

بررسی ایمونوهیستوشیمیایی تغییرات بافت شناسی نسوج اطراف دندان‌های عقل نهفته و ارتباط آن با ویژگی‌های پرتونگاری

دکتر سید محمد رضوی^۱، سارا سیادت^۲، دکتر مژده مهدیزاده^۳،
دکتر بیژن موحدیان^۴، دکتر داریوش هاشمی‌نیا*

چکیده

مقدمه: دندان مولر سوم بیشترین شیوع نهفتگی را در بین دندان‌ها دارد. هنوز توافق عمومی درباره ضرورت خارج کردن دندان عقل بدون علامت وجود ندارد. نشانگر EGFR (Epidermal growth factor receptor) می‌تواند نشانگری از افزایش پتانسیل توده‌های اپی‌تلیالی برای تبدیل شدن به ضایعات توموری و کیستی باشد. هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی میزان و شدت حضور نشانگر EGFR در فولیکول اطراف دندان عقل نهفته و بررسی ارتباط آن با خصوصیات رادیولوژی این دندان بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی-تحلیلی، نمونه‌های مورد مطالعه شامل ۴۰ بلوک پارافینی فیکس شده فولیکول‌های دندان عقل نهفته بود. پس از تهیه بلوک‌های مورد آزمایش و بررسی اولیه اسلایدهای هماتوکسیلین ائوزین، رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی با نشانگر EGFR انجام گرفت. سپس الگوی رنگ‌آمیزی سلول‌های هر نمونه (صرفاً غشایی، صرفاً سیتوپلاسمی یا غشایی-سیتوپلاسمی باهم) مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها توسط نرم‌افزار SPSS و آزمون Mann-Whitney و Logistic regression مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند ($\alpha = 0/05$).

یافته‌ها: بروز نشانگر EGFR با الگوی صرفاً غشایی در فولیکول‌های با رادیولوسنسی بیشتر از ۲/۵ mm به طور چشمگیری بیشتر از فولیکول‌های با رادیولوسنسی کمتر از ۲/۵ mm بود ($p \text{ value} < 0/001$). اما در الگوی صرفاً سیتوپلاسمی ($p \text{ value} = 0/13$) و الگوی غشایی-سیتوپلاسمی با هم ($p \text{ value} = 0/13$) تفاوت بین دو گروه معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: در فولیکول‌های با رادیولوسنسی بیشتر از ۲/۵ mm، تعداد و شدت سلول‌های رنگ گرفته با الگوی صرفاً غشایی بیشتر از فولیکول‌های با رادیولوسنسی کمتر از ۲/۵ mm بود که نشانگر واکنش سریع‌تر تکثیر سلولی است. پیشنهاد می‌شود تمامی دندان‌های عقل نهفته که دارای رادیولوسنسی بیشتر از ۲/۵ mm هستند در اولویت خارج کردن قرار گیرند. فقدان رادیولوسنسی غیر طبیعی نیز به معنای فولیکول سالم و بدون تغییرات آسیب شناسی نمی‌باشد.

کلید واژه‌ها: پروتئین EGFR انسان، دندان نهفته، ایمونوهیستوشیمیایی.

* استادیار، عضو مرکز تحقیقات دندان پزشکی ترابی‌نژاد، گروه جراحی دهان، فک و صورت، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران. (مؤلف مسؤول)
d_hashemini@dnt.mui.ac.ir

۱: دانشیار، عضو مرکز تحقیقات دندان پزشکی ترابی‌نژاد، گروه آسیب‌شناسی دهان، فک و صورت، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲: دانشجوی دندان پزشکی، عضو کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۳: دانشیار، عضو مرکز تحقیقات دندان پزشکی ترابی‌نژاد، گروه رادیولوژی دهان، فک و صورت، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۴: دانشیار، عضو مرکز تحقیقات دندان پزشکی ترابی‌نژاد، گروه جراحی دهان، فک و صورت، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

این مقاله حاصل پایان‌نامه عمومی به شماره ۳۹۰۰۵۶ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد.

این مقاله در تاریخ ۹۱/۱/۸ به دفتر مجله رسید، در تاریخ ۹۱/۲/۲ اصلاح شده و در تاریخ ۹۱/۲/۱۹ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان پزشکی اصفهان
۱۳۹۱: (۲) ۱۶۲ تا ۱۷۱

مقدمه

فولیکول اطراف تاج دندانی از بافت فیروز، بقایای اپی‌تلیوم ادوتوژنیک و اپی‌تلیوم مینایی کاهش یافته تشکیل شده است [۱]. این فولیکول گاهی اطراف تاج دندان نهفته باقی می‌ماند و باعث تشکیل کیست و تومورهایی مانند کیست دانتی ژور، ادوتوژنیک کراتوسیست یا آملوبلاستوما از اپی‌تلیوم ادوتوژنیک فولیکول می‌شود [۲، ۳].

دندان مولر سوم بیشترین شیوع نهفتگی را در بین دندان‌ها دارد [۴]. خارج کردن دندان عقل نهفته یکی از فراوان‌ترین اعمال جراحی، در جراحی‌های دهان و صورت می‌باشد [۵]. اگرچه اندیکاسیون خارج کردن دندان عقل نهفته برای اهداف درمانی وجود دارد، هنوز توافق عمومی درباره ضرورت خارج کردن دندان عقل بدون علامت وجود ندارد [۶-۸].

Cabbar و همکاران [۹] در مطالعه خود خارج کردن دندان‌های مولر سوم نهفته بدون علامت (Asymptomatic) را به هدف پیش‌گیرانه و به منظور کاهش پیچیدگی و دشواری‌های فرایند جراحی‌های بعدی پیشنهاد می‌کنند. Rakprasitkul [۱۰] نیز می‌گوید دندان‌های عقل نهفته باید قبل از این که دچار تغییرات پاتولوژیک شوند، خارج شوند. او پیشنهاد می‌کند دندان‌های عقل نهفته در بیماران بالای ۲۰ سال به طور معمول حتی در نبود ضایعه پاتولوژیک خارج شوند، در حالی که Tulloch و همکاران [۱۱] بر این عقیده هستند که جراحی به هدف پیش‌گیرانه برای تمام دندان‌های عقل نهفته مقرون به صرفه نخواهد بود.

