (كثافة الشعريات الوعائية) في الآفات

سنية المنشأ واستنتجوا دورها الأساسي في النمو والسلوك السريري للآفات سنية المنشأ وهذا يتجلى في ورم مصورات الميناء والورم الكيسي المتقرن سني المنشأ (Seifi et al., 2011) وهذا يتشابه مع دراستنا حيث وجدنا زيادة التعبيرية الإيجابية في خلايا النسيج الضام لورم مصورات الميناء الذي يتضمن الخلايا البطانية للأوعية الدموية.

مناقشة قيمة تعبيرية البروتين الحال للقالب العضوي-9 في ورم مصورات الميناء:

كانت جميع عينات ورم مصورات الميناء إيجابية لـMMP-9 وتوزعت هذه التعبيرية بين الخلايا البشروية الورمية وبين خلايا النسيج الضام، فأخذت قيم مرتفعة تارة وقيم منخفضة تارةً أخرى فكانت القيمة العليا في الخلايا البشروية 80% والقيمة الدنيا 13% والمتوسط الحسابي 46.6% أما خلايا النسيج الضام بما فيها الخلايا البطانية للأوعية الدموية والخلايا الالتهابية وخلايا مصورات الليف فقد كان الحد الأعلى 80% والحد الأدنى 10% وأخذ متوسط التعبيرية 44%، وقد تقودنا هذه التعبيرية إلى أن هذا البروتين قد يلعب دوراً في نمو وإنذار ورم مصورات الميناء حيث من الممكن أن يترافق مع امتصاص العظم وهي الوظيفة الأساسية لـMMP-9.

اتفقت نتائج دراستنا مع نتائج دراسة Anne وزملاؤه حيث قام بدراسة عدة أنماط لهذا الورم (الجرابي – الضفيري – الشائك) حيث وجد تعبيرية إيجابية تتراوح بين المتوسط والمرتفع في الخلايا البشروية وخلايا اللحمة الضامة

بينما اختلفت نتائجنا مع نتائج دراسة Florescu وزملاؤه حيث أَخذت 4 حالات من ورم مصورات الميناء النمط الجرابي لديه سلبية تامة بالإضافة إلى أن أغلبية العينات أخذت تعبيرية منخفضة في الخلايا البشروية بين 1-10% وقد فسر ذلك أن وجود هذا البروتين قد يترافق مع

تمايز الخلايا الورمية ولكن الخلايا الورمية في ورم مصورات الميناء التي تأخذ الشكل العمودي أو المكعب لم تصل إلى التمايز والنضج النهائي اللازم لتشكيل الميناء. ومن الممكن أننا اختلفنا مع نتائج دراسته (لاختلاف طريقة التلوين المتبعة حيث لم يقوم بعملية استرجاع المستضد واختلاف أنواع الأجسام المضادة المستخدمة)، وكما وجد تعبيرية للحمة الضامة في المنطقة المحيطة بالجزر الورمية بشكل أكبر من منطقة الغزو أي في محيط الآفة (Florescu et al., 2012a).

كما أننا اختلفنا مع Kumamoto وزملاؤه حيث أخذت غالبية الخلايا البشروية الورمية تعبيرية سلبية في حين ظهرت التعبيرية الإيجابية بشكل عالٍ في اللحمة الضامة مترافقة مع تعبيرية مرتفعة لل TIMP-1,2 وقد أعزى هذه التعبيرية المنخفضة للخلايا الورمية في ورم مصورات الميناء إلى أن إمكانية نمو هذا الورم تعتبر بطيئة ومنخفضة مقارنةً بالأورام الخبيثة التي تظهر فيها التعبيرية عالية للبروتينات الحالة للقالب العضوي، بالإضافة إلى إمكانية مساهمة الTIMPs في منع تقدم الورم من خلال تثبيط الMMP-9 ولكننا اتفقنا معه في ظهور تعبيرية أعلى للنمط الضفيري، التعبيرية المرتفعة نسبياً في المكونات الضامة مقارنة مع البراعم السنية قد تشير إلى دور الMMP-9 في تحريض النسج سنية المنشأ للتغيرات الورمية (Kumamoto et al., 2003).

كما تقاربت نتائج دراستنا مع نتائج دراسة Henriques وزملاؤه الذي درس تعبيرية الMMP-9 في بعض الأكياس سنية المنشأ وورم مصورات الميناء فوجد التعبيرية العالية لجميع عينات هذا الورم في الخلايا البشروية الورمية والخلايا المركزية ضمن الجزر الورمية بالإضافة إلى مكونات

اللحمة الضامة (الخلايا البطانية – الالتهابية –مصورات الليف) (Henriques et al., 2011).

مناقشة قيمة تعبيرية البروتين الحال للقالب العضوي–9 في الكيس التاجي:

أظهرت جميع حالات الكيس التاجي تعبيرية إيجابية للبروتين الحال للقالب العضوي–9 ولكن كانت أغلب العينات ذات تعبيرية منخفضة، وفي بعض الحالات تقاربت إلى الصفر فكانت القيمة العليا في البشرة 45% والقيمة الدنيا 2% ومتوسط التعبيرية 14.8%، أما الخلايا الموجودة في الجدار الضام فكان الحد الأعلى 25% والحد الأدنى 3% وبلغ المتوسط الحسابي 9.2 % وقد نفسر هذا الانخفاض في التعبيرية إلى طبيعة وسلوكية الكيس التاجي، حيث يكون في الأغلب ذا إنذار جيد وغير مهيأ للنمو والتطور، فلا حاجة لوجود هذا البروتين المسؤول بشكل أساسي عن حل القالب العضوي وامتصاص العظم المحيط، وخاصةً أن العديد من الدراسات قد أكدت ارتباط وجود البروتينات الحالة للقالب العضوي مع السلوكية العدوانية لبعض الأكياس سنية المنشأ مثل الورم الكيسي المتقرن سنية المنشأ (Henriques et al., 2011)، (Ribeiro et al., 2012).

اتفقت نتائج دراستنا مع نتائج دراسة Suojanen وزملاؤه حيث درس عدداً من البروتينات الحالة للقالب العضوي بما فيهم ال9–MMP في الكيس التاجي والجراب السني ووجد التعبيرية المنخفضة في بشرة الكيس التاجي بشكل متقطع بالإضافة إلى تعبيرية قليلة في خلايا الجدار الضام مثل الخلايا البطانية وبعض الخلايا الالتهابية ولكن بفوارق غير دالة إحصائياً مقارنة بالأجربة السنية. وقد فسر ذلك إلى أن البروتينات الحالة للقالب العضوي لوحدها قد تكون غير

قادرة على تفسير قدرة الكيس التاجي على التمدد مما يشير إلى إمكانية مشاركة آليات أخرى مسؤولة عن انحلال العظم المحيط (Suojanen et al., 2014).

