

ODONTOJENİK KİST VE TÜMÖRLERDE EPİTEL-BAĞ DOKU İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ*

EVALUATION OF EPITHELIAL-MESENCHYMAL INTERACTION IN ODONTOGENIC CYSTS AND TUMORS

Emre BARIŞ¹

Tülin OYGÜR²

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda odontojenik lezyonlarda epitel ile bazal membran ilişkisi incelenmiştir. Lezyonel epitel ile bağ dokusunun nasıl bir etkileşim içinde olduğu anlaşılmaya çalışılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Oral Patoloji Bilim Dalı arşivinde yer alan odontojenik epitelyal lezyonlara ait 81 vaka üzerinde yürütüldü. Bu lezyonlara ait kesitler PCNA, laminin ve integrin antikorlarıyla immünohistokimya yöntemiyle boyandı. Ayrıca çalışmada geçirici elektron mikroskopta incelenecek olan vakalar, Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Kliniği'nden elde edilen taze ameliyat materyallerinin örneklenmesi ile elde edildi.

Bulgular: Elektron mikroskopik değerlendirmede tüm vakalarda sağlam BM yapısı görüldü. Proliferatif indeksi en yüksek vakaların ameloblastoma, adenomatoid odontojenik tümör ve odontojenik keratokist olduğu görülmüş, tüm vakalarda BM boyunca laminin pozitifliğinin bulunduğu saptanmıştır. Adenomatoid odontojenik tümör dışındaki tüm vakalarda bazal tabaka hücrelerinde integrin pozitifliği mevcuttur.

Sonuç: Bu bulgular ışığında laminin ve integrinin odontojenik lezyonlardaki epitel-bağ doku ilişkisinde kendilerine özgü görevleri olan moleküller olduğu yorumuna ulaşıldı. Yanı sıra, bazal membranın odontojenik epitelden köken alan tüm lezyonların gelişiminde olmazsa olmaz yapı olduğu, odontojenik lezyonların gelişimi ve epitel dokunun organizasyonu açısından bazal membranın birincil rolü oynadığı düşüncesine ulaşıldı.

Anahtar Kelimeler: Odontojenik lezyonlar, proliferatif indeks, adezyon molekülleri, bazal membran

SUMMARY

Objective: In this study the interaction between the epithelium and adjacent basement membrane in odontogenic lesions were investigated. Our goal was to understand that the epithelium how to interact with lesionel connective tissue.

Material and Method: This study included 81 odontogenic lesions archived in Gazi University Faculty of Dentistry Department of Oral Pathology. Histological slides were stained with PCNA, laminin and integrin antibody by immunohistochemistry. Fresh tissues of odontogenic lesions, supplied by the Gazi University Department of Oral and Maxillofacial Surgery, were evaluated on transmission electron microscope (TEM).

Results: TEM showed an intact BM in all lesions. Ameloblastoma, adenomatoid odontogenic tumor and odontogenic keratocyst had the most pronounced proliferative epithelium. The BM showed continuous laminin expresion in all lesions. Except adenomatoid odontogenic tumor all cases showed positive reactivity for integrin on the basal cell layer.

Conclusion: It can be suggested that laminin and integrin are the effector molecules for epithelial connective tissue interaction. It can also be hypothesized that basement membrane plays a crucial role for epithelial organisation and development of all lesions which originated from odontogenic epithelium.

Key Words: Odontogenic lesions, proliferative index, adhesion molecules, basement membrane

Makale Gönderiliş Tarihi : 26.10.2009

Yayına Kabul Tarihi : 11.01.2010

*Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 03/ 2003-09 proje numarası ile desteklenmiştir

¹Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Oral Patoloji Bilim Dalı, Dr.

²Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Oral Patoloji Bilim Dalı, Prof. Dr.

GİRİŞ

Odontojenik lezyonlar odontogenezin gerçekleşmesinde rol almış epitelyal ve mezenşimal dokuların odontogenez sonrasında geriye kalan artıklarından veya indirgenmiş formlarından köken alırlar. Bu lezyonların, “odontogenez gerçekleştirilen dokulardan arta kalan indirgenmiş dokular” olarak tanımlanabilecek ortak histogeneze sahip oldukları halde, birbirinden farklı kliniko-patolojik özellikler göstermeleri ilginçtir ve sürekli araştırma konusudur. Odontojenik kist ve tümörlerin büyük kısmının etyolojisi bilinmemekte, gelişim mekanizmaları ise yaygın şekilde araştırılmaktadır.

Normal veya lezyonal epitel doku daima bazal membranla ilişkilidir. Bazal membran (BM), hem epitel hem de bağ doku tarafından üretilen bir ekstrasellüler matriks yapısı olup, epitel ile bağ dokuyu ayıran mekanik bariyerdir. Ancak bu fonksiyonunun dışında BM, hücre proliferasyonu, diferansiyasyon, adezyon, migrasyon gibi önemli hücresel olaylarda etkin rol alır¹⁴. Epitelyal bir dokunun gelişimi, BM'nin aktif düzenleyici olduğu epitelyo-mezenşimal ilişkilere dayalıdır⁷. Bu araştırma ise epitelyal odontojenik kist ve tümörlerin oluşumunda BM'in etkisini incelemek amacıyla yapılmıştır. Bunun için BM'in temel yapılarından laminin ve integrinin lezyonel dokularda nasıl ve ne kadar eksprese olduğuna bakılmıştır.

Laminin BM'in yapısında en fazla yer alan glikoproteindir. Bazal membran topluluğuna katkıda bulunan ve supramoleküler yapının oluşmasını sağlayan ana yapıdır²⁶. Laminin'lerin organizmanın gelişimine ve biyolojik durumuna bağlı olarak, BM yapısında yer almak, gelişim süresince hücresel çeşitliliği ve hücre göçünü sağlamak, hücre ataçmanı ve dizilimini sağlamak, yara iyileşmesi, invazyon ve metastaz olayları, otoimmün hastalıklarda doku hasarı, hormonal etkileşimler, bakteriyel tutunma ile anti-bakteriyel ve anti-tümör etkiler gibi yapısal ve fonksiyonel görevleri vardır⁴.