اگرچه پیشنهاد همایش مؤسسات ملی توسعه بهداشت عمومی، مبنی بر خارج کردن دندان مولر سوم است، اما بسیاری از محققین این پرسش را مطرح می‌کنند که آیا لازم است دندان عقل بر اساس یک روند معمول کشیده شود یا خیر [۱۶-۱۲]. در مطالعه‌ای پیشنهاد شد که خارج کردن دندان مولر سوم بر اساس وجود تغییرات رادیولوژیکی در رادیوگرافی دندان نهفته صورت گیرد [۱۷]؛ اما در برخی مطالعات دیگر تأکید شده که وجود تغییرات هیستولوژیک در دندان مولر سوم نهفته لزوماً در ارتباط با تغییرات رادیولوژیک دندان نهفته نیست [۱۸، ۱۰، ۷].

طبق برخی مطالعات گذشته، اندازه فضای فولیکولار نرمال بین ۲ تا ۳ میلی‌متر می‌باشد؛ اما داده‌های علمی محدودی اعتبار

این فرضیه را تأیید می‌کنند [۲۰، ۱۹، ۱۷]. طبق نظریه Wood و Goaz [۲۱]، در ۸۰ درصد مواردی که فضای پری کروئال فولیکول دندانی عرضی معادل ۲/۵ mm در رادیوگرافی دارد، فولیکول نرمال نبوده و همراه ضایعه می‌باشد.

Adelsperger و همکاران [۶] که به بررسی تغییرات پاتولوژیک در بافت نرم اطراف دندان‌های عقل فاقد رادیولوژیکی، پرداختند، بیان داشتند علایم رادیوگرافی نمی‌تواند به عنوان یک نشانگر مورد اطمینان مبنی بر نبودن ضایعه در فولیکول دندانی باشد. آن‌ها معتقد هستند شیوع ضایعات پاتولوژیک بیشتر از آن چیزی است که در ضایعات دارای نمای رادیولوژیک دیده می‌شود.

فاکتورهای رشد و گیرنده آن‌ها نقش مهمی در رشد بافت‌های نرمال بدن و همچنین تکامل و پیشرفت نئوپلاسم‌ها دارند [۲۲]. بیان (Epidermal growth factor receptor) EGFR در اپی‌تلیوم طبیعی مانند مخاط دهان و همچنین در دندان‌های در حال رویش دیده می‌شود. بیان بیش از حد EGFR در ارتباط با پیشرفت تومور در بسیاری از نئوپلاسم‌های اپی‌تلیالی در نواحی مختلف مانند سر و گردن دیده شده است [۲۴، ۲۳].

Da Silva و همکاران [۲۵] نیز به مطالعه چگونگی توزیع EGFR در فولیکول‌های پری کروئال و ارتباط آن با منشأ کیست‌ها و تومورهای ادوتوژنیک پرداختند. این محققین بیان می‌کنند که بروز محدود به غشای EGFR می‌تواند نشانگری از افزایش پتانسیل توده‌های اپی‌تلیالی برای تبدیل شدن به ضایعات تومورال و کیستیک باشد.

به همین علت، این مطالعه به بررسی هیستوپاتولوژی فولیکول‌های دندانی با استفاده از نشانگر EGFR در دو گروه دندان‌های عقل نهفته که در گرافی، فولیکولی با عرض کمتر از ۲/۵ mm یا بیشتر از ۲/۵ mm دارند، می‌پردازد. هدف از این پژوهش، بررسی ارتباط بروز پروتئین EGFR با اندازه فولیکول در نمای رادیوگرافی نسوج اطراف دندان‌های مولر سوم نهفته بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر یک مطالعه مقطعی - تحلیلی و نمونه‌های مورد مطالعه شامل بلوک‌های پارافینی فیکس شده فولیکول‌های

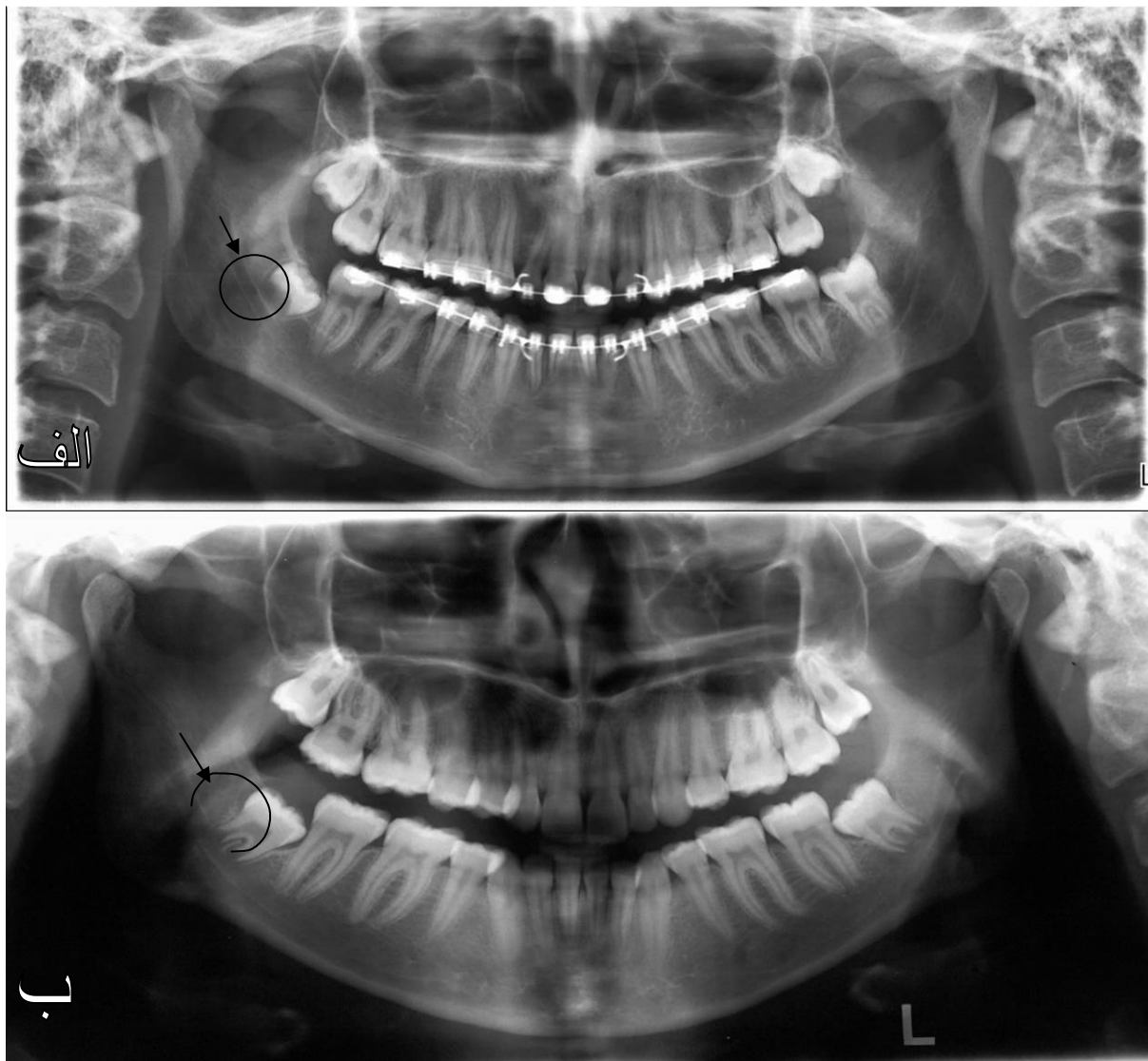
تغییرات بافت شناسی نسوج اطراف دندان‌های عقل