بينما اختلفنا مع نتائج دراسة Santos وزملاؤه الذي درس البروتين الحال للقالب العضوي-9 في بعض الأكياس سنية المنشأ وأظهرت عيناته تعبيرية مرتفعة نسبياً في الكيس التاجي وخاصة في البشرة حيث أخذت أكثر من 70% من عينات الكيس التاجي تعبيرية أعلى من 50% أما في الجدار الضام الليفي فقد وجد تعبيرية تتراوح غالبيتها بين المتوسطة والمنخفضة وهذا أيضاً يخالف دراستنا حيث كانت تعبيرية الجدار الضام في أغلب عيناتنا منخفضة، وعلى الرغم من أنه وجد فرقاً بين تعبيرية الكيس التاجي والورم الكيسي المتقرن سني المنشأ ولكن كانت هذه الفوارق غير دالة إحصائياً، وقد نفسر هذا الاختلاف إلى عدم إقصائه لحالات الكيس التاجي المصابة بالالتهاب فمن الممكن أن يؤثر هذا الالتهاب على تعبيرية ال9-MMP حيث تقوم بعض الخلايا الالتهابية بإفراز هذا البروتين وقد يؤدي ذلك الى وجود تعبيرية مرتفعة نسبياً لعيناته (de Andrade Santos et al., 2011).

واختلفت نتائج دراستنا مع نتائج دراسة Khot وزملاؤه الذي وجد تعبيرية سلبية بالكامل في البشرة لجميع عينات الكيس التاجي وقد فسر ذلك في أن وظيفة ال9-MMP هي المساعدة في انحلال الغشاء القاعدي واندخال بعض الخلايا ضمن الجدار الضام وكما أن له دوراً في انحلال الكولاجين الموجود بين البشرة والجدار الضام والذي يؤدي إلى انفصالهما وهذا كله ليس من خصائص الكيس التاجي. ولكن تقاربت نتائج دراستنا للجدار الضام في الكيس التاجي مع نتائج دراسته حيث وجد تعبيرية منخفضة نسبياً في الجدار الضام (Khot et al., 2015).

وبهذا نجد العديد من الاختلافات بين الدراسات وهذا يؤكد على الضرورة الحاجة إلى المزيد من الدراسات والاختبارات لتحديد دور البروتين الحال للقالب العضوي-9 بشكل أدق.

مناقشة الفرق بين ورم مصورات الميناء والكيس التاجي في قيمة البروتين الحال للقالب العضوي-9 :

أظهرت جميع عينات ورم مصورات الميناء تعبيرية إيجابية مرتفعة نسبياً للبروتين الحال للقالب العضوي-9 في النمط الجرابي والضفيري سواء في الخلايا البشروية أم في خلايا اللحمة الضامة المحيطة بالخلايا الورمية، بينما كانت تعبيرية جميع عينات الكيس التاجي لهذا البروتين منخفضة نسبياً وكما تقاربت بعض العينات تعبيريتها إلى الصفر فوجدنا فوارق بين هاتين الآفتين ذات دلالة إحصائية حيث بلغ مستوى الدلالة في الخلايا البشروية وخلايا اللحمة الضامة ($p=0.000$). وقد يوحي هذا الاختلاف إلى دور ال-MMP9 في نمو الورم حيث يُعرف دور هذا البروتين في إعادة قولبة القالب خارج العضوي remodeling of ECM وحل القالب العظمي degradation of bone matrix (Delaisse et al., 2000)، (Chirgwin and Guise, 2000).

لذلك فإن التعبيرية الأكبر لهذا البروتين في ورم مصورات الميناء تشير إلى احتمالية مشاركته في انتشار الخلايا وتمايزها وارتفاع نسبة امتصاص العظم المحيط وبالتالي احتمالية غزو أكبر (Fregnani et al., 2009) وإن وجود البروتين الحال للقالب -9 في كل من الخلايا البشروية الورمية وخلايا اللحمة الضامة في الكيس التاجي وورم مصورات الميناء قد يؤكد أن الخلايا البشروية وخلايا مصورات الليف والخلايا الالتهابية تقوم بإفراز هذا البروتين (Heidinger et al., 2006).

وبهذا تكون نتائج دراستنا اتفقت مع نتائج دراسة Henriques وزملاؤه حيث قارن بين الآفات سنية المنشأ الأكثر عدوانية مثل (ورم مصورات الميناء والورم الكيسي المتقرن سني المنشأ) والآفات الأفضل إنذارا مثل (الكيس الجذري والكيس التاجي) ووجد تعبيرية مرتفعة نسبياً بفارق ذي دلالة إحصائية للآفات الأكثر عدوانية مقارنة بالآفات الأقل عدوانية مع وجود تعبيرية منخفضة للكيس التاجي والجذري، ونتيجة لذلك اقترح أن تعبيرية هذا البروتين قد تدل على أهميته في تنظيم توسع الآفات الكيسية المحدد وفي دوره في نمو الورم، وقد أشارت نتائجه إلى وجود ارتباط بين إنتاج ال9-MMP و2-TIMP وتدمير مكونات الغشاء القاعدي بما فيها الكولاجين-4 وقد يساهم هذا في تمييز السلوك الحيوي للآفات الأكثر عدواني ، وبذلك قد يكون هذا البروتين مؤشراً على العدوانية المحتملة للأكياس والأورام سنية المنشأ (Henriques et al., 2011).

مناقشة الفرق بين نمطي ورم مصورات الميناء في قيمة عامل النمو البطاني الوعائي والبروتين الحال للقالب العضوي-9:

أخذت عينات ورم مصورات الميناء النمط الضفيري في كل من VEGF و9-MMP تعبيرية إيجابية أكبر من النمط الجرابي في البشرة والنسيج الضام، وكان الفرق بين النمطين بفارق ذو دلالة إحصائية في اللحمة الضامة للنمط الضفيري لقيمة تعبيرية VEGF وقد يدلنا ذلك على عدوانية النمط الضفيري بشكل أكبر.

وبذلك تقاربت نتائج دراستنا مع Anne وزملاؤه الذي لاحظ ارتفاع التعبيرية لل9-MMP في النمط الضفيري والنمط المختلط وقد يفسر هذا الارتفاع النسبي في هذين النمطين إلى إنذار أسوأ وتكاثر للخلايا بشكل أكبر وارتشاف للعظم المحيط أكثر (Anne et al., 2014).

ولكن اختلفنا مع Kumamoto وزملاؤه حيث أظهرت دراسته وجود تعبيرية لل VEGF بشكل أكبر في النمط الجرابي حيث وجدنا زيادة في تعبيرية الخلايا البشروية الورمية وخلايا النسيج الضام في النمط الضفيري وقد يعزى ذلك إلى اختلاف عدد العينة حيث قد يؤثر ذلك إحصائياً وبالإضافة إلى تأثير حجوم الأورام على تعبيرية هذا العامل(Kumamoto et al., 2002).

الباب الخامس

الإستنتاجات

CONCLUSIONS

وفي ضوء إمكانيات هذه الدراسة نستنتج مايلي :

1- كانت تعبيرية عامل النمو الوعائي البطاني VEGF في ورم مصورات الميناء مرتفعة مقارنة مع الكيس التاجي وذلك بفروق دالة إحصائياً.

2- كانت تعبيرية البروتين الحال للقالب العضوي MMP-9 في ورم مصورات الميناء مرتفعة مقارنة مع الكيس التاجي وذلك بفروق دالة إحصائياً.

