

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Dentijeröz Kist, Odontojenik Keratokist ve
Ameloblastomalarda p53 tümör süpresör genin ve
indüklenebilir Nitrik Oksit Sentez enziminin karşılaştırmalı
immünohistokimyasal olarak incelenmesi**

Dt. Kerem ÖKTEMER

Cerrahi (Diş) Programı
DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Necati URAN

ANKARA
2007

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne :

Bu çalışma jürimiz tarafından Cerrahi (Diş) programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Necati Uran (Danışman)

Hacettepe Üniversitesi

Üye :

Prof. Dr. Osman Köseoğlu

Hacettepe Üniversitesi

Üye :

Prof. Dr. Orhan Güven

Ankara Üniversitesi

Üye :

Doç. Dr. Alp Usubütün

Hacettepe Üniversitesi

Üye :

Doç. Dr. Bahadır Giray

Hacettepe Üniversitesi

ONAY :

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Hakan S. Orer

Enstitü Müdürü

Bu tez çalışmasında emeği geçenlerden;

Hacettepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D. öğretim üyesi ve danışmanım Prof. Dr. Necati Uran'a bu tez çalışması sırasında sağladığı destek ve yardımları için,

Hacettepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D. öğretim üyesi Prof. Dr. Nuray Er'e ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji A.D. öğretim üyesi Doç. Dr. Alp Usubütün'e deneysel aşamalardaki destekleri, hazırlanması sırasındaki yol göstericilikleri ve tavsiyeleri için,

Hacettepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D. Başkanı Prof. Dr. Ferda Taşar ve Anabilimdalındaki tüm hocalarıma asistanlığım boyunca ve tez aşamalarında bana göstermiş oldukları anlayış ve yardımları için,

Hacettepe Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D.'nda 6 yılımı birlikte geçirdiğim ve bana her zaman destek olan ve anlayış gösteren tüm çalışma arkadaşlarıma,

Bu tez çalışmasında desteklerinden ve arkadaşlıklarından dolayı Dr. Tuncer Karaman, Dr. Burak Bilecenoğlu ve Dr. Neslihan Güney' e,

Ve Tüm aileme, özellikle annem Prof. Dr. Müjgan Öktemer, babam Prof. Dr. Atilla Öktemer ve eşim Gökçen Öktemer'e bu tez çalışması boyunca ve tüm hayatım boyunca bana gösterdikleri destek, hoşgörü ve yardımları için teşekkür ederim.

ÖZET

Öktemer K., Dentijeröz Kist, odontojenik keratokist ve ameloblastomalarda p53 tümör süpresör genin ve indüklenebilir Nitrik Oksit Senteaz enziminin karşılaştırmalı immünohistokimyasal olarak incelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Cerrahi (Diş), Doktora Tezi, Ankara, 2007.

Nitrik oksitin biyolojik dokularda fizyolojik ve patolojik süreçlerde karmaşık etkileri vardır. İndüklenebilir nitrik oksit senteaz (iNOS) enzimi aracılığı ile nitrik oksitin uzun süreli üretimi tümör gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Wild tip p53 proteini salınımı iNOS salınımını azaltır ve bu da tümör büyümesini yavaşlatmaktadır. iNOS ve p53 etkileşimi çeşitli insan tümörleri ve kanserlerinde araştırılmış olmasına karşın, odontojenik kistlerde ve benign odontojenik tümörlerde araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı, değişik biyolojik davranışları olan ve nadir olsa da malign değişim gösteren dentijeröz kistler, odontojenik keratokistler ve ameloblastomalarda iNOS ve p53 ilişkisini araştırmaktır. 25 dentijeröz kist, 30 odontojenik keratokist ve 32 ameloblastoma speysmeni, arşivlenmiş doku örneklerinden elde edilmiş ve immünohistokimyasal olarak iNOS ve p53 antikoları kullanılarak işleminden geçirilmiştir. İmmünohistokimyasal boyamalar sınıflandırılmış ve iNOS için boyanma şiddeti ve boyanan epiteliyal hücrelerin yüzdesine göre, benzer şekilde p53 için epiteliyal hücrelerin boyanma yüzdelerine göre skorlanmıştır. Sonuçların istatistiksel analizi, odontojenik keratokistler ve ameloblastomalar arasında iNOS boyanma skorları açısından ve odontojenik keratokistler ile dentijeröz kistler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu göstermiştir. iNOS ve p53 skorları arasında sadece ameloblastomalarda bir korelasyon bulunmuş; odontojenik kistlerde ise bir korelasyon bulunmamıştır. Bu çalışmanın sonuçları, p53 ve iNOS arasındaki ilişki ile odontojenik kist ve tümörlerin biyolojik davranışları arasında bir bağlantı olabileceğini gösterse de daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: odontojenik kist, odontojenik tümör, iNOS, p53, immünohistokimya

ABSTRACT

ÖKTEMER K., Comparative immunohistochemical analysis of tumor suppressor gene p53 and inducible nitric oxide synthase enzyme in dentigerous cysts, odontogenic keratocysts and ameloblastomas. Hacettepe University Health Sciences Institute, Ph. D. Thesis in Oral Surgery, Ankara, 2007.

Nitric Oxide has complex effects in biological tissues taking part in both physiological and pathological processes. Prolonged nitric oxide production by the inducible nitric oxide synthase (iNOS) enzyme has been implicated in tumor promotion. Wild-type p53 protein expression results in downregulation of iNOS expression, which reduces both tumor growth and dissemination. The relation of iNOS and p53 has been investigated in various of human tumors and cancers but not in odontogenic cysts and benign odontogenic tumors. The aim of this study was to investigate the relation of iNOS and p53 in dentigerous cysts, odontogenic keratocysts and ameloblastomas which has different biological behaviors and rare but known potential of malignant transformation. Specimens of 25 dentigerous cyst, 30 odontogenic keratocyst and 32 ameloblastomas were obtained from archived tissue samples and assessed immunohistochemically using iNOS and p53 antibodies. Immunohistochemical stainings were classified and scored for iNOS according to the percentage of epithelial cells stained and density of staining and for p53 according to percentage of epithelial cells stained. Statistical analyses of the results revealed that there was statistically significant difference between odontogenic keratocysts and ameloblastomas by means of iNOS expression and between odontogenic keratocysts and dentigerous cysts by means of p53 protein expression. Significant correlation was found between iNOS scores and p53 scores in ameloblastomas but not in dentigerous cysts and in odontogenic keratocysts. The results of this study suggests there may be a relation between iNOS-p53 correlation and biological behavior of odontogenic cysts and tumors but needs further investigation.