İntegrinler ise hücre-ECM ve hücre-hücre bağlantısında önemli yeri olan geniş bir glikoprotein ailesidir. Hemen hemen tüm hücrelerde bulunurlar, hücrelerin ECM proteinleriyle ya da hücreler karşı reseptörlerle (immünglobülin süperalesi gibi) adezyonuna aracılık eder. Diğer yandan epitelin prolifere-

rasyon kapasitesinin farklı tümör tiplerinin biyolojik davranışlarını tahmin etmek açısından önemli bir belirteç olduğu¹² düşüncesinden hareketle, araştırmaya dahil edilen lezyonlarda proliferating cell nuclear antigen (PCNA)'e bakılarak epitelin proliferatif özelliği de değerlendirilmiştir. Lezyonlarda BM'in durumu elektron mikroskopta da incelenmiş ve moleküler bulgularla karşılaştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma 2000–2004 yılları arasında Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Oral Patoloji Bilim Dalı'nca tanıları konulmuş ve bilim dalı arşivinde yer alan odontojenik epitelyal lezyonlara ait 81 vaka üzerinde yürütüldü. Bu vakalardan 13 adedi radiküler kist (RK), 13'ü dentigeröz kist (DK), 15'i odontojenik keratokist (OKK), 13'ü ameloblastoma (ABL), 6'sı adenomatoid odontojenik tümör (AOT), 6'sı kalsifiye olan odontojenik kist (COC) ve 5'i lateral periodontal kist (LPK) idi. Çalışmaya ayrıca 10 dental follikül (DF) dahil edildi.

Çalışmada elektron mikroskopta incelenecek olan vakalar, Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Kliniği'nden elde edilen taze ameliyat materyallerinin örneklenmesi ile elde edildi. Materyallerin her biri, bir bölümü % 2'lik glutaraldehit içerisinde tespit edilirken, geri kalan kısmı ışık mikroskopunda histopatolojik tanıların konulması amacıyla % 10'luk tamponlanmış formol solüsyonu içine konuldu. Histopatolojik inceleme sonrasında yukarıda adı geçen lezyonların her birinden en az bir vaka olacak şekilde elde edilen taze doku materyalleri, elektron mikroskopik inceleme için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Elektron Mikroskopi Laboratuvarı'na gönderildi.

Parafin bloklardan alınan 5µm'lik kesitler deparafinizasyon ve dehidratasyon işlemlerinin ardından rutin Avidin-Biyotin Kompleks (ABC) metodu ile (UltraVision Detection System, Anti-Polyvalent, HRP/AEC Kit, Lab Vision Co., ABD) immünohistokimyasal olarak PCNA (PCNA rabbit monoclonal antibody, cat#RB-9055-R7, Labvision Co., ABD), laminin (Laminin B2 / γ1 Ab-2 mouse monoclonal antibody, cat#MS-1356-R7, Labvision Co, ABD) ve integrin [CD29 (Integrin β-1) Ab-3 mouse monoclonal antibody, cat#MS-1089-R7, Labvision Co., ABD)

primer antikorları ile boyandı. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak amacıyla tüm kesitler 10 dakika süre ile amino-etil karbazol solüsyonu(AEC, substate kit, Lot: 11067520, Zymed S, ABD) ile inkübe edildi.

Pozitif kontrol olarak PCNA ve integrin antikorları için tonsil dokusu, laminin antikorları için deri dokusu kullanıldı. Primer antikor uygulanması aşamasında PBS içinde bekletilen tonsil ve deri dokuları negatif kontrol olarak kabul edildi.

İmmünohistokimyasal Boyanmaların Değerlendirilmesi

PCNA antikorları ile boyanan kesitlerde kahverengi nükleer boyanma pozitif kabul edildi. Oküler grid yardımıyla x400 büyütmede, beş farklı mikroskop alanında en az 1000 hücre sayılarak PCNA pozitif hücreler ile boyanmayan hücreler kaydedildi. PCNA ile boyanma indeksi (BI), değerlendirilen her alanda pozitif hücrelerin sayısı / toplam hücre sayısı x 100 formülasyonu ile hesaplandı.

Laminin antikorları ile boyanan kesitlerde BM boyunca kahverengi boyanma, integrin antikorları ile boyanan örneklerde sitoplazmik kahverengi boyanma pozitif olarak kabul edildi. Değerlendirmede 100 bi-

rimlik (0,50 mm) oküler grid yardımıyla x200 büyütmede, tüm epitel boyunca boyanan ve boyanmayan BM alanları ölçüldü. Boyanmanın yoğunluğu ve boyanan alanlar Modolo ve arkadaşları¹⁸ ile Wahlgren ve arkadaşlarının²⁸ kullanmış oldukları skalaya benzer bir skala ile derecelendirildi.

İstatistiksel değerlendirmede immünohistokimyasal boyanmanın miktarı ve yoğunluğunun vakalara göre karşılaştırması t testi ile, PCNA-BI'in diğer antikorlarla olan ilişkisi Pearson korelasyon testi kullanılarak değerlendirildi.