3- احتمالية الاستفادة من عامل النمو الوعائي البطاني في معالجة ورم مصورات الميناء وخاصة في الحالات الناكسة وغير قابلة للعلاج الجراحي.

4- احتمالية الاستفادة من البروتين الحال للقالب العضوي كواسم لإنذار بعض الآفات ذو السلوك العدواني مثل ورم مصورات الميناء.

الباب السادس

التوصيات والمقترحات

Recommendations and Suggestions

التوصيات:

نوصي بزيادة الاهتمام بالتلوين المناعي للخزعات المأخوذة من الحفرة الفموية وماحولها لفائدتها في وضع التشخيص المناسب وتقييم المعطيات التنبوئية لسير الآفة.

المقترحات:

1- نقترح إجراء دراسة تضم عدد أكبر من العينات لتأكيد السلوك الحيوي لل VEGF MMP-9, في مختلف الآفات سنيَّة المنشأ.

2- نقترح إجراء دراسة على جميع أنماط ورم مصورات الميناء والتحري عن ارتفاع تعبيرية الملونات مع الأنماط الأسوأ إنذاراً.

3- نقترح بعد تخليق الورم أو زرعه على حيوانات التجربة إجراء دراسة لاستجابة الورم للعلاج في مضاد العامل النمو البطاني الوعائي.

الباب السابع

المراجع

REFERENCES

ADEBIYI, K. E., UGBOKO, V. I., OMONIYI-ESAN, G. O., NDUKWE, K. C. & OGINNI, F. O. 2006. Clinicopathological analysis of histological variants of ameloblastoma in a suburban Nigerian population. *Head Face Med,* 2**,** 42.

AGHI, M. & CHIOCCA, E. A. 2005. Contribution of bone marrow-derived cells to blood vessels in ischemic tissues and tumors. *Mol Ther,* 12**,** 994-1005.

AHMED, A., DUNK, C., AHMAD, S. & KHALIQ, A. 2000. Regulation of placental vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PIGF) and soluble Flt-1 by oxygen--a review. *Placenta,* 21 Suppl A**,** S16-24.

ALAEDDINI, M., ETEMAD-MOGHADAM, S. & BAGHAII, F. 2008. Comparative expression of calretinin in selected odontogenic tumours: a possible relationship to histogenesis. *Histopathology,* 5.304–299 ،2

AMURA, C. R., BRODSKY, K. S., GROFF, R., GATTONE, V. H., VOELKEL, N. F. & DOCTOR, R. B. 2007. VEGF receptor inhibition blocks liver cyst growth in pkd2(WS25/-) mice. *Am J Physiol Cell Physiol,* 293**,** C419-28.

ANDERSEN, T. L., DEL CARMEN OVEJERO ،M., KIRKEGAARD, T., LENHARD, T., FOGED, N. T. & DELAISSE, J. M. 2004. A scrutiny of matrix metalloproteinases in osteoclasts: evidence for heterogeneity and for the presence of MMPs synthesized by other cells. *Bone,* 35**,** 1107-19.

ANNE, R., KRISNUHONI, E ،.CHOTIMAH, C. & LATIEF, B. S. 2014. Matrix metalloproteinase-9 (mmp-9) expression in different subtypes of ameloblastoma. *J Maxillofac Oral Surg,* 13**,** 281-5.

AUTIERO, M., WALTENBERGER, J., COMMUNI, D., KRANZ, A., MOONS, L., LAMBRECHTS, D., KROLL, J., PLAISANCE, S., DE MOL, M., BONO, F., KLICHE, S., FELLBRICH, G., BALLMER-HOFER, K., MAGLIONE, D., MAYR-BEYRLE, U., DEWERCHIN, M., DOMBROWSKI, S., STANIMIROVIC, D., VAN HUMMELEN, P., DEHIO, C., HICKLIN, D. J., PERSICO, G., HERBERT, J. M., SHIBUYA, M., COLLEN, D ،.CONWAY, E. M. & CARMELIET, P. 2003. Role of PlGF in the intra- and intermolecular cross talk between the VEGF receptors Flt1 and Flk1. *Nat Med,* 9**,** 936-43.

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.

AVITIA, S., HAMILTON, J. S. & OSBORNE, R. F. 2007. Dentigerous cyst presenting as orbital proptosis. *Ear Nose Throat J,* 86**,** 23-4.

AZIZ, S. R., PULSE, C., DOURMAS, M. A & .ROSER, S. M. 2002. Inferior alveolar nerve paresthesia associated with a mandibular dentigerous cyst. *J Oral Maxillofac Surg,* 60**,** 457-9.

BABU, N. A., SANKARI, S. L., ANITHA, N. & MOHIDEEN, G. 2015. Aggressive granular cell ameloblastoma: Report of a rare case. *J Pharm Bioallied Sci,* 7**,** S276-8.

BARNES, L., EVESON, J., REICHART, P. & SIDRANSKY, D. 2005. World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of head and neck tumours. *Word Health Organization Classification of Tumours: Pathology and genetics of head and neck tumors*.

BELLOMO, D., HEADRICK, J. P., SILINS, G. U., PATERSON, C. A., THOMAS, P. S., GARTSIDE, M., MOULD, A., CAHILL, M. M., TONKS, I. D., GRIMMOND, S. M., TOWNSON, S., WELLS, C., LITTLE, M., CUMMINGS, M. C., HAYWARD ،N. K. & KAY, G. F. 2000. Mice lacking the vascular endothelial growth factor-B gene (Vegfb) have smaller hearts, dysfunctional coronary vasculature, and impaired recovery from cardiac ischemia. *Circ Res,* 86**,** E29-35.

BI, R., SHEN, L., ZHU, X. & XU, X. 201 .5Malignant ameloblastoma (metastatic ameloblastoma) in the lung: 3 cases of misdiagnosis as primary lung tumor with a unique growth pattern. *Diagn Pathol,* 10**,** 123.

BIRKEDAL-HANSEN, H., MOORE, W. G., BODDEN, M. K., WINDSOR, L. J., BIRKEDAL-HANSEN, B., DECARLO, A. & ENGLER, J. A. 1993. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med,* 4**,** 197-250.

BODE, W., GOMIS-RUTH, F. X. & STOCKLER, W. 1993. Astacins, serralysins, snake venom and matrix metalloproteinases exhibit identical zinc-binding environments (HEXXHXXGXXH and Met-turn) and topologies and should be grouped into a common family, the 'metzincins'. *FEBS Lett,* 331**,** 134-40.

BUISSON, A. C., ZAHM, J. M., POLETTE, M., PIERROT, D., BELLON, G., PUCHELLE, E., BIREMBAUT, P. & TOURNIER, J. M. 1996 .Gelatinase B is involved in the in vitro wound repair of human respiratory epithelium. *J Cell Physiol,* 166**,** 413-26.

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.

CARMELIET, P., MOONS, L., LUTTUN, A., VINCENTI, V., COMPERNOLLE, V., DE MOL, M., WU, Y., BONO, F., DEVY, L., BECK, H., SCHOLZ, D., ACKER, T., DIPALMA, T., DEWERCHIN, M., NOEL, A., STALMANS, I., BARRA, A., BLACHER ،S., VANDENDRIESSCHE, T., PONTEN, A., ERIKSSON, U., PLATE, K. H., FOIDART, J. M., SCHAPER, W., CHARNOCK-JONES, D. S., HICKLIN, D. J., HERBERT, J. M., COLLEN, D. & PERSICO, M. G. 2001. Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. *Nat Med,* 7**,** 575-83.