Key words: Odontogenic cysts, Odontogenic tumors, iNOS, p53, immunohistochemistry

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Odontojenik Kistler	3
2.1.1. Odontojenik Kistlerin Sınıflandırılması	3
2.1.2 Dentijeröz kist	4
2.1.3. Odontojenik Keratokist	5
2.1.4 Nevoid Bazal Hücreli Karsinom Sendromu	8
2.2 Odontojenik Tümörler	10
2.2.1 Ameloblastoma	11
2.2.2 Konvansiyonel solid veya multikistik Ameloblastoma	12
2.2.3 Unikistik Ameloblastoma	15
2.2.4 Periferal (Ekstraosseöz) Ameloblastoma	17
2.3 Karsinogenezis	18

2.3.1 Apoptozis	20
2.3.2 Apoptozis ve Kanser	21
2.4 . p53 Tümör Süpresör Gen	21
2.4.1. DNA Hasarı ve p53	22
2.4.2 Mutant Tip p53	24
2.5. Nitrik Oksit	25
2.5.1. Nitrik Oksitin temel kimyası	27
2.5.2. Nitrik oksitin sentezi	28
2.5.3. Nitrik Oksit'in Sitotoksik ve Apoptotik Etkileri	29
2.5.4. Nitrik Oksitin Karsinogenezisteki Rolü:	30
2.6. Gen Bozukluklarını Tespit Etmede Kullanılan Analizler	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1 Örnekler	33
3.2 İmmunohistokimyasal Yöntem	33
3.2.1 iNOS İmmünoreaktivitesinin Değerlendirilmesi	34
3.2.2 p53 İmmünoreaktivitesinin Değerlendirilmesi	35
4. BULGULAR	36
4.1 Dentijeröz Kist İmmünboyanma Bulguları	36
4.2 Odontojenik Keratokist İmmünboyanma Bulguları	40
4.3 Ameloblastoma İmmünboyanma Bulguları	45
4.4 Bulguların Değerlendirilmesi	49

4.5 İstatistiksel Analiz	52
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇLAR	76
7. KAYNAKLAR	78

SİMGELER VE KISALTMALAR

cNOS	Konstitütif Nitrik Oksit Senteazlar
cyclin D1	Neoplazi gelişmesinde rol oynayan bir protein
DAB	Diaminobenzidin
DCC	Deleted in Colon Cancer
EDRF	Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör
eNOS	Endotelial Nitrik Oksit Senteazlar
HSP	Isı şok proteinlerini
IL-1	İnterlökin-1
INF- γ	İnterferon Gama
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Senteazlar
LPS	Lipopolisakkaritler
MDM2	Murine double minute 2
mTUNEL	Moderate terminal deoksinükleotidil transferaz-mediate dUTP-nick end-labelling
NBHK5	Nevoid Bazal Hücreli Karsinom Sendromu
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Senteazlar
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Senteazlar
OK	Odontojenik Keratokist
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCNA	Prolifere Olan Hücre Nükleer Antijen
PCR	Polymerase Chain Reaction
PCR-SSCP	Polymerase Chain Reaction-Single Stranded Conformation Polymorphism
RB	Retinoblastom Geni
RT-PCR	Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction
SSCP	Single-Stranded Conformation Polymorphism
SV40	Simian Virus 40
TGF- β	Transforming Growth Factor Beta
TNF	Tümör Nekrotizan Faktör

TNF- α	Tümör Nekrotizan Faktör Alfa
TUNEL	Terminal deoksinükleotidil transferaz-mediate dUTP-nick end-labelling
UCN-01	Staurosporin
WHO	World Health Organisation

ŞEKİLLER

Şekil 2.1 p53 proteininin işlevi	23
Şekil 2.2 Nitrik oksit molekülünün çok yönlü etkileri	27
Şekil 2.3 L-Arjininden Nitrik oksit sentezi	28
Şekil 4.1 Dentijeröz kist epitelinde 40x büyütmede bazal membrana komşu hücrelerde p53 reaktivitesi	37
Şekil 4.2 Dentijeröz kist epitelinde 40x büyütmede bazal membrana komşu hücrelerde p53 reaktivitesi	37
Şekil 4.3 Dentijeröz kist epitelinde 10x büyütmede şiddetli iNOS reaktivitesi	38
Şekil 4.4 Dentijeröz kist epitelinde 20x büyütmede şiddetli iNOS reaktivitesi	38
Şekil 4.5 Odontojenik keratokist epitelinde 20x büyütmede bazal membrana komşu hücrelerde p53 reaktivitesi	41
Şekil 4.6 Odontojenik keratokist epitelinde 40x büyütmede bazal membrana komşu hücrelerde p53 reaktivitesi	41
Şekil 4.7 Odontojenik keratokist epitelinde 20x büyütmede yaygın ve şiddetli iNOS reaktivitesi	42
Şekil 4.8 Odontojenik keratokist epitelinde 20x büyütmede yaygın ve şiddetli iNOS reaktivitesi	42
Şekil 4.9 Ameloblastoma epitelinde 40x büyütmede p53 reaktivitesi	46

Şekil 4.10 Ameloblastoma epitelinde 40x büyütmede p53 reaktivitesi	46
Şekil 4.11 Ameloblastoma 10x büyütmede şiddetli iNOS reaktivitesi görülen hücrelerin görünümü	47
Şekil 4.12 Ameloblastoma 20x büyütmede şiddetli iNOS reaktivitesi görülen hücrelerin görünümü	47

TABLOLAR

Tablo2.1	iNOS indükleyicileri ve indüksiyon inhibitörleri	29
Tablo4.1	Dentijeröz kist örneklerinin iNOS ve p53 immünreaksiyon bulguları	39
Tablo4.2	Dentijeröz kistlerde iNOS reaktivitesi ve speysmendeki kist epitelinin boyanma yüzdeleri	40
Tablo 4.3	Dentijeröz Kistlerde p53 reaktivitesi verileri	40
Tablo 4.4	Odontojenik keratokist örneklerinin iNOS ve p53immünreaksiyon bulguları	43
Tablo 4.5	Odontojenik Keratokistlerde iNOS reaktivitesi ve speysmendeki kist epitelinin boyanma yüzdeleri	44
Tablo 4.6	Odontojenik Keratokistlerde p53 reaktivitesi verileri	44
Tablo 4.7	Ameloblastoma örneklerinin iNOS ve p53 immünreaksiyon bulguları	48
Tablo 4.8	Ameloblastomalarda iNOS reaktivitesi ve speysmendeki tümör epitelinin boyanma yüzdelerinin dağılımı	49
Tablo 4.9	Ameloblastomalarda p53 reaktivitesinin dağılımı	49
Tablo 4.10	Dentijeröz Kist, Odontojenik Keratokist ve Ameloblastomalarda iNOS reaktiviteleri pozitif ve negatif olarak ayrıldığında örneklerdeki dağılımı	50
Tablo 4.11	Dentijeröz Kist, Odontojenik Keratokist ve Ameloblastomalarda p53 reaktiviteleri pozitif ve negatif olarak ayrıldığında örneklerdeki dağılımı	51