دکتر سید محمد رضوی و همکاران

رادیوگرافی‌های تهیه شده توسط رادیولوژیست ماهر به نرم‌افزار Option با سپس شدند. Digora (Sorodex Finland), منتقل شدند. سپس با کالیبراسیون، به ضریب بزرگ‌نمایی ۱ کالیبره شدند. سپس با Sigma 1 و Sigma 2 option, دانسیته تصاویر به صورت بصری در حد قابل قبول تنظیم شد. چون هدف، بررسی فضای پری کرونا بود، از Sharpness option استفاده گردید. سپس با خط‌کش دیجیتال نرم‌افزار فاصله دیستالی فضای پری کرونا دندان عقل نهفته اندازه‌گیری و گزارش گردید. پس از خارج ساختن نمونه اطلاعات کامل بیمار شامل نام بیمار، سن، جنس، سمت مورد جراحی و نوع نمونه‌برداری، اندازه

دندان عقل نهفته بود. ۲۰ نمونه با فضای فولیکولار زیر mm ۲/۵ (شکل ۱-الف) و ۲۰ نمونه با فضای فولیکولار بالای mm ۲/۵ (شکل ۱-ب). نمونه‌های دارای التهاب و همچنین نمونه‌هایی که فولیکول آن‌ها کامل و سالم خارج نشده بود یا گرافی معتبری نداشتند از مطالعه خارج شدند.

در ابتدا کلیه بیماران مراجعه کننده به کلینیک‌های دندان‌پزشکی سطح شهر و کلینیک جراحی دانشکده دندان‌پزشکی که جهت خارج کردن دندان عقل نهفته مراجعه کرده‌اند، مورد معاینه بالینی و رادیولوژیکی توسط همکار متخصص جراحی دهان، فک و صورت، قرار گرفتند.



شکل ۱. نمای رادیوگرافی دندان عقل نهفته با اندازه رادیولوژیکی کمتر از mm ۲/۵ (الف) و بیشتر از mm ۲/۵ (ب)

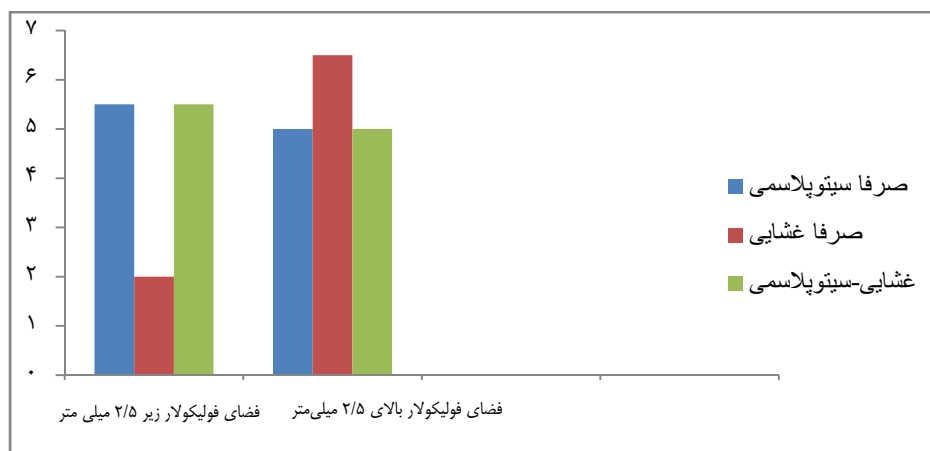
کروموزن به مدت ۱۰ دقیقه به کار برده شد. سپس رنگ‌آمیزی زمینه‌ای هماتوکسیلین مایر بر روی اسلایدها به کار رفته و بعد از دهیدراته کردن، لامل چسبانیده شد. تمامی اسلایدهای رنگ‌آمیزی شده توسط پاتولوژیست با میکروسکوپ نوری (Olympus, Japan)، با بزرگ‌نمایی $\times 100$ و $\times 400$ مشاهده شدند. برای هر لام درجه‌ای از شدت رنگ‌پذیری سلول‌های اپیتلیالی و درصد سلول‌های رنگ گرفته در اپیتلیوم پوشاننده فولیکول‌های دندان در نظر گرفته شد. سپس برای هر کدام از نمونه‌ها (Staining-intensity distribution (SID)، محاسبه شد.