BULGULAR

PCNA

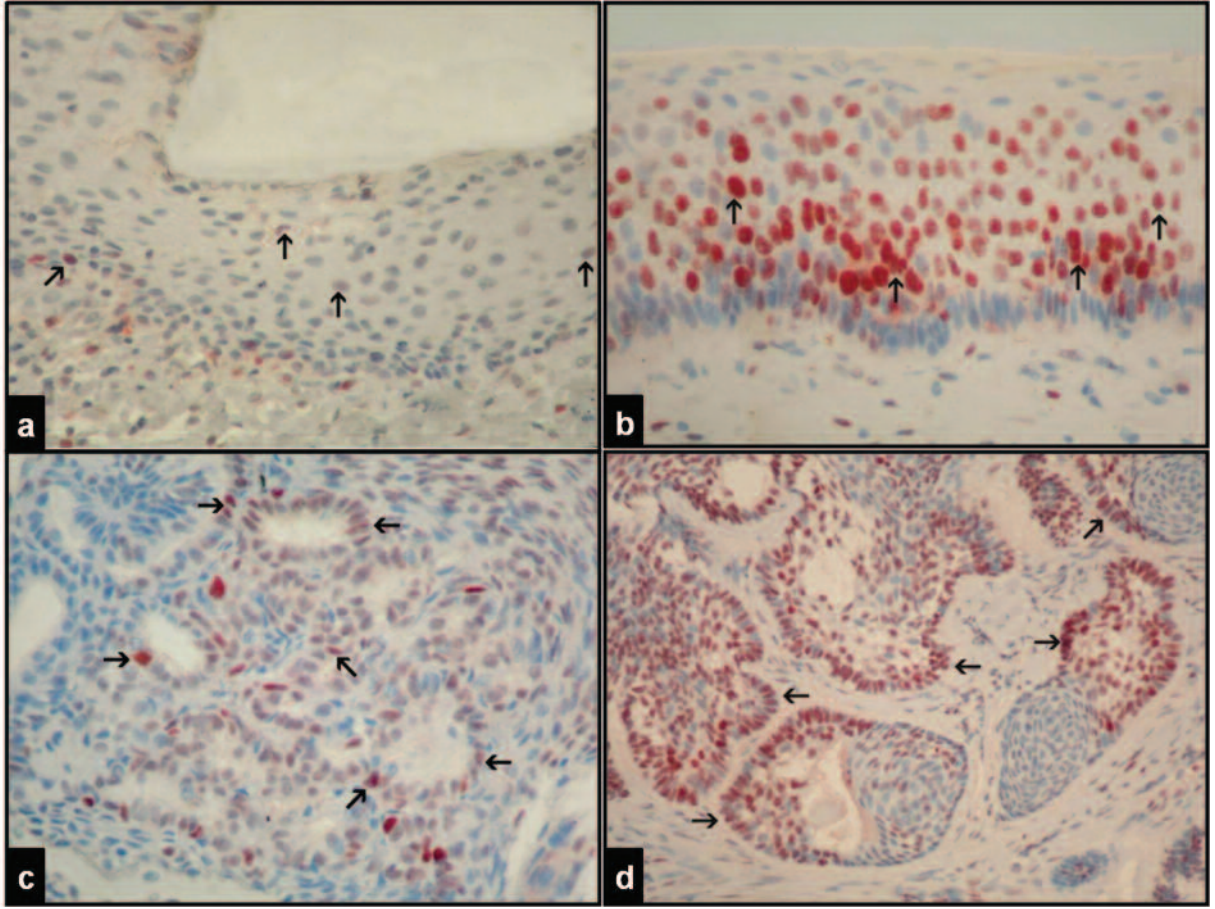
Çalışmada değerlendirilen vakaların boyanma indeksi (BI) ortalamaları Tablo I'de görülmektedir. BI'leri en yüksek olan vakalar ABL ile AOT iken, en düşük olan vakalar DF'ün yanı sıra RK, COC ve LPK'ti.

PCNA ile boyanan hücrelerin epitel doku içindeki lokalizasyonu farklılıklar göstermekteydi. RK ve COC'te suprabazal tabaka ve üzerinde boyanma olurken, bazal tabakada boyanan hücre sayısı oldukça azdı. LPK ve DF (Resim 1a) vakalarında boyanan hücreler bazal ve suprabazal tabaka hariç epitelin üst

Tablo I. Vakalara göre PCNA-BI inflamasyon ortalamaları ve antikorların lezyonal epiteldeki boyanma miktarları

	PCNA BI	LAMİNİN* (%)		İNTEGRİN* (%)	
		DEVAMLI	FOKAL	DEVAMLI	FOKAL
RK (n:13)	13,03 (± 8,85)	3,49	37,13	60,77	17,2
		Toplam: %40,62		Toplam: % 77,97	
DK (n:13)	21,67 (±16,09)	19,88	23,12	15,62	50,21
		Toplam: % 43,00		Toplam: % 65,83	
LPK (n:5)	14,39 (± 12,75)	40,97	15,53	25,63	32,53
		Toplam: % 56,50		Toplam: % 58,16	
COC (n:6)	16,34 (±13,73)	0	42,88	63,54	3,62
		Toplam: % 42,88		Toplam: % 67,16	
OKK (n:15)	31,08 (±12,03)	58,36	12,38	3,53	22,89
		Toplam: % 70,74		Toplam: % 26,42	
AOT (n:6)	51,57 (± 15,37)	0	4,6	0	0
		Toplam: % 4,6		Toplam: % 0	
Dental Follikül (n:10)	2,67 (± 2,36)	55,78	17,79	44	21,1
		Toplam: % 73,57		Toplam: % 65,10	
Folliküler ABL (n:7)	54,85 (±12,89)	0	51,63	0	89,25
		Toplam: % 51,63		Toplam: % 89,25	
Unikistik ABL (n:5)	53,99 (± 30,70)	17,01	16,89	84,2	1,22
		Toplam: % 33,90		Toplam: % 85,42	
Pleksiform ABL (n:1)	28,4	0	0	100	0

*: BM boyunca devamlı veya fokal boyanmayı ifade etmektedir



Resim 1: DF (a), OKK (b), AOT (c) ve Folliküler ABL'da (d) PCNA (+) hücreler (ok) (ABC a, b, c: x400, d: x200)

tabakalarında izlenirken, OKK vakalarında (Resim 1b) pozitif hücrelerin suprabazal tabakada bulunduğu, bazal tabakada ve daha üstteki hücre sıralarında yer almadığı görüldü. DK'te boyanma ağırlıklı epitelin bazal ve suprabazal tabakalarında görülse de bazı kesitlerde epitelin tüm tabakalarında boyanma izlendi.

AOT vakalarında (Resim 1c) tümörü oluşturan ve lobüler tarzda gelişim göstermiş hücrelerin periferinde yer alan genellikle kolumnar şekilli hücreler PCNA pozitifken, lobül merkezine doğru boyanan hücre sayısının azaldığı görüldü. Yanı sıra duktus benzeri yapıları çevreleyen (adeno benzeri yapıları döşeyen) hücrelerin de PCNA ile boyandığı izlendi.