Tablo 4.12	Dentijeröz Kist, Odontojenik Keratokist ve Ameloblastomalarda iNOS reaktiviteleri boyanma yoğunluğu ve yaygınlığına göre skorlandığında örneklerin dağılımı	51
Tablo 4.13	Dentijeröz Kist, Odontojenik Keratokist ve Ameloblastomalarda p53 reaktiviteleri boyanmaları skorlandığında örneklerin dağılımı	52
Tablo 4.14	Dentijeröz kistlerde iNOS skorlarına göre örneklerin yüzdesel dağılımı	53
Tablo 4.15	Odontojenik keratokistlerde iNOS skorlarına göre örneklerin yüzdesel dağılımı	54
Tablo 4.16	Ameloblastomalarda iNOS skorlarına göre örneklerin yüzdesel dağılımı	54
Tablo 4.17	Dentijeröz kistlerde p53 skorlarının örneklere göre dağılımı	55
Tablo 4.18	Odontojenik keratokistlerde p53 skorlarının örneklere göre dağılımı	56
Tablo 4.19	Ameloblastomalarda p53 skorlarının örneklere göre dağılımı	56

GİRİŞ

Oral ve maksillofasiyel patoloji, son yıllarda ağız ve baş boyun bölgelerindeki lezyonların mikroskopik diağnozunu geliştirmek ve histopatogenezinin aydınlanmasını sağlamak üzere, ileri diağnostik tekniklerin keşfi ile büyük ilerleme kaydetmiştir. İmmunohistokimya geleneksel hematoksilen-eozin ile histolojik incelemeye alternatif olarak geliştirilen ileri diağnostik metodlardan birisidir. İmmünohistokimya, patoloji alanında lezyonların histopatogenezinine ışık tutmakta ve hastaların prognozunun daha doğru belirlenmesine katkıda bulunmaktadır (53). Pek çok araştırmacı, teşhisinde zorlanılan malign tümörlerde, geleneksel histomorfometrik, histokimya ve elektron mikroskobu çalışmalarına göre belirgin avantajı bulunan bu metodun kullanılması gerektiğini belirtmektedir (91). Ancak dişhekimliği alanında, patolojik speysmenlerin immunohistokimyasal yöntemle incelenmesi nispeten yenidir.

Odontojenik kistlerin ve odontojenik tümörlerin biyolojik davranış karakteristikleri ve prognozlarının belirlenmesi amacıyla literatürde son onbeş yıl içinde artmakta olan bir ilgi vardır. Bunun için daha önce vücudun diğer sistemlerindeki lezyonlar için uygulanmış ve uygulanmakta olan immunohistokimyasal çalışmalar ve ileri tetkikler baş boyun ve oral bölge lezyonlarında da uygulanmaktadır. Bu amaçla özellikle tümör süpressör genler, doku onkogenleri, iltihap mediyatörlerini inceleyen araştırmalar literatürde çok sayıda mevcuttur. Bu araştırmaların odak noktalarından birisi insan kanserlerinde en sık değişikliğe uğrayan gen olarak bilinen tümör süpresör gen p53'dür (47, 135, 89). Ayrıca çok geniş bir aralıkta hem fizyolojik hem de patofizyolojik etkilerinin olduğu bilinen Nitrik Oksit (NO) ve bu kimyasalı sentezleyen enzimler de patolojik lezyonlarda incelenegelmektedir.

p53 normal şartlar altında hücre döngüsünde tümör süpressör gen olarak işlev gören ve DNA'sında hasar meydana gelmiş hücreleri programlanmış hücre ölümine (apoptozis) yönlendirebilen yada hücre döngüsünü durdurup hasarın onarımı için süre tanıyan bir proteindir (110, 148). Wild tip p53 proteini "moleküler polis" olarak hareket eder ve genom

bütünlüğünün devamlılığını kontrol eder (71, 130). Ancak p53 geninde mutasyon sonucu oluşan mutant-tip p53 proteini gerekli işlevleri karşılayamamaktadır ve diğer p53 proteinlerinin aksine immunohistokimyasal olarak saptanabilmektedir.

Nitrik oksit sentezazlar (NOS) adı verilen kompleks bir grup enzimlerce sentezlenen nitrik oksit çok çeşitli ve karmaşık biyolojik etkilere sahip bir kimyasaldır. Nitrik oksitin biyolojik dokulardaki konsantrasyonunun artışları genetik mutasyonlara sebep olduğu için karsinogeneziste önemli rol oynadığı düşünülmektedir (78, 69, 96, 7, 123, 124, 125).

iNOS ve tümör süpresör gen p53 arasındaki ilişki, yapılan yeni araştırmalarda ilgi çekici bir bölümü kapsamaktadır (14). Buna göre, Wild tip p53 proteini salınımı, çeşitli tümör hücrelerinde ve erişkin fibroblastlarda iNOS salınımının engellenmesine sebep olmaktadır. Bununla birlikte mutant tip p53'ün iNOS salınımı üzerine böyle bir etkisi yoktur. Bundan kaynaklanabilecek kontrolsüz nitrik oksit salınımının çeşitli araştırmalarda multiple tümör oluşumlarına neden olduğu gösterilmiştir (5).

Literatürde iNOS ve p53'ün karşılaştırmalı incelenmesi gastirik karsinomlarda (145), gastirik mukoza ilişkili lenfoid doku lenfomalarında (74), konjenital koledektal kistlerde (154), faringeal skuamöz hücreli karsinomlarda (111), oral skuamöz hücreli karsinomlarda (14) yapılmış olsada oral bölgedeki benign karakterli tümörler ve odontojenik kistlerle ilişkili bir araştırma bulunmamaktadır.

Benign karakterli olarak tarif edilen odontojenik lezyonların patogenezi ve neoplastik transformasyon olasılığının aydınlatılması için diş hekimliğinde daha fazla immunohistokimyasal araştırma yapılmasına gerek duyulmaktadır. Bu çalışmanın amacı farklı biyolojik davranışlar gösterdiği bilinen odontojenik kist ve tümörlerden dentijeröz kist, odontojenik keratokist ve ameloblastomalarda tümör süpressör gen p53 ve indüklenebilir nitrik oksit sentezaz enziminin (iNOS) karşılaştırmalı incelenmesidir.