در ارتباط با شدت رنگ‌پذیری (Intensity): در صورت عدم رنگ‌آمیزی عدد صفر، رنگ‌آمیزی ضعیف (قهوه‌ای کم رنگ) عدد ۱، رنگ‌آمیزی متوسط (قهوه‌ای) عدد ۲ و رنگ‌آمیزی شدید (قهوه‌ای تیره) عدد ۳، در نظر گرفته شد [۲۶].

در ارتباط با تعداد سلول‌های رنگ گرفته (Distribution): اگر تعداد سلول‌های رنگ گرفته کمتر از ۱ درصد کل سلول‌های اپیتلیالی بود، نمره ۱، بین ۱ تا ۱۰ درصد کل سلول‌های اپیتلیالی، نمره ۲، بین ۱۱ تا ۳۳ درصد کل سلول‌های اپیتلیالی، نمره ۳، بین ۳۴ تا ۶۶ درصد کل سلول‌های اپیتلیالی، نمره ۴ و اگر تعداد سلول‌های رنگ گرفته بین ۶۷ تا ۱۰۰ درصد کل سلول‌های اپیتلیالی بود، نمره ۵ در نظر گرفته شد [۲۶]. امتیاز رنگ‌آمیزی نهایی EGFR یا (SID) برای هر نمونه با ضرب کردن توزیع در شدت رنگ‌آمیزی آن نمونه به دست آمد (نمودار ۱).

و خصوصیات رادیولوژیکی فولیکول، تاریخ جراحی و سایر موارد مهم در جدول مخصوص ثبت شد و یک کد برای آن اختصاص یافت. نمونه فولیکول در داخل فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و با کد مربوطه به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال گردید.

پس از تهیه بلوک‌های مورد آزمایش و بررسی اولیه اسلایدهای هماتوکسیلین اتوزین، رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی برای نشانگر EGFR به طریق زیر انجام گرفت: از هر نمونه یک برش ۴ میکرونی تهیه گردید. برش‌های مذکور به منظور پارافین‌زدایی، ۲۴-۱۸ ساعت در فور 37°C و سپس ۲۰ دقیقه در فور با دمای 80°C قرار گرفتند. سپس برش‌ها به منظور آب‌گیری به ترتیب داخل ۲ ظرف الکل ۱۰۰ درصد، ۱ ظرف الکل ۹۶ درصد، ۱ ظرف الکل ۸۰ درصد و ۱ ظرف الکل ۷۰ درصد به مدت ۲-۳ دقیقه قرار داده شدند. برش‌ها پس از پارافین‌زدایی و آب‌گیری به مدت ۱۵ دقیقه با محلول Citrate/HCL buffered 10 mmol در اتوکلاو انکوبه شدند تا بازیابی آنتی‌ژن صورت گیرد. این برش‌ها با استفاده از کمپلکس استرپتوآویدین-بیوتین رنگ‌آمیزی شدند. سپس در Tris buffered saline (TBS) غوطه‌ور شد، در مرحله بعد به مدت ۱۵ دقیقه با آنتی‌بادی EGFR در درجه حرارت محیط انکوبه شدند. بعد از آن با TBS شسته شد، با بیوتین به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شدند. نمونه‌ها بار دیگر در TBS شسته شده، سپس استرپتوآویدین به مدت ۱۵ دقیقه روی لام‌ها قرار گرفت. بعد از شستشوی مجدد در TBS (3, 3) به عنوان DAB (Diaminobenzidine hydrochloride) به عنوان



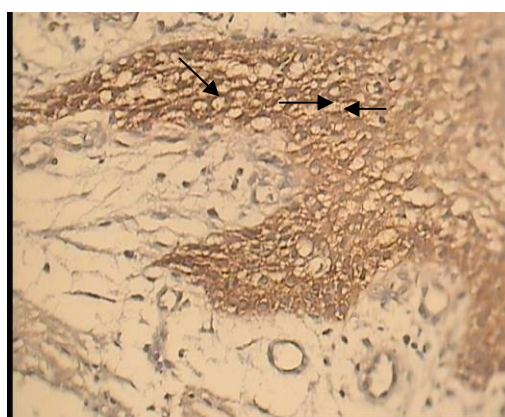
نمودار ۱. مقایسه شاخص SID در نمونه‌های فولیکول‌های دندان در دو گروه با اندازه کمتر و بیشتر از ۲/۵ mm به تفکیک الگوی رنگ‌پذیری بر اساس نشانگر EGFR (Epidermal growth factor receptor)

یافته‌ها

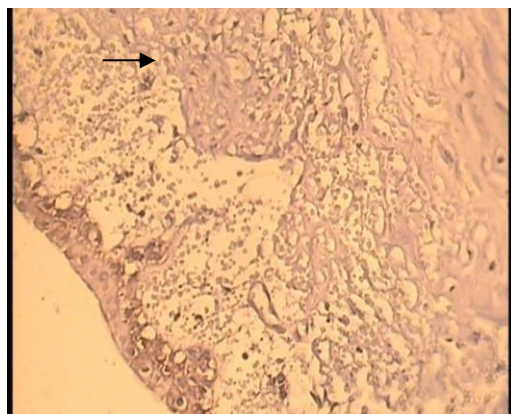
SID نمونه‌های فولیکول‌های دندانی با فضای فولیکولار بالای ۲/۵ mm و زیر ۲/۵ mm، به تفکیک الگوی رنگ‌پذیری: صرفاً غشایی (شکل ۲)، صرفاً سیتوپلاسمی (شکل ۳) یا غشایی-سیتوپلاسمی (شکل ۴)، برای بررسی رابطه بروز نشانگر با اندازه فولیکول‌های دندانی، نمونه‌ها در دو گروه جداگانه طبقه‌بندی شدند. داده‌های مطالعه پس از جمع‌آوری توسط نرم‌افزار آماری SPSS با آزمون Mann-Whitney و Logistic regression مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

طبق بررسی‌های آماری انجام گرفته با استفاده از آزمون Mann-Whitney، تفاوت بین دو گروه فولیکول‌های زیر ۲/۵ mm و بالای ۲/۵ mm از نظر بروز EGFR در الگوی غشایی معنی‌دار بود ($p \text{ value} < 0/001$)؛ اما در الگوی سیتوپلاسمی ($p \text{ value} = 0/13$) و الگوی غشایی-سیتوپلاسمی ($p \text{ value} = 0/13$)، معنی‌دار نبود.