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.

CHAE, M. P., SMOLL, N. R., HUNTER-SMITH, D. J. & ROZEN, W. M. 2015. Establishing the natural history and growth rate of ameloblastoma with implications for management: systematic review and meta-analysis. *PLoS One,* 10**,** e01172.41

CHEN, W. L., OUYANG, K. X., LI, H. G., HUANG, Z. Q., LI, J. S. & WANG, J. G. 2009. Expression of inducible nitric oxide synthase and vascular endothelial growth factor in ameloblastoma. *J Craniofac Surg,* 20**,** 171-5; discussion 176-7.

CHENG, S. J., LEE ،J. J., KOK, S. H., CHOU, C. H., CHANG, H. H., YANG, H., CHIANG, M. L. & KUO, M. Y. 2011. Expression of vascular endothelial growth factor is significantly associated with progression and prognosis of oral squamous cell carcinomas in Taiwan. *J Formos Med Assoc,* 110**,** 50-7.

CHIRGWIN, J. M. & GUISE, T. A. 2000. Molecular mechanisms of tumor-bone interactions in osteolytic metastases. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr,* 10**,** 159-78.

CHUNG, A. S., LEE, J. & FERRARA, N. 2010. Targeting the tumour vasculature: insights from physiological angiogenesis. *Nat Rev Cancer,* 10**,** 505-14.

COOPER, M. E., VRANES, D., YOUSSEF, S., STACKER, S. A., COX, A. J., RIZKALLA, B., CASLEY, D. J., BACH, L. A., KELLY, D. J. & GILBERT, R. E. 1999. Increased renal expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 in experimental diabetes. *Diabetes,* 48**,** 2229-39.

COULTAS, L., CHAWENGSAKSOPHAK, K. & ROSSANT, J. 2005. Endothelial cells and VEGF in vascular development. *Nature,* 438**,** 937-45.

CURRAN, S. & MURRAY, G. I. 200 .0Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumour invasion and metastasis. *Eur J Cancer,* 36**,** 1621-30.

DANDRIYAL, R., GUPTA, A., PANT, S. & BAWEJA, H. H. 2011. Surgical management of ameloblastoma: Conservative or radical approach. *Natl J Maxillofac Surg,* 2**,** 22-7.

DE ANDRADE SANTOS, P. P., DE AQUINO, A. R., OLIVEIRA BARRETO, A., DE ALMEIDA FREITAS, R., GALVAO, H. C. & DE SOUZA, L. B. 2011. Immunohistochemical expression of nuclear factor kappaB, matrix metalloproteinase 9, and endoglin (CD105) in odontogenic keratocysts, dentigerous cysts, and radicular cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,* 112**,** 476-83.

DELAISSE, J. M., ENGSIG, M. T., EVERTS, V., DEL CARMEN OVEJERO, M., FERRERAS, M., LUND, L., VU, T. H., WERB, Z ،.WINDING, B., LOCHTER, A., KARSDAL, M. A., TROEN, T., KIRKEGAARD, T., LENHARD, T., HEEGAARD, A. M., NEFF, L., BARON, R. & FOGED, N. T. 2000. Proteinases in bone resorption: obvious and less obvious roles. *Clin Chim Acta,* 291**,** 223-34.

DELCLAUX, C., DELACOURT, C., D'ORTHO, M. P., BOYER, V., LAFUMA, C. & HARF, A. 1996. Role of gelatinase B and elastase in human polymorphonuclear neutrophil migration across basement membrane. *Am J Respir Cell Mol Biol,* 14**,** 288-95.

DINESHKUMAR, T., PRIYADHARSINI, N., GNANASELVI ،U. P., SATHISHKUMAR, S., SRIKANTH, R. P. & NAGARATHINAM, A. E. 2015. Evaluation and Comparison of Vascular Endothelial Growth Factor Expression between Ameloblastoma and Keratocystic Odontogenic Tumor. *J Int Oral Health,* 7**,** 48-52.

DUBOIS, B., STARCKX, S ،.PAGENSTECHER, A., OORD, J., ARNOLD, B. & OPDENAKKER, G. 2002. Gelatinase B deficiency protects against endotoxin shock. *Eur J Immunol,* 32**,** 2163-71.

EGEBLAD, M. & WERB, Z. 2002. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer,* 2**,** 161-74.

FAUR, A. C., LAZAR, E. & CORNIANU, M. 2014. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and microvascular density in salivary gland tumours. *APMIS,* 122**,** 418-26.

FERRARA, N. 2004. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev,* 25**,** 581-611.

FERRARA, N., GERBER, H. P. & LECOUTER, J. 2003. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med,* 9**,** 669-76.

FLORESCU, A., MARGARITESCU, C., SIMIONESCU, C. E. & STEPAN, A. 2012a. Immunohistochemical expression of MMP-9, TIMP-2, E-cadherin and vimentin in ameloblastomas and their implication in the local aggressive behavior of these tumors. *Rom J Morphol Embryol,* 53**,** 975-84.

FLORESCU, A., SIMIONESCU, C., CIUREA, R. & PITRU, A. 2012b. P53, Bcl-2 and Ki67 immunoexpression in follicular solid ameloblastomas. *Rom J Morphol Embryol,* 53**,** 105-9.

FOLKMAN, J. 2007. Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery? *Nat Rev Drug Discov,* 6**,** 273-86.

FORSYTH, P. A., WONG, H., LAING, T. D., REWCASTLE, N. B., MORRIS, D. G., MUZIK, H., LECO, K. J., JOHNSTON, R. N., BRASHER, P. M., SUTHERLAND, G. & EDWARDS, D. R. 1999. Gelatinase-A (MMP-2), gelatinase-B (MMP-9) and membrane type matrix metalloproteinase-1 (MT1-MMP) are involved in different aspects of the pathophysiology of malignant gliomas. *Br J Cancer,* 79**,** 1828-35.

FREGNANI, E. R., SOBRAL, L. M., ALVES, F. A., SOARES, F. A., KOWALSKI, L. P. & COLETTA, R. D. 2009. Presence of myofibroblasts and expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in ameloblastomas correlate with rupture of the osseous cortical. *Pathol Oncol Res,* 15**,** 231-40.

FRIEDLANDER, L. T., HUSSANI, H., CULLINAN, M. P., SEYMOUR, G. J., DE SILVA, R. K., DE SILVA, H., CAMERON, C. & RICH, A. M. 2015. VEGF and VEGFR2 in dentigerous cysts associated with impacted third molars. *Pathology,* 47**,** 446-51.

GILLE, H., KOWALSKI, J., LI, B., LECOUTER, J., MOFFAT, B., ZIONCHECK, T. F., PELLETIER, N. & FERRARA, N. 2001. Analysis of biological effects and signaling properties of Flt-1 (VEGFR-1) and KDR (VEGFR-2). A reassessment using novel receptor-specific vascular endothelial growth factor mutants. *J Biol Chem,* 276**,** 3222-30.