GENEL BİLGİLER

2.1. Odontojenik Kistler

Maksilla, mandibula ve perioral bölgedeki kistler, histolojik, görülme sıklığı, davranış biçimi ve tedavi seçeneği açısından farklılık gösteren bir topluluğu oluştururlar (114). Odontojenik kistler bazı istisnalar dışında yalnızca çene kemiğinde görülür. Bazı kistler embriyolojik füzyon sırasında ortaya çıkan epitelin inklüzyonundan kaynaklanmaktadır. Bazı çene kistleri ise odontojenik epitel kaynaklı bir epitelle çevrilidir. Odontojenik kistler orijin olarak gelişimsel ve inflamatuvar olarak sınıflandırılır. Gelişimsel kistlerin etyolojisi tam olarak bilinmemektedir ancak inflamatuvar bir reaksiyon sonucu oluşmamaktadır. Inflamatuvar kistler adı üzerinde inflamasyon sonucu oluşmaktadır (98).

2.1.1. Odontojenik Kistlerin Sınıflandırılması

Odontojenik kistler 1992'de WHO (World Health Organisation)'nın yaptığı klasifikasyon baz alınarak sınıflandırılmaktadır. (63, 98).

A. Gelişimsel Kistler

1. Dentijeröz kist
2. Erüpsiyon kist
3. Odontojenik keratokist
4. Yenidoğanın gingival (alveoler) kisti
5. Yetişkin gingival kisti
6. Lateral periodontal kist
7. Kalsifiye odontojenik kist
8. Glandular odontojenik kist

B. İnflamatuvar Kistler

1. Radiküler kist

2. Rezidüel radiküler kist

3. Paradental kist

2.1.2 Dentijeröz kist

Dentijeröz kist sürmemiş dişin kronu çevresindeki follikülün seperasyonundan orijin alan bir kist olarak tanımlanır. Bu, gelişimsel odontojenik kistlerin en yaygın görülen tipidir ve epitelle çevrili kistlerin %20'sini oluşturmaktadır (98). Dentijeröz kist, sürmemiş dişin kronunun çevresine, mine-sement birleşim yerine yapışır (98, 82). Bununla beraber kistin patogenezi bilinmemektedir. Bazı dentijeröz kistler mine organının stellat retikulumunun dejenerasyonu ile odontogenezisin erken dönemlerinde meydana gelmektedir. Bazı olgularda ilgili dişte mine hipoplazisi de görülebilir. Dentijeröz kistlerde ilgili dişin kronu tamamen şekillenmiştir, bu da kron ile artmış mine epiteli arasındaki sıvının birikiminden gelişebileceği iddiasını güçlendirmektedir (114, 98). Radyolojik olarak dentijeröz kist sürmemiş dişin kronunun çevresinde gelişen uniloküler radyolüsent bir lezyon olarak izlenmektedir. Radyolüsensinin çevresinde iyi bir sınır ve sklerotik bir hat izlenmektedir, ancak inflamasyon mevcutsa sınır düzensiz hale gelebilir. Büyük dentijeröz kistler lezyon içindeki kemiğin trabekülasyonundan dolayı multiloküler bir görüntü verebilir. Genellikle sürmemiş 3. molarlar bölgesinde görüldüğü rapor edilmiştir. Küçük dentijeröz kistler asemptomatiktir ve rutin radyolojik kontrol sırasında ortaya çıkmaktadır. Dentijeröz kistler büyüüp ilgili alanda kemikte ağrısız bir ekspansiyona neden olabilir. Büyük lezyonlar fasiyal asimetriye neden olabilir ve çok sık görülmez. Radyolojik olarak büyük boyuta ulaşmış bu tür lezyonlara dentijeröz kist tanısı konulsa da, aslında bu büyüklükteki lezyonların operasyon sırasında genellikle odontojenik keratokist ya da ameloblastoma oldukları ortaya çıkmaktadır (98).

Dentijeröz kistin histopatolojik bulguları inflame olup olmamasına göre değişir. İnflame olmayan dentijeröz kistte fibröz bağ dokusu duvarı zayıflatır ve önemli oranda glikozaminoglikan ana maddesi içerir. Epiteli iki ya da dört sıralı kübik epitel hücrelerinden oluşur. İnflame dentijeröz kistlerde fibröz duvar daha kollajenizedir ve bol miktarda kronik inflamatuvar hücreler

infiltrate olmuştur. Epitelde rete çıkıntıları ve skuamoz gelişimin gözlenmesiyle birlikte çok miktarda hiperplaziye rastlanmaktadır. Dentijeröz kist epitelinde fokal alanlarda müköz hücreler bulunmaktadır. Nadiren siliar epitel hücreleri mevcuttur. Fibröz kist duvarında seyrek olmakla beraber küçük adacıklar halinde sebaceöz hücreler görülmektedir. Bu müköz, siliar ve sebaceöz elementler dentijeröz kistin odontojenik epitelinde bir multipotansiyel yarattığına inanılmaktadır. Dentijeröz kist duvarının gros muayenesinde luminal yüzeyde tek ya da daha fazla nodüler kalınlaşma alanları görülebilir. Bu alanlar erken neoplastik değişimi tespit etmek için mikroskopik olarak da incelenmelidir. (98).

Dentijeröz kist tedavisi, kistin sürmemiş dişle beraber dikkatlice enüklasyonu olarak yapılmaktadır. Büyük dentijeröz kistler marsüpyalizasyonlarda tedavi edilebilir. Dentijeröz kistin büyük çoğunluğunun prognozu mükemmeldir, ancak nadiren de olsa kistin tamamen çıkarılmasından sonra rekürens görülebilir. Bazı muhtemel komplikasyonlar gözardı edilmemelidir. Dentijeröz kist epitelinin neoplastik transformasyon göstererek ameloblastomaya dönüşebileceği bildirilmektedir, ancak bu şüphesiz pek sık görülen bir durum değildir. Nadiren de olsa dentijeröz kist epitelinden skuamoz hücreli karsinoma ve intraosseöz mukepidermoid karsinoma gelişebilir (98)