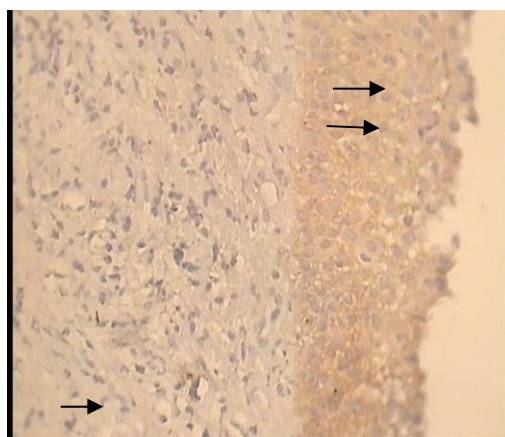
این مطلب نشان می‌دهد که هرچه اندازه فولیکول‌های دندانی بیشتر شود احتمال بروز نشانگر EGFR در غشای سلول‌های اپی‌تلیوم بیشتر می‌شود و در فولیکول‌های با اندازه کوچک‌تر بروز EGFR در غشا سلول‌های اپی‌تلیال کمتر است.



شکل ۲. تصویر میکروسکوپی رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی نشانگر EGFR (Epidermal growth factor receptor) با الگوی صرفاً غشایی در نمونه فولیکول دندان عقل نهفته (شدت ۳-۴۰۰×)



شکل ۴. تصویر میکروسکوپی رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی نشانگر EGFR (Epidermal growth factor receptor) با الگوی سیتوپلاسمی-غشایی در نمونه فولیکول دندان عقل نهفته (شدت ۳-۴۰۰×)



شکل ۳. تصویر میکروسکوپی رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمیایی نشانگر EGFR (Epidermal growth factor receptor) با الگوی سیتوپلاسمی در نمونه فولیکول دندان عقل نهفته (شدت ۳-۴۰۰×)

محدوده سنی نمونه‌ها از ۱۵ تا ۳۳ سال با میانگین ۲۱/۸ و انحراف معیار ۳/۶ بود. از کل ۴۰ نمونه ۳۱ نمونه مربوط به زنان و ۹ نمونه مربوط به مردان بود.

بررسی یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که در سنین پایین‌تر الگوی توزیع نشانگر EGFR بیشتر به صورت الگوی غشایی-سیتوپلاسمی است، که نشان دهنده تکثیر نرمال اپی‌تلیوم جدار فولیکول است و در سنین بالاتر بیشتر الگوی صرفاً غشایی است که نشان دهنده پتانسیل تبدیل به کیست و تومور است؛ اما این رابطه معنی‌دار نبود ($p \text{ value} = 0/076$).

در بررسی مقایسه توزیع فراوانی و شدت رنگ‌پذیری سلول‌ها در نمونه‌های فولیکول‌های دندانی در دو جنس زن و مرد، هیچ

فقدان رادیولوسنسی غیر طبیعی به معنای فولیکول سالم و بدون تغییرات پاتولوژیک است، در حالی که یافته‌های این مطالعه و برخی مطالعات دیگر با این باور همخوانی ندارد [۲۸، ۱۰، ۷، ۶]. چنین باوری در عموم دندان‌پزشکان می‌تواند منتهی به تشخیص نادرست و به دنبال آن درمان نادرست برای بیمار گردد.

طبق نظریه Wood و Goaz [۲۱]، در ۸۰ درصد مواردی که فضای پری کروئال فولیکول دندان‌های عرضی معادل ۲/۵ میلی‌متر در رادیوگرافی دارد، فولیکول نرمال نبوده و همراه ضایعه می‌باشد. Glosser و Campbell [۷] در مطالعه‌ای در آمریکا که به بررسی تغییرات پاتولوژیک در بافت نرم اطراف دندان عقل نهفته پرداختند، فضای فولیکولار زیر ۲/۴ mm را به عنوان دندان نهفته نرمال از نظر رادیوگرافی در نظر گرفتند در حالی که در بررسی هیستوپاتولوژی آن‌ها مشخص گردید که یک سوم دندان‌های عقل نهفته‌ای که از نظر رادیوگرافی نرمال بودند، دچار تغییرات کیستیک بودند. در مطالعه حاضر نیز، میزان بروز EGFR با الگوی صرفاً غشایی در فولیکول‌های دندان عقل نهفته با رادیولوسنسی بالای ۲/۵ mm بیشتر مشاهده گردید و در فولیکول‌های با رادیولوسنسی زیر ۲/۵ mm الگوی صرفاً غشایی بسیار کمتر مشاهده شد. به نظر می‌رسد نمونه‌های با فضای فولیکولار بالای ۲/۵ mm دچار تغییرات پاتولوژیک بیشتری می‌شوند.

این درحالی است که مسگرزاده و همکاران [۱۸] در مطالعه‌ای در تبریز، فضای فولیکولار زیر ۳ mm را نرمال در نظر گرفتند که از بین این نمونه‌ها، بیش از نیمی از آن‌ها تغییرات پاتولوژیک را نشان دادند. Adelsperger و همکاران [۶] که به بررسی تغییرات پاتولوژیک در بافت نرم اطراف دندان‌های عقل فاقد رادیولوسنسی، پرداختند، بیان داشتند علایم رادیوگرافی نمی‌تواند به عنوان یک نشانگر مورد اطمینان از نبود ضایعه در فولیکول دندان‌ها باشد. آن‌ها معتقد هستند شیوع ضایعات پاتولوژیک بیشتر از آن چیزی است که در ضایعات دارای نمای رادیولوژیک دیده می‌شود.

در مطالعه‌ای دیگر Kotrashetti و همکاران [۲۹] به بررسی ۴۱ نمونه فولیکول دندان عقل نهفته بدون علامت پرداختند، ۵۸/۵ درصد از دندان‌های عقل نهفته بدون علامت و نرمال، تغییرات واضح پاتولوژیک نشان دادند. آن‌ها پیشنهاد می‌کنند که

اختلاف معنی‌داری بین دو جنس از نظر بروز نشانگر EGFR وجود نداشت.