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.

GROBLEWSKA, M., SIEWKO, M., MROCZKO, B. & SZMITKOWSKI, M. 2012. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors (TIMPs) in the development of esophageal cancer. *Folia Histochem Cytobiol,* 50**,** 12-9.

GRUBER, B. L., SORBI ،D., FRENCH, D. L., MARCHESE, M. J., NUOVO, G. J., KEW, R. R. & ARBEIT, L. A. 1996. Markedly elevated serum MMP-9 (gelatinase B) levels in rheumatoid arthritis: a potentially useful laboratory marker. *Clin Immunol Immunopathol,* 78**,** 161-71.

GUPTA, B., CHANDRA, S., RAJ, V. & GUPTA, V. 2016a. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor in orofacial lesions - A review. *J Oral Biol Craniofac Res,* 6**,** 231-236.

GUPTA, B., CHANDRA, S., SINGH, A., SAH, K., RAJ, V. & GUPTA, V. 2016b. The role of vascular endothelial growth factor in proliferation of odontogenic cysts and tumors: An immunohistochemical study. *Dent Res J (Isfahan),* 13**,** 256-63.

HE, Y., KARPANEN, T. & ALITALO, K. 2004. Role of lymphangiogenic factors in tumor metastasis. *Biochim Biophys Acta,* 1654**,** 3-12.

HEIDINGER, M., KOLB, H., KRELL, H. W., JOCHUM, M. & RIES, C. 2006. Modulation of autocrine TNF-alpha-stimulated matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) expression by mitogen-activated protein kinases in THP-1 monocytic cells. *Biol Chem,* 387**,** 69-78.

HEISSIG, B., HATTORI, K., DIAS, S., FRIEDRICH, M., FERRIS, B., HACKETT, N. R., CRYSTAL, R. G., BESMER, P., LYDEN, D., MOORE, M. A., WERB, Z. & RAFII, S. 2002. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP 9–mediated release of kit-ligand. *Cell,* 109**,** 625-37.

HENRIQUES, A. C., VASCONCELOS, M. G., GALVAO, H. C., DE SOUZA, L. B. & DE ALMEIDA FREITAS, R. 2011. Comparative analysis of the immunohistochemical expression of collagen IV, MMP-9, and TIMP-2 in odontogenic cysts and tumors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,* 112**,** 468-75.

HERZOG, Y., KALCHEIM, C., KAHANE, N., RESHEF, R. & NEUFELD, G. 2001. Differential expression of neuropilin-1 and neuropilin-2 in arteries and veins. *Mech Dev,* 109**,** 115.9–

HOLMBECK, K., BIANCO, P., CATERINA, J., YAMADA, S., KROMER, M., KUZNETSOV, S. A., MANKANI, M., ROBEY, P. G., POOLE, A. R., PIDOUX, I., WARD, J. M. & BIRKEDAL-HANSEN, H. 1999. MT1-MMP-deficient mice develop dwarfism, osteopenia, arthritis, and connective tissue disease due to inadequate collagen turnover. *Cell,* 99**,** 81-92.

HUA, H., LI, M., LUO, T., YIN, Y. & JIANG, Y. 2011. Matrix metalloproteinases in tumorigenesis: an evolving paradigm. *Cell Mol Life Sci,* 68**,** 3853-68.

HUANG, K., ANDERSSON, C., ROOMANS ،G. M., ITO, N. & CLAESSON-WELSH, L. 2001. Signaling properties of VEGF receptor-1 and -2 homo- and heterodimers. *Int J Biochem Cell Biol,* 33**,** 315-24.

IDE, F., SHIMOYAMA, T. & HORIE, N. 1998. Basaloid squamous cell carcinoma versus basal cell ameloblastoma. *Oral Oncol,* 34**,** 154-5.

KARKKAINEN, M. J., HAIKO, P., SAINIO, K., PARTANEN, J., TAIPALE, J., PETROVA, T. V., JELTSCH, M., JACKSON, D. G., TALIKKA, M., RAUVALA, H., BETSHOLTZ, C. & ALITALO, K. 2004. Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins. *Nat Immunol,* 5**,** 74-80.

KHOT, K., DESHMUKH, S. B. & ALEX, S. 2015. Comparative analysis of the immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9 in keratocystic odontogenic tumor, dentigerous cyst and radicular cyst. *J Cancer Res Ther,* 11**,** 635-40.

KHURANA, R., MOONS, L., SHAFI, S., LUTTUN, A., COLLEN, D., MARTIN, J. F., CARMELIET, P. & ZACHARY, I. C. 2005. Placental growth factor promotes atherosclerotic intimal thickening and macrophage accumulation. *Circulation,* 111**,** 2828-36.

KOBAYASHI, T., KIM, H., LIU, X., SUGIURA, H., KOHYAMA, T., FANG, Q., WEN, F. Q., ABE, S., WANG, X., ATKINSON, J. J., SHIPLEY, J. M., SENIOR, R. M. & RENNARD, S. I. 2014. Matrix metalloproteinase-9 activates TGF-beta and stimulates fibroblast contraction of collagen gels. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,* 306**,** L1006-15.

KONDAMARI, S. K., TANEERU, S., GUTTIKONDA, V. R. & MASABATTULA, G. K. 2018. Ameloblastoma arising in the wall of dentigerous cyst: Report of a rare entity. *J Oral Maxillofac Pathol,* 22**,** S7-S10.

KUMAMOTO, H. 2006. Molecular pathology of odontogenic tumors. *Journal of oral pathology & medicine,* 35**,** 65-74.

KUMAMOTO, H., IZUTSU, T., OHKI, K., TAKAHASHI, N. & OOYA, K. 2004. p53 gene status and expression of p53, MDM2, and p14 proteins in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med,* 33**,** 292-9.

KUMAMOTO, H., OHKI, K. & OOYA, K. 2002. Association between vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and tumor angiogenesis in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med,* 31**,** 28-34.

KUMAMOTO, H. & OOYA, K. 2006. Expression of bone morphogenetic proteins and their associated molecules in ameloblastomas and adenomatoid odontogenic tumors. *Oral Dis,* 12**,** 163-70.

KUMAMOTO, H., YAMAUCHI ،K., YOSHIDA, M. & OOYA, K. 2003. Immunohistochemical detection of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med,* 32**,** 114-20.

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.

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.

LINDEMAN, J. H., ABDUL-HUSSIEN, H., VAN BOCKEL, J. H., WOLTERBEEK, R. & KLEEMANN, R. 2009. Clinical trial of doxycycline for matrix metalloproteinase-9 inhibition in patients with an abdominal aneurysm: doxycycline selectively depletes aortic wall neutrophils and cytotoxic T cells. *Circulation,* 119**,** 2209-16.

LUO, J., YOU, M., ZHENG, G. & XU, L. 2014. Cone beam computed tomography signs of desmoplastic ameloblastoma: review of 7 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol,* 118**,** e126-33.