2.1.3. Odontojenik Keratokist

Odontojenik keratokist, gelişimsel kistler içerisinde spesifik histopatolojik bulgular ve klinik seyir açısından özel ilgi gerektiren farklı bir kisttir. 1956'da odontojenik keratokist terimi, keratin içeren her çene kistin tanımında kullanılırdı. Daha sonraları, primordial kistlerin mikroskopik olarak odontojenik keratokist olduğu bildirilmiştir. Keratinizasyon diğer odontojenik kistlerde de görülebilmesine rağmen, bu kistin özel histolojik seyri, kendisini diğerlerinden farklı kılar (114). Odontojenik keratokistin dental laminanın hücre artıklarından geliştiği artık herkesin üzerinde anlaştığı bir konudur. Bu kist, oluşma mekanizması ve biyolojik davranış olarak incelendiğinde, dentijeröz kist ve radiküler kisten farklıdır. Odontojenik keratokistin oluşması,

epitelin içinde bilinmeyen etkenler ya da fibröz duvarın enzimatik aktivitesi ile ilişkili olabilir. Bazı araştırmacılar, odontojenik keratokistin kistten ziyade, benign kistik neoplazm olarak değerlendirilmesi gerektiğini savunmaktadırlar (1, 21, 62, 126). Odontojenik keratokistler gelişimsel odontojenik kistlerin %10-20'sini oluşturmaktadır. Küçük odontojenik kistler genellikle asemptomatiktir ve rutin radyolojik muayene sırasında fark edilirler. Daha büyük odontojenik keratokistlere ağrı, şişlik ve püy drenajı eşlik eder. Odontojenik keratokistler bununla birlikte herhangi bir semptomu neden olmayabilirler. Odontojenik keratokistler kemik ekspansiyonuna neden olmadan kemiğin medullar kavitesinin içinde anteroposterior yönde büyümeye eğilimlidirler. Dentijeröz kist ve radiküler kist aynı büyüklüğe ulaştığında kemik ekspansiyonuna neden olduğundan, bu bulgu ayırıcı klinik ve radyolojik tanı açısından önemlidir. Multiple odontojenik keratokistler mevcut olabilir ve böyle hastalar Nevroid Bazal Hücreli Karsinom Sendromunun diğer bulguları açısından değerlendirilmelidir. Odontojenik keratokistler yassı ve sıklıkla kortikal marjinli, iyi sınırlanmış radyolüsent alanları gösterirler. Mandibüla gövdesinin posterioru ve yükselen ramustaki büyük lezyonlar multioküler görüntü verebilir. Olguların %25 ile %40'ında lezyonun içinde sürmemiş diş vardır, bazı durumlarda radyolojik bulgular dentijeröz kist tanısını desteklemektedir. Bu olgularda kist, muhtemelen sürmemiş dişin dental lamina artıklarından gelişmiş ve sürmemiş dişi çevreleyecek şekilde büyümüştür. Odontojenik keratokist tanısı histopatolojik bulgulara göre konur. Radyolojik bulgular genellikle yardımcı olur ancak kesin tanı için yeterli değildir (98).

Odontojenik keratokistin tipik olarak ince ve kırılabilir bir duvarı vardır, bu da, sıklıkla lezyonun kemik içinden tek parça halinde enükleasyonunu zorlaştırmaktadır (114, 98). Kistin lümeni, serum transudatına benzer temiz bir sıvı içerebilir ya da mikroskopik incelemede keratinöz artıklar olarak görülen peynirimsi materyalle dolu olabilir. Mikroskopik olarak ince fibröz duvarda aslında inflamasyon görülmez. Epitel, genellikle 6-8 hücre kalınlığındadır ve uniform stratifiye skuamöz epitel tabakasından oluşmuştur. Epitel-konnektif doku birleşim yeri genellikle düzdür ve rete uzantıları formasyonu göze

çarpmamaktadır. Luminal yüzey düzleşmiş parakeratotik epitel hücreleri içerir ve dalgaları yada oluklu bir görüntü sergiler. Bazal epitel tabaka, sıklıkla hiperkromatik görünen, küboidal ve kolumnar hücrelerden oluşan bir tabakadır. Fibröz duvar içinde küçük satelit kistleri, kordlar ya da odontojenik epitel adacıkları görülebilir. Bu yapılar olguların %7 ile %26'sında görülmektedir. İnflamasyon varlığında odontojenik keratokistin tipik histopatolojik bulguları değişiklik gösterir. Parakeratinize luminal yüzey ortadan kalkabilir ve ortadan kaybolan karakteristik çitlenme gösteren bazal tabaka ile beraber epitel, rete uzantıları oluşturmak için proliferer olur. Epitelyal yüzey alanlarında ortokeratinize bir yüzey gelişebilir. Odontojenik keratokist tanısı, klasik belirtiler kistin diğer bölümünde görülmezse konulamaz (98).

Bazı araştırmacılar mikroskobik olarak ortokeratinize bir varyantın mevcut olduğunu ve bunun odontojenik keratokistin bir alt grubu olduğunu bildirmişlerdir. Ancak odontojenik kistlerin klinik ve histopatolojik bulguları, tipik odontojenik (parakeratinize) kistlerden belirgin olarak farklılık gösterir (98, 106).

Odontojenik keratokist tanısı, klinik ve radyolojik incelemeyle tahmin edilebilmesine rağmen kesin tanı için histopatolojik inceleme gerekmektedir. Odontojenik keratokistler, diğer odontojenik kistler gibi küretaj ve enükleasyonla tedavi edilir. Kistin tamamının tek parça halinde çıkartılması, kist duvarının ince ve kırılğan yapısından dolayı çok zordur (98). Diğer odontojenik kistlerin aksine odontojenik keratokistler tedaviden sonra tekrar etme eğilimindedirler. (98, 114). Bunun, orijinal kistin operasyon sırasında çıkartılmayan parçalarından mı yoksa orijinal kist bölgesindeki dental lamina artılarından genişleyen, bir kistten mi geliştiği hala belirlenememiştir (98).

Kistin ayırıcı tanısı yapılırken dentijeröz kist, ameloblastoma, kalsifiye odontojenik kist, adenomatoid odontojenik tümör, ameloblastik fibroma ve diğer seyrek görülen odontojenik tümörler gözardı edilmemelidir. Ayrıca odontojenik keratokistler travmatik kemik kisti, santral dev hücreli granüloma, lateral periodontal kist gibi pek çok fissural kistten iyi ayırt edilmelidir. Vasküler anormaliler, benign kemik tümörleri, plazmasitoma, myeloma ve

metastatik düşük dereceli karsinomalar gibi non-odontojenik tümörlerde benzer bulgu verebilir (82, 98, 114).

Çeşitli araştırmalar sonucu rekürens sıklığı % 5-62 arasında bildirilmiştir. Bu geniş varyasyon, çalışılan olguların tam sayısına, takip süresinin uzunluğuna, odontojenik keratokistlerin inklüzyon ve enklüzyonuna bağlıdır. Rekürens en çok mandibüler odontojenik keratokistlerde, bölge olarak da posterior gövde ve yükselen ramustaki lezyonlarda meydana gelmektedir (98, 114). Bazı hekimler, kavitenin enükleasyondan sonra kimyasal koter ajanlarıyla yada canavar frezle periferal osteotomi yaparak rekürens sıklığının azaldığını bildirmişlerdir (114). Odontojenik keratokistler genellikle ilk cerrahiden sonraki 5 yılda tekrarlamasına rağmen, ilk 10 yılda fark edilmeyen belirgin sayıda rekürens olduğu bildirilmiştir. Cerrahi tedavi sonrası uzun süreli klinik ve radyolojik takipler önerilmektedir. Rekürens eğilimine rağmen odontojenik keratokistin prognozu mükemmeldir. Lokal olarak agresif seyreden bir odontojenik keratokistin, zaman zaman lokal rezeksiyon yada kemik greftlemesi yöntemi ile tedavi edilmesi gerekebilir. Odontojenik keratokistden gelişen karsinomalar belirtilmesine rağmen bu oran, diğer odontojenik kistlerin malign transformasyon gösterme olasılığından fazla değildir. Multiple odontojenik keratokisti olan hastalar Nevoid Bazal Hücreli Karsinom Sendromu belirtileri açısından değerlendirilmelidir (98, 114).