با توجه به آزمون Logistic regression به جز الگوی رنگ‌پذیری صرفاً غشایی، سایر متغیرها مانند سن و جنس با اندازه فولیکول رابطه معنی‌داری نشان ندادند.

بحث

خارج کردن دندان عقل نهفته یکی از فراوان‌ترین عمل‌های جراحی است که در جراحی‌های دهان صورت می‌گیرد [۵]. اگرچه اندیکاسیون خارج کردن دندان عقل نهفته برای اهداف درمانی وجود دارد، هنوز توافق عمومی درباره ضرورت خارج کردن دندان عقل بدون علامت وجود ندارد [۸-۶].

در مطالعه حاضر، در بررسی ۴۰ نمونه فولیکول دندان عقل نهفته (۲۰ فولیکول با رادیولوسنسی بالای ۲/۵ mm و ۲۰ فولیکول با رادیولوسنسی زیر ۲/۵ mm)، در فولیکول‌های با لوسنسی بالای ۲/۵ mm، تعداد و شدت سلول‌های رنگ گرفته با الگوی صرفاً غشایی بیشتر از فولیکول‌های با لوسنسی زیر ۲/۵ mm بود که نشان از واکنش سریع‌تر تکثیر سلولی در حضور لیگاند مربوطه است.

طبق تحقیقات Damjanov و همکاران [۲۷]، الگوی توزیع نشانگر EGFR ممکن است به عنوان نشانگری از درجات مختلف پاسخ‌دهی سلول به محرک‌های رشد و تکثیر باشد. Da Silva و همکاران [۲۵] نیز که به بررسی توزیع نشانگر EGFR در فولیکول دندان‌های عقل نهفته پرداختند، بیان کردند که بروز EGFR هم در غشاء و هم در سیتوپلاسم، یا سیتوپلاسم به تنهایی به عنوان تکثیر سلولی نرمال محسوب می‌شود. در مطالعه حاضر نیز بروز EGFR با الگوی سیتوپلاسمی یا سیتوپلاسمی-غشایی با هم، در فولیکول‌هایی با رادیولوسنسی زیر ۲/۵ mm بیشتر مشاهده گردید. این در حالی است که در همان مطالعه Da Silva و همکاران [۲۵] در بررسی نمونه‌های سرطان سلول سنگفرشی با نشانگر EGFR، تمام نمونه‌ها فقط با الگوی غشایی رنگ گرفته بودند. یعنی بروز محدود به غشاء EGFR می‌تواند نشانگری از افزایش پتانسیل توده‌های اپی‌تلالی برای تبدیل شدن به ضایعات تومورال و کیستیک باشد. متأسفانه در عموم جامعه دندان‌پزشکی باور این‌گونه است که

Campbell [۷] نیز این یافته را تأیید کردند؛ اما این یافته برخلاف مطالعات دیگر [۲۸، ۱۸] است که این‌گونه مشاهده کردند که تغییرات پاتولوژیک در مردان بیشتر از زنان است و هیچ کدام دلیل علمی مشخصی نیز بیان نکردند. Daley و Wysocki [۴۰] نیز که به نتیجه مشابهی رسیدند علت آن را تمایل بیشتر به خارج کردن دندان‌های نهفته در زنان به علت کوچکی سایز فک می‌دانند. با این حال در مطالعه حاضر نشان داده شد که متغیرهایی همچون سن و جنس با اندازه فولیکول رابطه معنی‌داری نداشتند. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که متغیرهای سن و جنس نمی‌توانند در پیش‌گویی تغییرات پاتولوژیک دندان‌های نهفته با رادیولوسنسی زیر ۲/۵ mm نسبت به بالای ۲/۵ mm نقش داشته باشند.

تحقیقات زیادی بیان می‌کنند که فولیکول‌های اطراف دندان عقل نهفته پتانسیل تبدیل به کیست یا تومور را دارند [۴۲، ۴۱، ۶، ۱] اما بسیاری از این تغییرات در معاینات بالینی و رادیوگرافی قابل تشخیص نیستند اما ممکن است در بررسی میکروسکوپی تشخیص داده شوند [۷]. یکی از مشکلات مطالعه حاضر ناکافی بودن اپی‌تلیوم در برش‌های تهیه و رنگ‌آمیزی شده می‌باشد که تا قبل از آماده‌سازی کامل نمونه، پیش‌بینی آن امکان‌پذیر نبود.

نتیجه‌گیری

به طور کلی بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان گفت قضاوت بالینی که صرفاً بر نمای رادیوگرافی متکی باشد، ممکن است کاملاً فریبنده باشد. بنابراین، پیشنهاد می‌شود تمامی دندان‌های عقل نهفته که دارای رادیولوسنسی بالای ۲/۵ mm هستند در اولین فرصت خارج شوند. در خصوص دندان‌های عقل نهفته‌ای که رادیولوسنسی زیر ۲/۵ mm دارند، اگرچه این مطالعه به خارج ساختن آن‌ها نیز تأکید دارد اما در صورت فراهم نبودن شرایط یا عدم آمادگی بیمار می‌توان به پی‌گیری (Follow up) بیمار و معاینات دوره‌ای هر سه ماه یک مرتبه اکتفا نمود و در صورت افزایش اندازه رادیولوسنسی یا بروز علائم دیگر، به منظور اجتناب از بروز عوارض احتمالی همچون ضایعات کیستیک یا نئوپلاستیک، اقدام به خارج ساختن دندان عقل نمود.

در همه دندان‌های عقل نهفته علاوه بر معاینات بالینی و رادیوگرافی بررسی هیستوپاتولوژی نیز انجام شود. خراسانی و سمیع‌زاده [۳۰] در مطالعه خود بیان کردند که التهاب مزمن در ۴۴ درصد نمونه‌ها که همه دارای سایز فولیکول کمتر از ۲ mm بودند یافت شد.