LUTTUN, A., TJWA, M., MOONS, L., WU, Y., ANGELILLO-SCHERRER, A., LIAO, F., NAGY, J. A., HOOPER, A., PRILLER, J., DE KLERCK, B., COMPERNOLLE, V., DACI, E., BOHLEN, P., DEWERCHIN, M., HERBERT, J. M., FAVA, R., MATTHYS, P ،.CARMELIET, G., COLLEN, D., DVORAK, H. F., HICKLIN, D. J. & CARMELIET, P. 2002. Revascularization of ischemic tissues by PlGF treatment, and inhibition of tumor angiogenesis, arthritis and atherosclerosis by anti-Flt1. *Nat Med,* 8**,** 831-40.

MAKINEN, T., JUSSILA, L., VEIKKOLA, T., KARPANEN, T., KETTUNEN, M. I., PULKKANEN, K. J., KAUPPINEN, R., JACKSON, D. G., KUBO, H., NISHIKAWA, S., YLA-HERTTUALA, S. & ALITALO, K. 2001. Inhibition of lymphangiogenesis with resulting lymphedema in transgenic mice expressing soluble VEGF receptor-3. *Nat Med,* 7**,** 199-205.

MARCHENKO, N. D., MARCHENKO, G. N., WEINREB, R. N., LINDSEY, J. D., KYSHTOOBAYEVA, A., CRAWFORD, H. C. & STRONGIN, A. Y. 2004. Beta-catenin regulates the gene of MMP-26, a novel metalloproteinase expressed both in carcinomas and normal epithelial cells. *Int J Biochem Cell Biol,* 36**,** 942-56.

MASTHAN, K. M., ANITHA, N., KRUPAA, J. & MANIKKAM, S. 2015. Ameloblastoma. *J Pharm Bioallied Sci,* 7**,** S167-70.

MATSUMOTO, T. & CLAESSON-WELSH, L. 2001. VEGF receptor signal transduction. *Sci STKE,* 2001**,** re21.

MENINGAUD, J. P., OPREAN, N., PITAK-ARNNOP, P. & BERTRAND, J. C. 2006. Odontogenic cysts: a clinical study of 695 cases. *J Oral Sci,* 48**,** 59-62.

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.

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.

MOHAN, R., CHINTALA, S. K., JUNG, J. C., VILLAR, W. V., MCCABE, F., RUSSO, L. A., LEE, Y., MCCARTHY, B. E., WOLLENBERG, K. R., JESTER, J. V., WANG, M., WELGUS, H. G., SHIPLEY, J. M., SENIOR, R. M. & FINI, M. E. 2002. Matrix metalloproteinase gelatinase B (MMP-9) coordinates and effects epithelial regeneration. *J Biol Chem,* 277**,** 2065-72.

MOTAMEDI, M. H. & TALESH, K. T. 2005. Management of extensive dentigerous cysts. *Br Dent J,* 198**,** 203-6.

MOULD, A. W., TONKS, I. D., CAHILL, M. M., PETTIT, A. R., THOMAS, R., HAYWARD, N. K & . KAY, G. F. 2003. Vegfb gene knockout mice display reduced pathology and synovial

angiogenesis in both antigen-induced and collagen-induced models of arthritis. *Arthritis Rheum,* 48**,** 2660-9.

MUNIZ-LINO, M. A., RODRIGUEZ-VAZQUEZ, M., CHAVEZ-MUNGUIA, B., ORTIZ-GARCIA, J. Z., GONZALEZ-LOPEZ, L., HERNANDEZ-HERNANDEZ, F. C., LICEAGA-ESCALERA, C., GARCIA-MUNOZ, A. & RODRIGUEZ, M. A. 2017. Establishment and characterization of a cell population derived from a dentigerous cyst. *J Oral Pathol Med,* 46**,** 603-610.

MYOKEN, Y., MYOKEN, Y., OKAMOTO, T., SATO, J. D. & TAKADA, K. 1995. Immunohistochemical localization of fibroblast growth factor-1 (FGF-1) and FGF-2 in cultured human ameloblastoma epithelial cells and ameloblastoma tissues. *J Oral Pathol Med,* 24**,** 387-92.

NAGASE, H., VISSE, R. & MURPHY, G. 2006. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res,* 69**,** 562-73.

NAGASE, H. & WOESSNER, J. F., JR. 1999. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem,* 274**,** 21491-4.

NEVILLE, B., DOUGLAS, D., CARL ،M. & BOUQUOT, J. 2009. Odontogenic Cysts and Tumors. *Oral and Maxillofacial Pathology*.

NONAKA, C. F., MAIA, A. P., NASCIMENTO, G. J., DE ALMEIDA FREITAS, R., BATISTA DE SOUZA, L. & GALVAO, H. C. 2008. Immunoexpression of vascular endothelial growth factor in periapical granulomas, radicular cysts, and residual radicular cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,* 106**,** 896-902.

OPDENAKKER, G., VAN DEN STEEN, P. E., DUBOIS, B., NELISSEN, I., VAN COILLIE, E., MASURE, S., PROOST, P. & VAN DAMME ،J. 2001. Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology. *J Leukoc Biol,* 69**,** 851-9.

PALMER, B. F. & CLEGG, D. J. 2014. Oxygen sensing and metabolic homeostasis. *Mol Cell Endocrinol,* 397**,** 51-8.

PARTANEN, T. A., ALITALO, K. & MIETTINEN, M. 1999. Lack of lymphatic vascular specificity of vascular endothelial growth factor receptor 3 in 185 vascular tumors. *Cancer,* 86**,** 2406-12.

PATTERSON, M. L., ATKINSON, S. J., KNAUPER, V. & MURPHY, G. 2001. Specific collagenolysis by gelatinase A, MMP-2, is determined by the hemopexin domain and not the fibronectin-like domain. *FEBS Lett,* 503**,** 158-62.

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.

PHILIPSEN, H. P. & REICHART, P. A. 1998. Unicystic ameloblastoma. A review of 193 cases from the literature. *Oral Oncol,* 34**,** 317-25.

PINHEIRO, J. J., FREITAS, V. M., MORETTI, A. I., JORGE, A. G. & JAEGER, R. G. 2004. Local invasiveness of ameloblastoma. Role played by matrix metalloproteinases and proliferative activity. *Histopathology,* 45**,** 65-72.

PREMALATHA, B. R., PATIL, S., RAO, R. S., REDDY, N. P. & INDU, M. 2013. Odontogenic tumor markers - an overview. *J Int Oral Health,* 5.69–59 ،

QIAN, Y. & HUANG, H. Z. 2010. The role of RANKL and MMP-9 in the bone resorption caused by ameloblastoma. *J Oral Pathol Med,* 39**,** 592-8.

RAMOS-DESIMONE, N., HAHN-DANTONA, E., SIPLEY, J., NAGASE, H., FRENCH, D. L. & QUIGLEY, J. P. 1999. Activation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) via a converging plasmin/stromelysin-1 cascade enhances tumor cell invasion. *J Biol Chem,* 274**,** 13066-76.

REGEZI, J. A., SCIUBBA, J. J. & JORDAN, R. C. K. 2008. *Oral pathology : clinical pathologic correlations,* St. Louis, Mo., Saunders/Elsevier.