2.1.4 Nevoid Bazal Hücreli Karsinom Sendromu

Nevoid Bazal Hücreli Karsinom Sendromu (NBHKS) otozomal dominant geçiş gösteren bir hastalıktır. En önemli komponentleri; deride bazal hücreli karsinomalar, çene kistleri, omurga anomalileri, vertebra anomalileri ve intrakraniyal kalsifikasyonlardır. Bu hastalarda başka bir çok anomali de bildirilmiştir ve muhtemelen sendromun belirtilerini göstermektedir (98).

NBHKS hastalarında bir tek bulgu olması söz konusu değildir. Hastada kranial kemiklerin çevrelerinin artmalarına neden olan frontal ve

temporoparietal kemiklerde yassılaşma görölmektedir. Gözler belirgin bir şekilde ayrı görölür ve hastaların % 40'ında gerçek oküler hipertelorizm görölür. Hafif mandibular prognatizm sıklıkla mevcuttur. Deri tümörleri sendromun major komponentidir. Genellikle ya pubertede ya da hayatın 2. yada 3. dekatında görölür, ancak ilk küçük çocuklarda görölür. Tümör çıkıntılı renkli papilden ülsere renkli plaklara kadar değişiklik gösterir. Genellikle güneş görmeyen deride ancak en çok orta yüz bölgesinde görölmektedir. Derideki tümör sayısı bir taneden birkaç yüz taneye kadar değişebilir. Palmar ve plantar pitler hastaların % 60'ında mevcuttur. Bu, bazal epiteliyal hücrelerin maturasyonunun gerilemesine işaret etmektedir. Bazal hücreli karsinomalar pitlerin üstlerinde görülebilir. Sendromlu hastaların % 60-75'inde iskeletsel anomaliler görülebilir. En sık görölen anomali bifid rib yada splayed rib (taraklı kaburga)'dir. Bu anomali bir çok kaburgayı etkileyebilir ve bilateral olabilir. Kifoskolyoz hastaların % 50'sinde görülebilir. Spina bifida okulata ve metakarpallerin ksalması gibi anomaliler de daha seyrek olmakla birlikte görülebilir. Falx selebrinin anteriopoterior kafa grafisinde görölen belirgin lamellar kalsifikasyonu hastaların çoğunda mevcuttur. Over fibromaları ve medullablastomalar çoğu hastada meydana gelir. Paratiroid hormonu hassasiyetinin azalması bu hastalığın belirtileri arasında yer almasına rağmen son dönemlerde tartişılmaya başlanmıştır (8, 33, 98, 114).

Çene kistleri en belirgin bulgudur ve hastaların % 75' inde görölür. Bu kistler odontojenik keratokistlerdir ancak izole odontojenik keratokistler ile sendromlu hastalarda görölken odontojenik keratokistler arasında bazı farklılıklar vardır. Bu kistler multiplerdir, bazı hastalarda ayrı ayrı on kist görülebilir (98).

Radyolojik olarak kistler arasında belirgin bir fark yoktur. Sendromlu hastaların kistleri, dentijeröz kistle karışmasına neden olan bir dişin kronu ile ilişkili olabilir(114).

Sendromlu hastaların odontojenik keratokistleri, histopatolojik olarak farklılık göstermez ancak izole olanlara göre daha çok satalit kiste, fibröz

kapsül içindeki odontojenik epitel artıklarına ve solid adacıkların epiteliyal proliferasyonuna rastlanır. NHBKS anomalileri minördür ve hayatı tehlikeye sokmaz. Prognoz genellikle deri tümörünün davranışına bağlıdır. Birkaç olguda agresif bazal hücreli karsinomaların, beyin ve diğer hayati organlara invazyon yaparak hastanın ölümüne neden olduğu bildirilmiştir. Çene kistleri enükleasyonla tedavi edilir ancak başka kistler gelişmeye devam edecektir. Multiple kistlerin operasyonları, çeşitli derecelerde çene deformitesi gelişimine neden olabilir. Sendromlu hastaları kistlerinin infeksiyonu nispeten yaygındır. Genetik konsültasyonu faydalı olabilir (98).

2.2 Odontojenik Tümörler

Odontojenik tümörler farklı histopatolojik tip ve klinik davranış sergileyen kompleks bir grup lezyondur. Bazı lezyonlar geçek neoplazmlar olup, nadiren de olsa malign transformasyon sergilemesine rağmen bazıları tümöre benzer malformasyonlar göstermektedir (98).

Odontojenik Tümörlerin Sınıflandırılması

A. Odontojenik Ektomezenşim İçermeyen Odontojenik Epitel Kaynaklı Tümörler

1. Ameloblastoma
2. Kalsifiye epiteliyal odontojenik tümör
3. Skamoz odontojenik tümör
4. Şeffaf hücreli odontojenik tümör

B. Dental Sert Doku Oluşmu Görülen ya da Görülmeyen ve Odontojenik Ektomezenşim Mevcut Olan Odontojenik Epitel Kaynaklı Tümörler

1. Ameloblastik fibroma
2. Ameloblastik fibro-odontoma
3. Odontoameloblastoma tümörleri
4. Adenomatoid odontojenik tümör

5. Kompleks odotoma
6. Kompound odontoma

C. Odontojenik Epiteli İçeren Yada İçermeyen Odontojenik Ektomezenşim Kaynaklı Tümörler

1. Odontojenik fibroma
2. Miksoma
3. Sementoblastoma

Odontojenik tümörler, epitel ve odontojenik ektomezenşim arasındaki etkileşimi göstermektedir. Bazı odontojenik tümörler odontojenik ektomezenşim katkısı olmadan, sadece odontojenik epitelden oluşmuşlardır. Mikst odontojenik tümörler, odontojenik ektomezenşim ve epitelden oluşmaktadır. Dental sert doku, bu oluşum içinde yer alabilir. 3. grup odontojenik tümörler asıl olarak odontojenik ektomezenşimden oluşmaktadır. Odontojenik epitel de bu oluşumda yer alabilmesine rağmen, patogenezinde önemli herhangi bir rol oynamamaktadır (98).