اگرچه درگیری پاتولوژیک مرتبط با دندان عقل نهفته اندیکاسیون واضح و روشنی برای خارج کردن دندان نهفته است، خارج کردن پیش‌گیرانه دندان بدون علامت هنوز مورد توافق همه نیست. بعضی محققان خارج کردن پیش‌گیرانه را برای جلوگیری از دشواری‌ها و عوارض بعدی پیشنهاد می‌کنند [۳۱-۳۵]. این درحالی است که محققین دیگر اعتبار این فرضیه را زیر سؤال برده‌اند و اعتقاد دارند که این جراحی‌ها همیشه لازم و ضروری نیست [۳۸-۳۶، ۱۵، ۱۳].

با توجه به مشاهده میزان بالای بیان نشانگر EGFR الگوی صرفاً غشایی در فولیکول‌های دندان عقل نهفته با رادیولوسنسی بالای ۲/۵ mm و در نتیجه افزایش پاسخ‌دهی سلول به محرک‌های رشد و تکثیر، می‌توان این‌گونه پیشنهاد کرد که تمامی دندان‌های عقل نهفته که دارای رادیولوسنسی بالای ۲/۵ mm هستند در اولین فرصت خارج شوند.

Precious و Mercier [۳۸] پیشنهاد می‌کنند که قبل از تصمیم‌گیری درباره دندان عقل نهفته سود و زیان خارج کردن و باقی گذاشتن دندان باید مرور شود و اندیکاسیون‌ها و کنترااندیکاسیون‌های خارج کردن دندان نهفته مورد بازبینی قرار گیرد. در بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک فولیکول دندان‌های عقل نهفته توسط ثقفی و همکاران [۳۹] در مشهد ۶۱ درصد نمونه‌ها فولیکول دندان‌های تغییر نیافته، ۱۲/۹ درصد کیست ادونتوژیک و ۲۴ درصد موارد دارای التهاب بودند. آن‌ها هم به همین نتیجه رسیدند که با توجه به میزان کم تغییرات پاتولوژیک در فولیکول دندان‌های نهفته بهتر است دندان‌ها تا زمان عدم وجود یک یا چند اندیکاسیون واضح خارج نشوند و فقط توسط معاینات کلینیکی و رادیوگرافی ۶ تا ۱۲ ماهه تحت کنترل قرار گیرند.

در مورد تفاوت بین زن و مرد، در مطالعه حاضر، هیچ اختلافی از لحاظ بروز نشانگر EGFR در دو جنس مشاهده نشد، که در مطالعه Adelsperger و همکاران [۶] و Glosser و

References

1. Kim J, Ellis GL. Dental follicular tissue: misinterpretation as odontogenic tumors. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51(7): 762-7.
2. Yamasaki A, Pinero GJ. An ultrastructural study of human epithelial rests of Malassez maintained in a differentiated state in vitro. *Arch Oral Biol* 1989; 34(6): 443-51.
3. Nickolaychuk B, McNicol A, Gilchrist J, Birek C. Evidence for a role of mitogen-activated protein kinases in proliferating and differentiating odontogenic epithelia of inflammatory and developmental cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93(6): 720-9.
4. Aitasalo K, Lehtinen R, Oksala E. An orthopantomographic study of prevalence of impacted teeth. *Int J Oral Surg* 1972; 1(3): 117-20.
5. Adeyemo WL. Do pathologies associated with impacted lower third molars justify prophylactic removal? A critical review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102(4): 448-52.
6. Adelsperger J, Campbell JH, Coates DB, Summerlin DJ, Tomich CE. Early soft tissue pathosis associated with impacted third molars without pericoronal radiolucency. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000; 89(4): 402-6.
7. Glosser JW, Campbell JH. Pathologic change in soft tissues associated with radiographically 'normal' third molar impactions. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1999; 37(4): 259-60.
8. Guven O, Keskin A, Akal UK. The incidence of cysts and tumors around impacted third molars. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2000; 29(2): 131-5.
9. Cabbar F, Guler N, Comunoglu N, Sencift K, Cologlu S. Determination of potential cellular proliferation in the odontogenic epithelia of the dental follicle of the asymptomatic impacted third molars. *J Oral Maxillofac Surg* 2008; 66(10): 2004-11.
10. Rakprasitkul S. Pathologic changes in the pericoronal tissues of unerupted third molars. *Quintessence Int* 2001; 32(8): 633-8.
11. Tulloch JF, Antczak-Bouckoms AA, Ung N. Evaluation of the costs and relative effectiveness of alternative strategies for the removal of mandibular third molars. *Int J Technol Assess Health Care* 1990; 6(4): 505-15.
12. Stanley HR, Alattar M, Collett WK, Stringfellow HR, Jr., Spiegel EH. Pathological sequelae of "neglected" impacted third molars. *J Oral Pathol* 1988; 17(3): 113-7.
13. Stephens RG, Kogon SL, Reid JA. The unerupted or impacted third molar-a critical appraisal of its pathologic potential. *J Can Dent Assoc* 1989; 55(3): 201-7.
14. Friedman JW. The case for preservation of third molars. *CDA J* 1977; 5(2): 50-6.
15. Brooks SL, Woolfolk C. Prognosis of third molar impactions, a longitudinal study. *J of Dent Research* 1996; 75: 333.
16. Dachi SF, Howell FV. A survey of 3,874 routine full-mouth radiographs. I. A study of retained roots and teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1961; 14: 916-24.
17. Moreira DE, del Valle RM, Rodriguez Alonso LR. Correlation between radiographic image and histological aspects of the pericoronal sack of retained third molars. *Rev Cubana Estomatol* 1977; 14(3): 137-44.
18. Mesgarzadeh AH, Esmailzadeh H, Abdolrahimi M, Shahamfar M. Pathosis associated with radiographically normal follicular tissues in third molar impactions: a clinicopathological study. *Indian J Dent Res* 2008; 19(3): 208-12.
19. White SC, Pharoah MJ. Bibliographic information. Philadelphia: Mosby p. 388-90; 2004.
20. Eliasson S, Heimdahl A, Nordenram A. Pathological changes related to long-term impaction of third molars. A radiographic study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1989; 18(4): 210-2.
21. Wood NK, Goaz PW. Differential diagnosis of oral and maxillofacial lesions. Philadelphia: Mosby; 1997. p. 282-3.
22. Baselga J, O'Dwyer PJ, Thor AD, Vokes EE, Weiner LM. Epidermal growth factor receptor: potential target for antitumor agents. Dallas: The Center for Biomedical Continuing Education; 2000. p. 1-24.
23. Tanikawa Y, Bawden JW. The immunohistochemical localization of phospholipase Cgamma and the epidermal growth-factor, platelet-derived growth-factor and fibroblast growth-factor receptors in the cells of the rat molar enamel organ during early amelogenesis. *Arch Oral Biol* 1999; 44(9): 771-80.
24. Heikinheimo K, Voutilainen R, Happonen RP, Miettinen PJ. EGF receptor and its ligands, EGF and TGF-alpha, in developing and neoplastic human odontogenic tissues. *Int J Dev Biol* 1993; 37(3): 387-96.
25. Da Silva BC, Da SL, Filho MS, De quadros OF. Epidermal growth factor receptor distribution in pericoronal follicles: relationship with the origin of odontogenic cysts and tumors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103(2): 240-5.
26. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984; 133(4): 1710-5.