REICHART, P. A., PHILIPSEN, H. P. & SONNER, S. 1995. Ameloblastoma: biological profile of 3677 cases. *Eur J Cancer B Oral Oncol,* 31B**,** 86-99.

RIBEIRO, A. L., NOBRE, R. M., ALVES-JUNIOR, S. M., KATAOKA, M. S., BARROSO, R. F., JAEGER, R. G. & PINHEIRO, J. J. 2012. Matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, and growth factors regulate the aggressiveness and proliferative activity of keratocystic odontogenic tumors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol,* 114**,** 487-96.

RISSANEN, T. T., RUTANEN, J. & YLA-HERTTUALA, S. 2004. Gene transfer for therapeutic vascular growth in myocardial and peripheral ischemia. *Adv Genet,* 52**,** 117-64.

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.

ROY, H., BHARDWAJ, S. & YLA-HERTTUALA, S. 2006. Biology of vascular endothelial growth factors. *FEBS Lett,* 580**,** 2879-87.

RUBINI, C., ARTESE, L., ZIZZI, A., FIORONI ،M., ASCANI, G., GOTERI, G., STRAMAZZOTTI, D., PICCIRILLI, M., IEZZI, G. & PIATTELLI, A. 2011. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in different types of odontogenic cysts. *Clin Oral Investig,* 15**,** 757-61.

RUNDHAUG, J .E. 2003. Matrix metalloproteinases, angiogenesis, and cancer: commentary re: A. C. Lockhart et al., Reduction of wound angiogenesis in patients treated with BMS-275291, a broad spectrum matrix metalloproteinase inhibitor. Clin. Cancer Res., 9: 00-00, 20 .03*Clin Cancer Res,* 9**,** 551-4.

SADRI, D., FARHADI, S., SHAHABI, Z. & SARSHAR, S. 2016. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Odontogenic Cysts: Is There Any Impression on Clinical Outcome? *Open Dent J,* 10**,** 752-759.

SAH, P., MENON, A., KAMATH ،A., CHANDRASHEKAR, C., CARNELIO, S. & RADHAKRISHNAN, R. 2013. Role of immunomarkers in the clinicopathological analysis of unicystic ameloblastoma. *Dis Markers,* 35**,** 481-8.

SAKAMOTO, J., KURIBAYASHI, A., KOTAKI, S., FUJIKURA, M., NAKAMURA, S. & KURABAYASHI, T. 2016. Application of diffusion kurtosis imaging to odontogenic lesions: Analysis of the cystic component. *J Magn Reson Imaging,* 44**,** 1565-1571.

SALEM, S. A., ALY, D. G. & YOUSSEF, N. S. 2011. Immunohistochemical assessment of angiogenesis and vascular endothelial growth factor expression in cutaneous lichen planus: relation to the degree of inflammation. *Eur J Dermatol,* 21**,** 197-202.

SCHEPER, M. A., DUARTE, E. C., INTAPA, C., ZHANG, M., NASCIMENTO, L. M., ALMEIDA, T. P., GOMES, A. C., SONG, S., CHAISUPARAT, R., BATISTA, A. C. & JHAM, B. C. 2012. Expression of midkine in ameloblastomas and its correlation with clinicopathologic parameters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol,* 114**,** 497-502.

SEIFI, S., SHAFAIE, S. & GHADIRI, S. 2011. Microvessel density in follicular cysts, keratocystic odontogenic tumours and ameloblastomas. *Asian Pac J Cancer Prev,* 12**,** 351-6.

SENGER, D. R., GALLI, S. J., DVORAK, A. M., PERRUZZI, C. A., HARVEY, V. S. & DVORAK, H. F. 1983. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science,* 219**,** 983-5.

SHAH, K. M., KARAGIR, A., ADAKI, S. & PATTANSHETTI, C. 2013. Dentigerous cyst associated with an impacted anterior maxillary supernumerary tooth. *BMJ Case Rep,* 2013.

SHAHELA, T ،.AESHA, S., RANGANATHAN, K., T, R., ROA, K. U., JOSHUA, E., AHMED, A. S. & CHITTAMSETTY, H. 2013. Immunohistochemical Expression of PCNA in Epithelial Linings of Selected Odontogenic Lesions. *J Clin Diagn Res,* 7**,** 2615-8.

SHEN, L. C., CHEN, Y. K., HSUE, S .S. & SHAW, S. Y. 2010. Expression of osteonectin/secreted protein acidic and rich in cysteine and matrix metalloproteinases in ameloblastoma. *J Oral Pathol Med,* 39**,** 242-9.

SINGH, G., AGARWAL, R., KUMAR, V. & PASSI, D. 2013. Acanthomatous ameloblastoma- a case report. *J Int Oral Health,* 5**,** 54-8.

SKOBE, M., HAMBERG, L. M., HAWIGHORST, T., SCHIRNER, M., WOLF, G. L., ALITALO, K. & DETMAR, M. 2001. Concurrent induction of lymphangiogenesis, angiogenesis, and macrophage recruitment by vascular endothelial growth factor-C in melanoma. *Am J Pathol,* 159**,** 893-903.

SORSA, T., MANTYLA, P., TERVAHARTIALA, T., PUSSINEN, P. J., GAMONAL, J. & HERNANDEZ, M. 2011. MMP activation in diagnostics of periodontitis and systemic inflammation. *J Clin Periodontol,* 38**,** 817-9.

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.

SRIDHAR, M., BHASKAR REDDY, L. R., KHARAT, S., MAHESH, B. S., GANDI, L., MAHENDRA, A., NIGAM, P. & GREWAL, P. 2015. Basal cell ameloblastoma: a rare histological variant of an uncommon tumor. *Niger J Surg,* 21**,** 66-9.

SUOJANEN, J., LEHTONEN, N., FARKKILA, E., HIETANEN, J., TERONEN, O., SORSA, T & . HAGSTROM, J. 2014. Common Matrix Metalloproteinases (MMP-8, -9, -25, and -26) Cannot Explain Dentigerous Cyst Expansion. *J Clin Diagn Res,* 8**,** ZC82-5.

TAMMELA, T., ENHOLM, B., ALITALO, K. & PAAVONEN, K. 2005. The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovasc Res,* 65**,** 550-63.

TAYLOR, A. M. 2008. New findings and controversies in odontogenic tumors. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal,* 13**,** E555-E558.

THOMPSON, L. 2006. World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of head and neck tumours. *Ear Nose Throat J,* 85**,** 74.

TOLLER, P. 1967. Origin and growth of cysts of the jaws. *Ann R Coll Surg Engl,* 40**,** 306-36.

TOMPKINS, K. 2006. Molecular mechanisms of cytodifferentiation in mammalian tooth development. *Connect Tissue Res,* 47**,** 111-8.

UPADHYAYA, J. D., BHATTACHARYYA, I., FITZPATRICK, S. G., COHEN, D. M. & ISLAM, M. N. 2017. Peripheral Ameloblastoma: A Study of 18 Cases and Usage of Ber-EP4 Immunohistochemistry to Rule out a Diagnosis of Intraoral Basal Cell Carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg*.