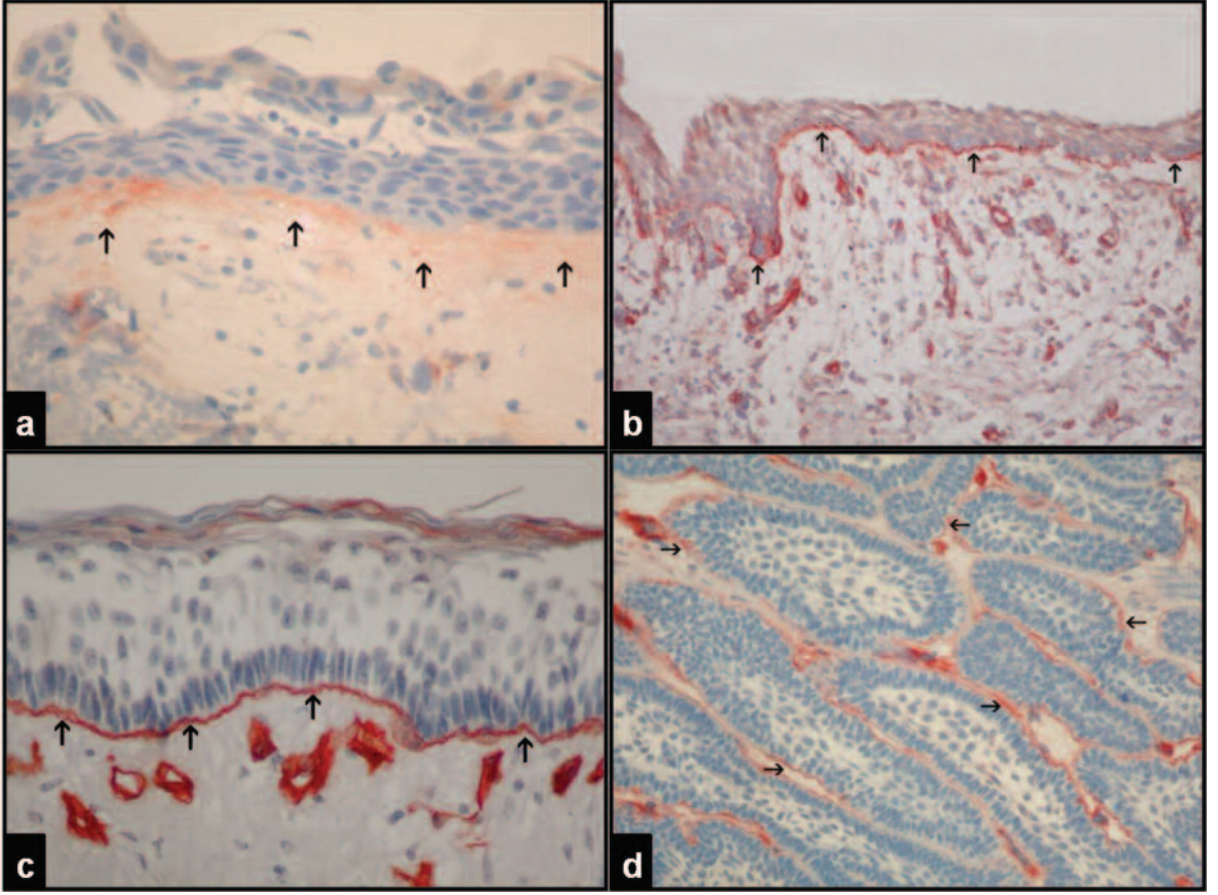
Unikistik ABL vakalarında bazal ve suprabazal tabakalarda boyanma görülürken, lümene doğru gildikçe tümör hücrelerinde pozitif hücre sayısının azaldığı izlendi. Folliküler ABL'da ise (Resim 1d)

folliküllerin periferinde yer alan hücreler ile bu hücrelere komşu olan hücre sırasında boyanma mevcutken, follikül merkezinde yıldızlı hücrelerde PCNA ile boyanma saptanmadı.

Çalışmadaki vakaların birbirleri arasında PCNA-BI ortalamaları açısından ilişkisi Resim 1'de görülmektedir. Buna göre RK ile OKK, AOT, DF ve ABL arasında, DK ile AOT, DF ve ABL arasında, LPK ile AOT ve ABL arasında, COC ile AOT ve ABL arasında, OKK ile RK, AOT, DF ve ABL arasında, AOT ile RK, DK, LPK, COC ve OKK arasında, DF ile RK, DK, AOT ve ABL arasında ve ABL ile RK, DK, LPK, COC, DF ve OKK arasında PCNA-BI yönünden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farklılıklar olduğu görüldü ($p < 0,05$).

LAMİNİN

Çalışmadaki vakaların laminin ile boyanma miktarı Tablo 1'de görülmektedir. Laminin antikoru ile,



Resim 2: RK'de (a), DF'de (b), OKK (c) ve Folliküler ABL'da (d) BM'da lineer tarzda laminin boyanması (ok) (ABC a,c: x400, b: x100, d: x200)

tüm vakalarda epitelyum altı BM'da lineer tarzda, yoğunlukları değişen fokal ya da devamlı boyanma görüldü. OKK, LPK ve DF vakalarında laminin boyanması daha çok tüm epitel boyunca devamlı tarzdayken RK ve COC vakalarında genellikle devamlılık göstermeyen fokal boyanma izlendi.