2.2.1. Ameloblastoma

Ameloblastomalar en sık karşılaşılan klinik olarak belirgin odontojenik tümörlerdir. Görülme sıklığı odontomalar çıkarıldığında diğer tüm odontojenik tümörlerin toplamı kadardır. Ameloblastomalar odontojenik epitel orijinli tümörlerdir. Teorik olarak mine organın hücre artıklarından, odontojenik kistlerin epitelinden veya oral mukozanın bazal hücrelerinden gelişebilir. Ameloblastomalar yavaş büyüyen, lokal olarak invaziv ve çoğu vakada bening görüntüdedir (98).

Ameloblastomaların 3 değişik klinik görüntüsü vardır. Bunların prognozu ve tedavi yaklaşımları farklılık gösterir (98).

1. Konvansiyonel solid veya multikistik (%86)
2. Unikistik (%13)
3. Periferal (ekstraosseöz) (%1)

2.2.2. Konvansiyonel solid veya multikistik Ameloblastoma

Konvansiyonel solid veya multikistik ameloblastoma geniş bir yaş grubunda görülebilir. 10 yaş altı çocuklarda nadir görülür ve 10 ile 19 yaş arası grupta göreceli olarak nadirdir. 3 üncüden 7inci dekata kadar yaklaşık olarak benzer görülme sıklığı vardır. Bazı çalışmalar siyah ırkta daha sık görüldüğünü bildirirse de farklı çalışmalar ırklar arasında görülme sıklığı olarak bir farklılık olmadığını bildirmektedir (98).

Tümör genellikle asemptomatiktir ve küçük lezyonlar ancak rutin radyolojik muayene sırasında saptanabilir. Klinik olarak ağrısız şişlik veya kemiğin ekspansiyonu şeklinde görülür. Çok büyük boyutlara ulaşmış tümörlerde bile ağrı ve parastezi nadirdir. Ameloblastomaların % 85 i mandibulada özellikle mandibula yükselen ramus bölgesinde görülür. % 15 ameloblastoma maksillada ve genellikle posterior bölgelerinde görülür (98).

Radyolojik olarak en sık karşılaşılan görüntü multiloküler radyolüsent lezyon şeklindedir. Bu görüntü rayolüsent odaklar büyük olduğunda sabun köpüğü veya odaklar küçük olduğunda arı kovanı görüntüsü olarak tarif edilir. Bukkal ve lingual ekspansiyon genellikle mevcuttur. Çevre dişlerin köklerinde rezorpsiyon genellikle mevcuttur. Pek çok vakada, gömülü kalmış bir diş genellikle mandibüler gömülü 3. molar lezyonla ilişkilidir. Solid ameloblastomalar bazen herhangi bir kisti çağrıştıran uniloküler radyolüsent lezyonlar olarak ta görülebilir. Bu radyolüsent lezyonların kenarları genellikle düzensiz dalgalı bir görüntü sergiler. Multiloküler radyolüsent görüntü yüksek oranda ameloblastomayı çağrışırsa da bazı odontojenik ve non-odontojenik lezyonlarda benzer radyografik görüntüye sahip olabilir (98).

Konvansiyonel solid veya multikistik ameloblastomalar yüksek oran da kistik değişime eğilimlidir ve çoğu solid ve kistik yapıların kombinasyonu şeklinde görülür. Oluşan kistler mikroskobik düzeyde olabileceği gibi tümörün genelini içeren multiple büyük kistler şeklinde de olabilir. Konvansiyonel ameloblastomaların birkaç mikroskobik alt grubu belirlenmiştir ancak bu alt grupların tümörün genel davranışında çok az etkisi olduğu saptanmıştır. Büyük tümörlerde bir kaç mikroskobik alt grubun kombinasyonu bir arada

olabilir. Daha sık görülen Foliküler ve pleksiform tiplerinin yanı sıra akantomatöz, granüller hücreli, dezmozplastik ve basal hücreli tipleride histolojik olarak görülür. Foliküler tipi en sık rastlanan ve kolay ayırt edilen tipidir (98).

Foliküler tip ameloblastoma

Masif fibroz konnektif doku stroması içinde mine organı epiteline benzeyen epitel adacıkları görülür. Epitel adacıkları dağınık şekilde organize olmuş angüler hücrelerden oluşan merkezle birlikte ve mine organının stealat retikulumuna benzer. Merkez tek sıra halinde yüksek kolumnar ameloblast benzeri hücrelerle çevrelenmiştir. Bu hücrelerin nukleusları basal membranın tersi kutubunda yerleşmişlerdir. (reversed polarity). Diğer bölgelerde hücreler daha küboidal ve basal membrana benzer şekildedir. Kistik oluşumlar epitel adalarının içinde bulunan mikro kistlerden birkaç veya daha fazla santimetre çapına ulaşabilen makroskopik kistlere kadar değişiklik gösterebilir (98).

Pleksiform tip ameloblastoma

Uzun, birbiriyle birleşen şeritler veya daha büyük tabakalar halinde odontojenik epitel içerir. Bu şerit veya tabakalar halindeki epiteller kolumnar veya küboidal ameloblast benzeri hücrelerle bağlantılı ve zayıfça organize olmuş epiteliyal hücrelerle çevrilidirler. Çevredeki stroma dağınık organize olmuş ve vaskülerizedir. Bu tipte kist formasyonu pek görülmez. Ancak oluşursa epitelin kistik değişiminden çok, stromal dejenerasyonundan oluşur (98).

Akantamatöz tip ameloblastoma

Foliküler ameloblastomanın epitel adacıklarının santral kısımlarında keratin formasyonu ile ilişkili yaygın skuamöz metaplazi varlığında Akantamatöz tip ameloblastoma olarak adlandırılır. Bu değişiklik lezyonun daha agresif olduğunu göstermektedir. Bu tür bir lezyon, skuamöz hücreli karsinom veya skuamöz odontojenik tümörle karışabilir (98)

Granüler hücreli tip ameloblastoma

Ameloblastomada bazen epiteliyal hücre gruplarının, granüler hücrelere transformasyonu görülmektedir. Bu hücrelerin stoplazması eozinofilik granüllerle doludur. Bu hücrelerin yapısı bilinmemektedir. Ultrayapısal ve histokimyasal seviyede eozinofilik stoplazmik granüller, lizozomlara benzemektedir. Bunlar her ne kadar yaşlanma veya uzun süreli lezyonlardaki dejeneratif değişiklikler olarak düşünülmüşse de bu tip genç hastalarda ve klinik olarak agresif lezyonlarda görülmüştür. Bu granüler hücre değişiklikleri ameloblastomada yaygın olarak gözüküyorsa o zaman granüler tip ameloblastoma olarak düşünülmelidir (98).