VAN DEN STEEN, P. E., DUBOIS, B., NELISSEN, I., RUDD, P. M., DWEK, R. A. & OPDENAKKER, G. 2002. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). *Crit Rev Biochem Mol Biol,* 37**,** 375-5.36

VISSE, R. & NAGASE, H. 2003. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res,* 92**,** 827-39.

VU, T. H., SHIPLEY, J. M., BERGERS, G., BERGER, J. E., HELMS, J. A., HANAHAN, D., SHAPIRO ، S. D., SENIOR, R. M. & WERB, Z. 1998. MMP-9/gelatinase B is a key regulator of growth plate angiogenesis and apoptosis of hypertrophic chondrocytes. *Cell,* 93**,** 411-22.

WANG, J. & TSIRKA, S. E. 2005. Neuroprotection by inhibition of matrix metalloproteinases in a mouse model of intracerebral haemorrhage. *Brain,* 128**,** 1622-33.

YAMAZAKI, Y., TOKUNAGA, Y., TAKANI, K. & MORITA, T. 2005. Identification of the heparin-binding region of snake venom vascular endothelial growth factor (VEGF-F) and its blocking of VEGF-A165. *Biochemistry,* 44**,** 8858-64.

ZACHARY, I. & GLIKI, G. 2001. Signaling transduction mechanisms mediating biological actions of the vascular endothelial growth factor family. *Cardiovasc Res,* 49**,** 568-81.

ZAPALA-POSPIECH, A., WYSZYNSKA-PAWELEC, G., ADAMEK, D., TOMASZEWSKA, R., ZALESKA, M. & ZAPALA, J. 2013. Malignant transformation in the course of a dentigerous cyst: a problem for a clinician and a pathologist. Considerations based on a case report. *Pol J Pathol,* 64**,** 64-8.

ZHANG, L. L., YANG, R., ZHANG ،L., LI, W., MACDONALD-JANKOWSKI, D. & POH, C. F. 2010. Dentigerous cyst: a retrospective clinicopathological analysis of 2082 dentigerous cysts in British Columbia, Canada. *Int J Oral Maxillofac Surg,* 39**,** 878-82.

ZITKA, O., KUKACKA, J., KRIZKOVA, S., HUSKA, D., ADAM, V., MASARIK, M., PRUSA, R. & KIZEK, R. 2010. Matrix metalloproteinases. *Curr Med Chem,* 17**,** 3751-68.

الملخص باللغة العربية:

خلفية البحث وهدفه: تعتبر البروتينات الحالة للقالب العضوي هي المسؤولة عن انحلال القالب العظمي المحيط بالآفات داخل العظمية ومنها البروتين الحال للقالب العضوي-9 (الجيلاتيناز-ب)، كما أشارت العديد من الدراسات إلى دور عامل النمو الوعائي البطاني في نمو الآفات وانتشارها حيث تساهم في نمو والغزو الموضعي للآفات سنية المنشأ. لذلك قمنا بتحري تعبيرية البروتين الحال للقالب العضوي-9 وعامل النمو الوعائي البطاني في ورم مصورات الميناء والكيس التاجي باستخدام التلوين المناعي الكيميائي النسيجي، ومقارنتهما للتحقق من دورهما في تشخيص وتحديد السلوك الحيوي لبعض الآفات سنية المنشأ.

مواد وطرائق البحث: تألفت العينة من 15 عينة لورم مصورات الميناء و15 عينة من الكيس التاجي مثبتة بالفورمالين ومدمجة بشمع البارافين وملونة بالهيماتوكسلين والإيوزين تقليدياً ومناعياً بالضد وحيد النسيلة لبروتين الحال للقالب العضوي -9 وعامل النمو الوعائي البطاني

النتائج: تبين أن تعبيرية MMP-9 و VEGF في ورم مصورات الميناء بنمطيه الجرابي والضفيري تتراوح بين المرتفعة والمتوسطة بينما كانت تعبيرية هذين البروتينين منخفضة نسبياً في الكيس التاجي، ووجدت فروق ذات دلالة إحصائية ($p<0.05$) بين هاتين الآفتين.

الاستنتاجات: مساهمة عامل النمو الوعائي البطاني والبروتين الحال للقالب العضوي-9 في عملية الغزو للآفات سنية المنشأ الأكثر عدوانية وبهذا نستنتج دورهما كواسم تشخيصي للتنبؤ بالسلوك الحيوي للآفات سنية المنشأ.

كلمات مفتاحية: ورم مصورات الميناء ، الكيس التاجي ، البروتين الحال للقالب العضوي-9 ، عامل النمو الوعائي البطاني.

الملخص باللغة الإنكليزية:

Abstract:

Background and Objective: Matrix Metalloproteinases are responsible of the degradation of bone matrix which surround the intraosseous lesions like Matrix Metalloproteinase-9 (Gelaninase-B) , and many studies have indicated the role of Vascular Endothelial Growth Factor in growth and spread lesions which contributes to the local invasion of odontogenic lesions. So we Investigated the expression of Matrix Metalloproteinase-9 and Vascular Endothelial Growth Factor in Ameloblastoma and Dentigerous Cyst , using a monoclonal antibody, then compare between them to Investigate of role in diagnosis and determination of biological behavior of some odontogenic lesions.

Materials & methods:The sample consisted of 15 formalin_fixed, paraffin_ embedded specimens of Ameloblastoma (Follicullar-plexiform pattern), 15 other of Dentigerous Cyst that were conventionally stained with H&E and immunohistochemically stained with a monoclonal anti MMP-9 antibody and anti VEGF antibody.

Results:The expression of MMP-9 and VEGF in ameloblastoma (Follicular-plexiform pattern) was various between high and medial while its expression in dentigerous cyst was low , Statistical analysis indicate significant differences between these lesions ($p<0.05$)

Conclusion:these proteins contribute in the invasion of more aggressive odontogenic lesions, thus we concluded its role as diagnosic markers in prediction of the biological behavior of odontogenic lesions.

Keywords:Ameloblastoma,Dentigerous Cyst, Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9), Vascular Endothelial Growth Factor(VEGF).

SYRIAN ARAB REPUBLIC
DAMASCUS UNIVERSITY
Damascus University Journal
for Medical Sciences
/ISSN 2072-2265/

الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
مديرية مجلات جامعة دمشق
مجلة جامعة دمشق للعلوم الصحية

رقم البحث: 3982
الرقم: /1697/ ص
التاريخ:2018/09/17

السيد الأستاذ الدكتور نائب رئيس جامعة دمشق لشؤون البحث العلمي والدراسات العليا

تقدمت السيدة رهام الصفدي (طالبة ماجستير) في كلية طب الأسنان بجامعة دمشق ببحث للنشر في مجلة جامعة دمشق بعنوان:

تحري تعبيرية البروتين الحال للقالب العضوي -9
في بعض الآفات سنية المنشأ

بإشراف الدكتور ممدوح المحارب وتم تحكيمه وقبوله للنشر.

رئيس تحرير
مجلة جامعة دمشق للعلوم الصحية
الأستاذ الدكتور صلاح شيخة

دمشق – سورية – ص.ب 5735 – هاتف: 33923500 – 33923505
Damascus – SYRIA – P.O. Box : 5735 – Fax : 2129807