27. Damjanov I, Mildner B, Knowles BB. Immunohistochemical localization of the epidermal growth factor receptor in normal human tissues. *Lab Invest* 1986; 55(5): 588-92.
28. Baykul T, Saglam AA, Aydin U, Basak K. Incidence of cystic changes in radiographically normal impacted lower third molar follicles. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99(5): 542-5.
29. Kotrashetti VS, Kale AD, Bhalaerao SS, Hallikeremath SR. Histopathologic changes in soft tissue associated with radiographically normal impacted third molars. *Indian J Dent Res* 2010; 21(3): 385-90.
30. Khorasani M, Samiezadeh F. Histopathologic evaluation of follicular tissues associated with impacted third molars. *J Dent Med Tehran Univ Med Sci* 2008; 5(2):65-70.
31. Knutsson K, Brehmer B, Lysell L, Rohlin M. Asymptomatic mandibular third molars: oral surgeons' judgment of the need for extraction. *J Oral Maxillofac Surg* 1992; 50(4): 329-33.
32. Lysell L, Brehmer B, Knutsson K, Rohlin M. Judgement on removal of asymptomatic mandibular third molars: influence of the perceived likelihood of pathology. *Dentomaxillofac Radiol* 1993; 22(4): 173-7.
33. Fielding AF, Douglass AF, Whitley RD. Reasons for early removal of impacted third molars. *Clin Prev Dent* 1981; 3(6): 19-23.
34. Hinds EC, Frey KF. Hazards of retained third molars in older persons: report of 15 cases. *J Am Dent Assoc* 1980; 101(2): 246-50.
35. Ahlqwist M, Grondahl HG. Prevalence of impacted teeth and associated pathology in middle-aged and older Swedish women. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991; 19(2): 116-9.
36. Shear M. The aggressive nature of the odontogenic keratocyst: is it a benign cystic neoplasm? Part 3. Immunocytochemistry of cytokeratin and other epithelial cell markers. *Oral Oncol* 2002; 38(5): 407-15.
37. Lazare M. Wisdom teeth--to extract or not to extract? *J Can Dent Assoc* 1984; 50(3): 195.
38. Mercier P, Precious D. Risks and benefits of removal of impacted third molars. A critical review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1992; 21(1): 17-27.
39. Saghafi SH, Haraji A, Zare Mahmoodabadi R, Farzanegan F. Evaluation of histopathologic changes in impacted third molar follicles in Mashhad dental school in 2005. *J Mashhad Dent Sch* 2007; 31(3): 171-6. [In Persian].
40. Daley TD, Wysocki GP. The small dentigerous cyst. A diagnostic dilemma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 79(1): 77-81.
41. Daley TD, Wysocki GP. Peripheral odontogenic fibroma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 78(3): 329-36.
42. Curran AE, Damm DD, Drummond JF. Pathologically significant pericoronal lesions in adults: Histopathologic evaluation. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60(6): 613-7.

Immunohistochemical study of correlation between histologic changes and radiologic features in pericoronal tissues of impacted wisdom teeth

Sayed Mohammad Razavi, Sara Siadat, Mozhdeh Mehdizadeh,
Bijan Movahedian, Daryoosh Hasheminia*

Abstract

Introduction: *Third molars have the greatest incidence of impaction. There is no general agreement on the removal of asymptomatic impacted third molars. EGFR might be an indicator of increased potential for tumoral and cystic changes. The aim of this study was to investigate the expression of EGFR marker in the follicles of impacted wisdom teeth and its relation to radiologic features.*

Materials and Methods: *In this cross-sectional/analytical research, 40 samples of wisdom tooth follicles, embedded in paraffin blocks, were studied. After preparing the specimens and primary observation of H&E slides, immunohistochemical technique was used for expression of EGFR marker. EGFR staining pattern (membrane only, cytoplasm only or combined cytoplasm and membrane staining) was evaluated in the odontogenic epithelium of follicles. Data were analyzed with Mann-Whitney and logistic regression tests using the SPSS software ($\alpha = 0.05$).*

Results: *Expression of EGFR marker with membrane-only staining pattern in follicles with radiolucencies > 2.5 mm was significantly higher than follicles with radiolucencies < 2.5 mm. (p value < 0.001). However, no significant differences were detected between the two groups in cytoplasm-only pattern (p value = 0.13) and combined cytoplasmic and membrane pattern (p value = 0.13).*

Conclusion: *The number and intensity of stained cells in membrane-only pattern were higher in follicles with radiolucencies > 2.5 mm compared to follicles with radiolucencies < 2.5 mm, indicating faster cell proliferation. Therefore, it is suggested that third molars with radiolucencies > 2.5 mm be removed as soon as possible. However, the absence of abnormal radiolucency does not indicate healthy follicles without pathologic changes.*

Key words: *Human EGFR protein, Immunohistochemistry, Impacted tooth.*

Received: 27 Mar, 2012

Accepted: 8 May, 2012

Address: Assistant Professor, Torabinejad Dental Research Center, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

Email: d_hasheminia@dnt.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Dental School 2012; 8 (2): 162-171.