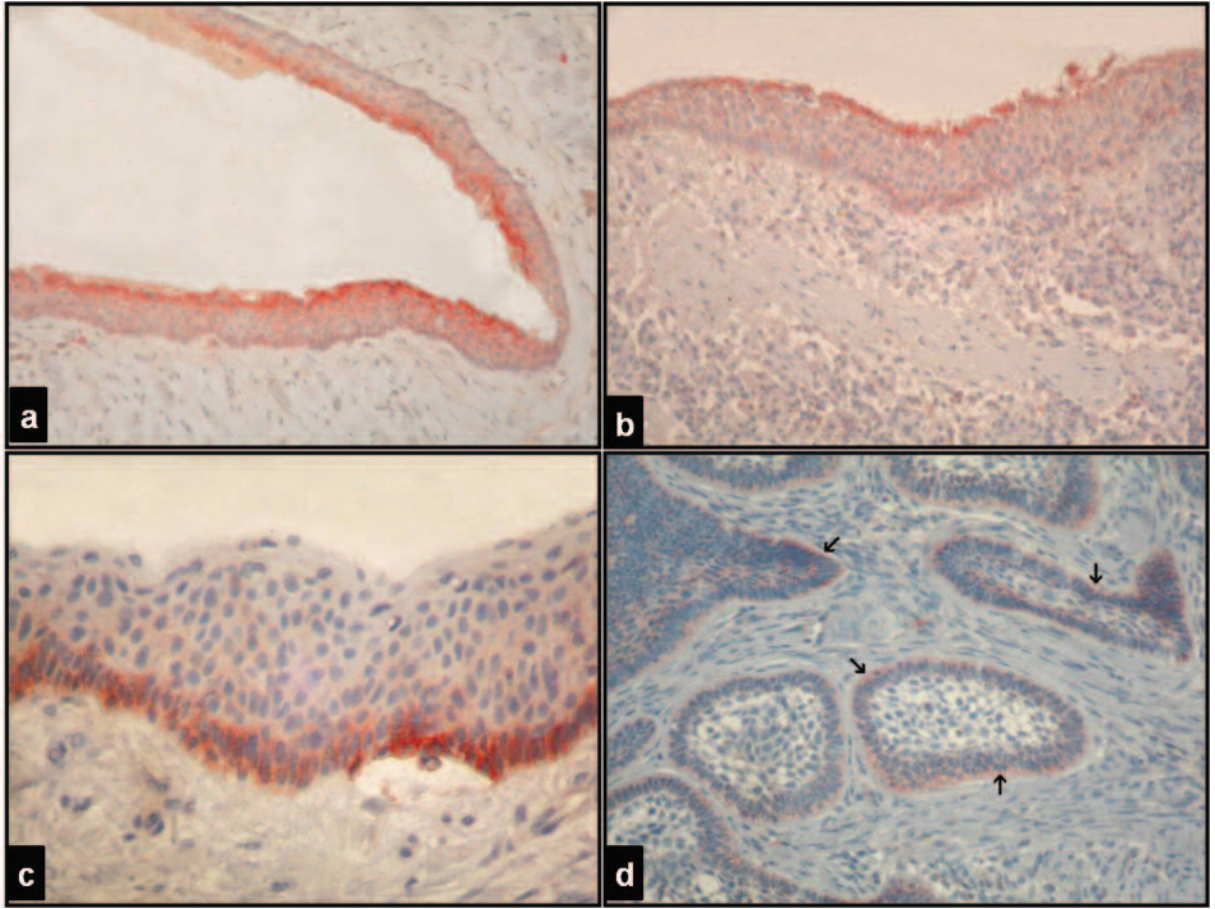
RK'lerde (Resim 2a) laminin ile boyanan örneklerin çoğunda (8 vakada) fokal olarak ve zayıf boyanma izlendi; DK'de ve COC'te boyanma yoğunluğu genellikle zayıf/orta yoğunlukta idi. DF (Resim 2b) ve OKK vakalarında (Resim 2c) birbirlerine benzer şekilde orta / kuvvetli boyanma izlenirken LPK'lerde vakaların genelinde kuvvetli boyanma görüldü. AOT vakalarının çoğunda laminin boyanması görülmezken, boyanmanın olduğu iki vakada ise orta / kuvvetli boyanma izlendi. Unikistik ABL vakalarında boyanan vakalarda genellikle orta / kuvvetli boyanma mevcutken iki vakada boyanma yoktu. Folliküler ABL vakalarında ise (Resim 2d) follikül-

lerin bazılarında ve follikülleri çepeçevre sarar tarzda, zayıftan kuvvetliye değişen yoğunlukta laminin boyanması izlendi. Pleksiform ABL vakasında ise laminin ile boyanma izlenmedi.

Laminin ile boyanma miktarına göre lezyonların birbirleriyle olan ilişkisi Resim 2'de yer almaktadır. Buna göre, RK ile OKK ve DF arasında, DK ile OKK ve DF arasında, COC ile OKK ve DF arasında, OKK ile RK, DK, COC, AOT ve ABL arasında, AOT ile OKK ve DF arasında, DF ile RK, DK, COC ve AOT arasında, ABL ile OKK arasında laminin boyanması yönünden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark olduğu görüldü ($p<0,05$).

İNTEGRİN

Çalışmadaki lezyonların integrin ile boyanma miktarı Tablo I'de görülmektedir. İntegrin ile lezyonların epitelyal komponentlerinin farklı bölgelerindeki hücrelerde, difüz veya fokal olarak membranöz



Resim 3: LPK (a), DF (b), OKK (c), Folliküler ABL'da (d), integrin pozitifliği (ABC a, b, ve d: x200, c: x400).

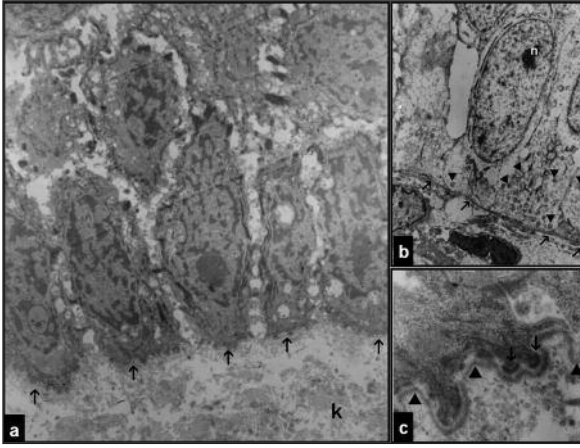
(sitoplazmik sınırlarda) boyanma izlendi. RK, COC, DF ve unistik ABL vakalarında genellikle epitel boyunca difüz boyanma görülürken, DK ve OKK vakalarında fokal boyanma görüldü.

LPK (Resim 3a), COC, DF (Resim 3b) ve RK'lerde integrin antikoruna ile boyanan hücreler epitelin tüm tabakalarında mevcutken DK ve OKK (Resim 3c) vakalarında pozitif hücreler bazal tabakadaydı. İntegrin (+) hücrelerin unistik ABL vakalarında bazal ve suprabazal tabakada, folliküler ABL'da folliküllerin periferinde, ilk iki sırada yer aldığı görüldü; follikül merkezinde yer alan hücrelerde ise boyanma yoktu (Resim 3d). AOT'de BM'a komşu epitel hücrelerinde boyanma görülmezken tümör merkezinde yer alan hücrelerde zayıf / orta yoğunlukta boyanma mevcuttu. Pleksiform ABL'da kordonlar oluşturan epitel hücrelerinin tümünde kuvvetli integrin boyanması görüldü. Boyanma yoğunluğuna bakıldığında folliküler ve pleksiform ABL'da kuvvet-

li, DK ve unistik ABL'da orta / kuvvetli, COC ve DF'de orta yoğunlukta, OKK ile AOT'ün merkezindeki hücrelerde zayıf / orta yoğunlukta, RK ve LPK'te ise zayıf / orta / kuvvetli yoğunlukta boyanma izlendi.

İntegrinle boyanma miktarı açısından lezyonların birbirleriyle olan ilişkisi değerlendirildiğinde RK ile OKK, AOT, DF ve ABL arasında, DK ile COC, OKK, AOT ve ABL arasında, LPK ile AOT arasında, COC ile DK, OKK ve AOT arasında, OKK ile RK, DK, COC, DF ve ABL arasında, AOT ile RK, DK, LPK, COC, DF ve ABL arasında, DF ile RK, OKK ve AOT arasında, ABL ile RK, DK, OKK ve AOT arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ($p < 0,05$).

Elektron mikroskopta incelenen vakaların tümünde epitel-bağ doku bileşkesinde devamlılık gösteren intakt bir BM'ın bulunduğu görüldü. OKK vakasında epitel-bağ doku ara yüzü boyunca (Resim



Resim 4: OKK'te (a) ve Folliküler ABL'da (b) intakt bir BM (ok) üzerinde yer alan kolumnar hücreler. Bu hücreler ile BM arasındaki hemidesmozomal kompleks (c, okbaşı) (k: kollajen lifler, n: nükleus) (a,b: x3000, c: x20000)

4a), Folliküler ABL vakasında ise folliküllerin etrafını çevreleyen (Resim 4b) kesintisiz bir BM yapısının bulunduğu görüldü. Bu vakalarda bazal tabaka hücrelerinin BM'a hemidesmozomal bağlantı birimleriyle tutundukları izlendi (Resim 4c).

TARTIŞMA

BM, ECM proteinlerinden oluşan yoğunlaşmış bir tabaka benzeri yapıdır. BM bağ dokuyu epitelden ayıran mekanik bir bariyerdir. Epitelyal bir dokunun gelişimi, BM'nın aktif düzenleyici olduğu epitelyo-mezenşimal ilişkilere dayalıdır^{7,22}.

BM'nın varlığı birçok dokunun fizyolojik olarak normal işlevini yerine getirmesi için oldukça önemlidir. Yanı sıra BM'nın dokuların şekillenmesinde anahtar rol oynadığı anlaşılmıştır. BM'nın varlığı doku biyolojisi ile fizyolojisinin dışında, tümör invazyonu ve metastazı için oldukça önemli bir durumdur. BM kaybının birçok karsinom tipinde lenf nodu ve uzak organ metastazı yapan tümör hücreleri ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir²⁹. BM komponentlerinin birbirleriyle olan etkileşimleri ve BM yapısında bu komponentlerin ne şekilde yer aldıklarının anlaşılması patogenezin aydınlatılması yönünden önemlidir²².

Odontogenezis tamamlandıktan sonra, belirsiz bir süre inaktif olarak kalan epitel artıkları, bilinmeyen bir uyarıcı mekanizmanın etkisiyle çoğalarak odontojenik kist ve tümörlerin gelişimine neden olurlar^{10,16,30}. Epitel artıklarından köken alan odontojenik

kist ve tümörlerin de normal dokulara benzer şekilde, epitelyal-mezenşimal etkileşime bağlı olarak meydana geldiğine dikkat çekilmiştir^{10,19,25}. Örneğin RK'lerin epitel orijinini oluşturan Malessez epitel artıklarında^{11,15} fibronektin²⁷, laminin⁹ ve laminin-5³¹ ekspresyonunun varlığı ortaya konulmuştur. Ancak ECM proteinlerinin odontojenik kistler ve tümörlerdeki dağılımına ve işlevine yönelik araştırmalar yeterli olmayıp, bugüne dek yayımlanmış az sayıda araştırma bulunmaktadır^{5,15}.

Odontojenik lezyonların agresifliğini tahmin etmek için lezyonel epitelin proliferasyon kapasitesini belirlemek önem taşır. Bu amaçla en başta PCNA pozitifliğinin farklı tümör tiplerinin biyolojik davranışlarını tahmin etmek açısından önemli bir belirteç olduğu daha önce yapılan çalışmalarda belirtilmiştir¹². Nishimura ve arkadaşlarına²⁰ göre odontojenik epitel artıklarının bazı özellikleri ECM tarafından düzenlenebilmektedir. Buna dayanarak kistik veya tümöral büyümenin yalnızca epitelin proliferatif potansiyeli ile değil, bunun yanı sıra ECM yapısı ve komponentlerince de yönlendirildiği düşünülmektedir.

Çalışmamızda laminin boyanma miktarı vakalara göre karşılaştırıldığında, tüm vakaların BM'larında laminin ile boyanmanın olduğu, ancak ilginç olarak en fazla boyanmanın DF ve OKK'de bulunduğu görülmüştür. OKK'lerin büyük boyutlara ulaşabilme ve nüks etme özelliğinden gelen agresif davranışı, epitel fenotipine, kist kapsülünün özelliklerine ve uygulanan tedavi modeli gibi etmenlere bağlıdır². OKK'deki artmış nüks potansiyeli ince ve kolay parçalanabilir özellikteki kist duvarının tamamen çıkartılma gücüne de ilişkilendirilir¹. Browne'a³ göre OKK'teki nüks eğiliminin esas nedeni, kist BM'ndaki olası bir bozukluğa bağlı olarak, kist epitelinin bağ dokusundan ayrışmasıdır. de Oliveira ve arkadaşlarının⁶ yaptıkları çalışmada OKK'te, RK ve DK'e göre daha zayıf laminin ve tip IV kollajen ekspresyonunun bulunduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda ise OKK'lerde güçlü laminin ekspresyonunun yanı sıra ultrastrüktürel olarak BM'nın kesintisiz, intakt izlenmesi ve bazal tabaka epitelyum hücreleri-BM arasında sağlam hemidesmozomal bağlantıların görülmesi bu araştırmacıların bulgu ve yorumlarını desteklemektedir. Tersine OKK'lerdeki BM'nın mor-

folojik yapısı ve içeriğindeki laminin yoğunluğu, kontrol doku olarak çalışmaya aldığımız DF'deki kadar sağlıklı, normal değerlerdedir. Diğer taraftan PCNA'nın OKK'lerde DF'den istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla, kuvvetli şekilde fakat bazal tabakanın bir hücre sırası üzerindeki hücrelerce eksprese edilmesi, kist epitelinin bağ dokusuna infiltrasyon göstermeksizin sürekli genişleme kapasitesine sahip olduğunu düşündürmektedir. Olasılıkla OKK'de kistin büyüyen kısmı suprabazal hücrelerdir ve alttaki bazal tabaka hücreleri ve bu hücrelerin bağlandığı BM, suprabazal tabakanın büyümesine ayak uydurmaktadır. Dolayısıyla OKK'lerde laminin ekspresyonunun fazla olması, suprabazal tabakadan genişleyen kistik büyümeye karşı ECM'in adaptif bir cevabını ifade ediyor olabilir.

$\beta 1$ integrin, hücre siklusunun ilerleyişini engelleyen $\beta 1 C$ subünitini üzerinden, proliferasyon kontrolünde ve hücre diferansiyasyonunda rol oynar¹⁷. Azalmış $\beta 1$ integrin miktarının çevre destek hücrelerden bağımsız büyüme ile ilişkili olduğu belirtilmiştir²³. Modolo ve arkadaşları¹⁸ ABL'nın histolojik subtipleriyle diş germi, dental lamina ve oral mukosa epitelinin integrin ekspresyonlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında, erişkin oral epitelden farklı olarak, matürasyon kaybı gösteren dokulardaki hücrelerin büyük bir çoğunluğunun integrin antikoru ile pozitif olarak boyandığını belirtmişler, bu bulgunun integrinlerin doku gelişimi sırasında önemli rol oynadığını gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda incelenen vakaların tamamında lezyonların epitelyal bölümlerinde integrin antikoru ile pozitif boyanma görülürken, pozitif hücrelerin lezyonal epitel içerisindeki lokalizasyonlarında farklılık dikkati çekti. DK ve OKK vakalarında döşeyici epitelin bazal tabaka hücreleri, folliküler ABL'da da folliküllerin periferindeki hücreler integrin antikoru ile boyanmıştır. AOT'de ise tümör periferinde yer alan fibröz kapsüle komşu bazal tabakadaki epitel hücrelerinde boyanmanın olmadığı, integrin antikoruyla pozitifliğin solid, yuvarlak yuvacıklar tarzında izlenen tümör alanlarında yer alan hücrelerde, zayıf / orta yoğunlukta olduğu izlenmiştir. Özellikle biyolojik davranış açısından agresif olmayan AOT'de, OKK ve folliküler ABL'nın tersine bazal tabaka hücrelerinde integrin varlığının izlenmemesi, odontojenik epitel-

yal lezyonlarda integrin eksprese eden bazal tabaka epitel hücresinin, daha agresif bir fenotipi temsil edebileceği düşüncesini uyandırmaktadır.

Nitekim OKK, DK ve folliküler ABL vakalarının bazal ve suprabazal tabaka hücrelerindeki integrin pozitifliği, bu lezyonlardaki PCNA boyanmasıyla birlikte değerlendirildiğinde, epitelyal komponent içerisinde diferansiyasyonunu tamamlamamış ve bölünme siklusu içerisinde olan hücrelerin özellikle bazal ve suprabazal tabaka hücreleri olduğu dolayısıyla bu hücrelerin söz konusu lezyonların büyüyen ve/veya genişleyen komponentini oluşturduğu ve diğer hücrelerin bu bölümlere ayak uydurduklarını düşündürmektedir. Bu bulgu, büyüme (çoğalma) potansiyeline sahip hücrelerin BM ile etkileşiminde integrinlerin önemli rol oynadığını akla getirmektedir.

Çalışmamızda ABL vakalarında PCNA ile pozitif olarak boyanan hücrelerin ağırlıklı tümörün periferik hücreleri olduğu izlenmiş olup, bu bulgular Li ve arkadaşları¹³, Kim ve Yook¹² ile Funaoka ve arkadaşları⁸ elde ettikleri bulgularla benzerlik göstermektedir. Oygür ve arkadaşları'nın²¹ ABL'lardaki büyüme ve infiltrasyon paternini histokimyasal yöntemlerle değerlendirdikleri çalışmalarında ise parankim/stroma ara yüzünde odontogenezin ektomezansimal etkileşimini telkin eden indüktif etkiyi izlemişler, stromaya doğru infiltrasyon ve tomurcuklanma yapan hücrelerin kolumnar hücreler olduklarını belirtmişlerdir. Prolifere olan hücrelerin genelde periferik hücreler olması, ABL'nın infiltratif büyüme eğilimini açıklamak ve bağ doku kapsülünü genişleterek büyüyen kistik lezyonlarla adalar tarzında bağ dokuyu infiltre eden lezyonlar arasındaki biyolojik davranış farkını göstermek açısından anlamlı gibi durmaktadır. Buna ek olarak özellikle folliküler ABL'larda, periferik hücreleri palizatlanma göstermeyen tümör adalarında kullandığımız antikorumların daha düşük oranda eksprese ediliyor olması agresif fenotipin aynı zamanda BM'a dik olarak konumlanmış ve çit tarzında dizelenme gösteren hücrelerce temsil edildiği düşüncesini destekler niteliktedir.

Sonuç olarak bu araştırma farklı odontojenik epitelyal lezyonlarda lezyonel epitelle BM ilişkisinde laminin ve integrin molekülleri açısından farklılıklar gösterdiğini, ancak epitelyal odontojenik

lezyonların hiçbirinde BM'in ultrastrüktürel düzeyde defektli olmadığını göstermiştir. Bu bulgularla ulaşılan kanı, odontojenik epitel artıklarından gelişen lezyonlarda BM'in yönlendirici olmaktan çok uyum sağlayabilen, destekleyici rol oynadığı yönündedir.

KAYNAKLAR

- Anand VK, Arrowood JP, Jr., Krolls SO. Odontogenic keratocysts: a study of 50 patients. *Laryngoscope* 105: 14-16, 1995.
- Blanchard SB. Odontogenic keratocysts: review of the literature and report of a case. *J Periodontol* 68: 306-311, 1997.
- Browne RM. The odontogenic keratocyst. Histological features and their correlation with clinical behaviour. *Br Dent J* 131: 249-259, 1971.
- Campbell JH, Terranova VP. Laminin: molecular organization and biological function. *J Oral Pathol* 17: 309-323, 1988.
- de Oliveira MD, de Miranda JL, de Amorim RF, de Souza LB, de Almeida Freitas R. Tenascin and fibronectin expression in odontogenic cysts. *J Oral Pathol Med* 33: 354-359, 2004.
- de Oliveira MD, Souza LB, Pinto LP, Freitas Rde A. [Immunohistochemical study of components of the basement membrane in odontogenic cysts]. *Pesqui Odontol Bras* 16: 157-162, 2002.
- Eklom M, Falk M, Salmivirta K, Durbejj M, Eklom P. Laminin isoforms and epithelial development. *Ann N Y Acad Sci* 857: 194-211, 1998.
- Funaoka K, Arisue M, Kobayashi I, Iizuka T, Kohgo T, Amemiya A, et al. Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in 23 cases of ameloblastoma. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 32B: 328-332, 1996.
- Hamamoto Y, Suzuki I, Nakajima T, Ozawa H. Immunocytochemical localization of laminin in the epithelial rests of Malassez of immature rat molars. *Arch Oral Biol* 36: 623-626, 1991.
- Heikinheimo K, Morgan PR, Happonen RP, Stenman G, Virtanen I. Distribution of extracellular matrix proteins in odontogenic tumours and developing teeth. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 61: 101-109, 1991.
- Honma M, Hayakawa Y, Kosugi H, Koizumi F. Localization of mRNA for inflammatory cytokines in radicular cyst tissue by in situ hybridization, and induction of inflammatory cytokines by human gingival fibroblasts in response to radicular cyst contents. *J Oral Pathol Med* 27: 399-404, 1998.
- Kim J, Yook JI. Immunohistochemical study on proliferating cell nuclear antigen expression in ameloblastomas. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 30B: 126-131, 1994.
- Li TJ, Browne RM, Matthews JB. Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki-67 in unicystic ameloblastoma. *Histopathology* 26: 219-228, 1995.
- Lohi J. Laminin-5 in the progression of carcinomas. *Int J Cancer* 94: 763-767, 2001.
- Lukinmaa PL, Leppaniemi A, Hietanen J, Allemanni G, Zardi L. Features of odontogenesis and expression of cytokeratins and tenascin-C in three cases of extraosseous and intraosseous calcifying odontogenic cyst. *J Oral Pathol Med* 26: 265-272, 1997.
- Meghji S, Qureshi W, Henderson B, Harris M. The role of endotoxin and cytokines in the pathogenesis of odontogenic cysts. *Arch Oral Biol* 41: 523-531, 1996.
- Meredith J, Jr., Takada Y, Fornaro M, Languino LR, Schwartz MA. Inhibition of cell cycle progression by the alternatively spliced integrin beta 1C. *Science* 269: 1570-1572, 1995.
- Modolo F, Martins MT, Loducca SV, de Araujo VC. Expression of integrin subunits alpha2, alpha3, alpha5, alpha6, beta1, beta3 and beta4 in different histological types of ameloblastoma compared with dental germ, dental lamina and adult lining epithelium. *Oral Dis* 10: 277-282, 2004.
- Mori M, Yamada T, Doi T, Ohmura H, Takai Y, Shrestha P. Expression of tenascin in odontogenic tumours. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 31B: 275-279, 1995.
- Nishimura A, Ueno S, Niwa S, Osugi Y, Shinoda Y, Mushimoto K, et al. Correlation of lining thickness and expression of alpha 2 and alpha 3 integrins within the epithelial lining of odontogenic cysts. *J Osaka Dent Univ* 32: 43-46, 1998.
- Oygür T, Gültekin SE, Okşak R. Ameloblastomalarda ağırsivitenin histomorfolojik yönden incelenmesi. *G.Ü. Dişhek Fak. Derg.* 17: 1-6, 2000.
- Quondamatteo F. Assembly, stability and integrity of basement membranes in vivo. *Histochem J* 34: 369-381, 2002.
- Blanchard SB. Odontogenic keratocysts: review of the literature and report of a case. *J Periodontol* 68: 306-311, 1997.
- Thesleff I, Vainio S, Jalkanen M. Cell-matrix interactions in tooth development. *Int J Dev Biol* 33: 91-97, 1989.
- Thesleff I, Vaahtokari A, Vainio S. Advances in histological methods open up new perspectives for craniofacial growth research. *Proc Finn Dent Soc* 87: 23-32, 1991.
- Timpl R, Brown JC. Supramolecular assembly of basement membranes. *Bioessays* 18: 123-132, 1996.
- Uitto VJ, Larjava H, Peltonen J, Brunette DM. Expression of fibronectin and integrins in cultured periodontal ligament epithelial cells. *J Dent Res* 71: 1203-1211, 1992.
- Wahlgren J, Vaananen A, Teronen O, Sorsa T, Pirila E, Hietanen J, et al. Laminin-5 gamma 2 chain is colocalized with gelatinase-A (MMP-2) and collagenase-3 (MMP-13) in odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol Med* 32: 100-107, 2003.
- Wilson DF, Jiang DJ, Pierce AM, Wiebkin OW. Oral cancer: role of the basement membrane in invasion. *Aust Dent J* 44: 93-97, 1999.
- Yamamoto K, Yoneda K, Yamamoto T, Ueta E, Osaki T. An immunohistochemical study of odontogenic mixed tumours. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 31B:122-128, 1995.
- Yoshida N, Yoshida K, Aberdam D, Meneguzzi G, Perrin-Schmitt F, Stoetzel C, et al. Expression and localization of laminin-5 subunits in the mouse incisor. *Cell Tissue Res* 292: 143-149, 1998.

Yazışma Adresi

Dr. Emre BARIŞ

Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Oral Patoloji Bilim Dalı, Ankara

e-posta: emrebaris@gazi.edu.tr

boş