Dezmoplastik Tip

Bu tipte yoğun kolojenize stroma içinde küçük adacıklar yada kordonlar halinde odontojenik epital bulunmaktadır. Periferik kolumnar ameloblast benzeri hücreler, epitel adacıkları içinde göze çarpmaktadır. Bu tip, maksillanın anteriorunda daha sık görülür. Radyolojik olarak nadiren ameloblastomaya benzetilmektedir, daha çok fibro-osseöz lezyonlara benzemektedir. Bu mikst radyolüsent ve radyopak görüntüden kaynaklanmaktadır (98).

Bazaloit Tip

En seyrek olarak görülen tiptir. Bu lezyon uniform bazaloit hücrelerin adacıklarından oluşmaktadır. Adacıkların merkezinde stellat retikulüm bulunmaktadır. Odakların periferik hücreleri kolumnardan çok kuboidaldir (98).

Konvensiyonel solidiyada mutikistik intraosseöz ameloblastoma çeşitli yollarla tedavi edilmektedir. Bu tedavi seçenekleri basit enükleasyon ve küretajdan enblok rezeksiyona kadar değişebilir (98, 114). En doğru tedavi seçeneği yıllardır tartışılmaktadır. Konvensiyonal ameloblastoma, kemik rezorpsiyonu radyolojik olarak görülmeden önce lezyonun periferikindeki zarar görmemiş kemik trabeküllerine infiltrat olma eğilimindedir. Böylece tümörün gerçek sınırı, radyolojik olarak görülenden daha yaygındır. Tümörü küretajla çıkarmak kemik içinde küçük tümör adacıklarının kalmasına neden

olur ve bu daha sonra rekürens gelişimine yol açar. Küretajdan sonra rekürens oranı %55-90 arasında bildirilmiştir. Rekürens gelişmesi bazen yıllar alabilir. 5 yıllık takip sonucunda tümörün tespit edilmemesi hastanın tamamen iyileştiği anlamına gelmemektedir. Marjinal rezeksüyon en sık kullanılan tedavi olmasına rağmen %15lik bir rekürens oranı bildirilmiştir. Pek çok cerrah rezeksiyon sınırının, tümörün radyolojik sınırını 1 cm geçecek şekilde planlanması gerektiğini savunmaktadır (98).

Maksillanın posteriorunda görülen ameloblastoma cerrahi sınırın belirlenmesinin güçlüğünden dolayı tehlikelidir. Radyoterapi ameloblastoma için nadiren tercih edilir ancak bazı çalışmalarda ameloblastomanın radyosensitif olduğu bildirilmiştir (98).

Konvansiyonel ameloblastoma, vital yapılara hızla yayılırken hastaların kaybedilmesine yol açan dirençli, infiltratif bir neoplazm olarak kendini gösterir. Bununla beraber tümörlerin çoğu hayatı tehdit eden lezyonlar değildir. Ameloblastoma nadiren gerçek malign bir seyir gösterir (98).

2.2.3. Unikistik Ameloblastoma

Unikistik ameloblastoma, çene kistlerine benzer klinik, radyolojik yada gros belirtiler gösteren ancak histolojik incelemede kistik kavitenin epitalinde numinal ve/veya mural tümoral büyümeye rastlanan kistik lezyonlardır (76). Bu yüzden tedavisi ayrı bir önem gerektirir. Ünistik ameloblastoma, yapılan çalışmalara göre tüm intraosseöz ameloblastomaların %10 ile %15'ini teşkil eder. Ünistik ameloblastomanın benovo olarak bir neoplazmdan mı, yoksa non-neoplastik kist epitelinin neoplastik transformasyonundan mı kaynaklandığı hala tartışılmaktadır. Her iki mekanizmayla da meydana gelebilme olasılığı vardır ancak hangi hastada hangi yolla geliştiğinin belirlenmesi imkansızdır (98).

Unikistik ameloblastoma genç hastalarda, sıklıkla hayatın ikinci on yılında görülmektedir. Unikistik ameloblastoma %90'dan daha fazla mandibulada, sıklıkla posterior bölgede görülmektedir. Lezyon genellikle asemptomatiktir ancak çok büyük lezyonlar çenede ağrısız şişliğe neden olabilir. Çoğu hastada bu lezyonlar, sürmemiş mandibular 3.molar dişin kronunun

çevresinde dairesel bir radyolüsensi olarak tarif edilir. Ameliyat bulguları lezyonun kist olduğu yönündedir ancak Ünistik ameloblastoma tanısı, speysmenin mikroskopik incelenmesinden sonra konur (98).

Unistik ameloblastomanın üç histopatolojik varyantı vardır.

Luminal Ünistik Ameloblastoma

Kistin luminal yüzeyinde görülmektedir. Lezyon fibrotik bir kist duvarı ile çevrilidir ve içi tamamen ya da kısmen ameloblastik epitelden oluşmuştur. Bu, ters polarite ve baziller stoplazmik vakuolizasyon gösteren hiperkromatik çekirdeğe sahip, kolumnar ve küboidal hücrelerin bazal tabakasını göstermektedir. Çevreleyen epital hücreleri zayıf bir bağ oluşturmaktadır ve sitellat retikuluma benzemektedir. Bu bulgu inflamatuvar ödem ile ilgili değildir (98).

İntraluminal Ameloblastoma

Mikroskobik varyanta bir ya da fazla ameloblastoma, kist sınırından lümeneye doğru çıkıntı yapmaktadır. Bu nodüller göreceli olarak küçüktür yada büyükçedir ve kist lümenini doldururlar. Bazı olgularda lümeneye çıkıntı yapan tümör nodülü, unistik ameloblastomanın pleksiform tipine benzeyen ödemli bir görüntü sergiler. Bu lezyonlar pleksiform unistik ameloblastoma olarak tanımlanır. İntraluminal hücresel proliferasyon, her zaman tamamen ameloblastomanın histopatolojik kriterlerine uymaz, ancak daha belirgin ameloblastoma bulguları speysmenin başka kısımlarında bulunmaktadır (98).

Mural Ameloblastoma

Bu varyantta kistin fibröz duvarı tipik foliküler yada pleksiform ameloblastomayla infiltrate olmuştur. Ameloblastik intfiltrasyonun derinliği ve yaygınlığı değişkenlik gösterir. Bundan dolayı tümörün yaygınlığını belirlemek için speysmenin birkaç katmanından birden çok kesitler alınmalıdır (98).

Unistik ameloblastomanın solid yada multistik tipe göre daha az agresif olduğu ve enükleasyon yada küretajla tedavi edilmesi gerektiği bildirilmektedir (98, 76, 116). Pek çok unistik ameloblastomanın klinik ve radyolojik bulgulara odontojenik kistlere benzemektedir. Bu tümörün tedavisi,

kistlerde yapıldığı gibi enükleasyon şeklinde yapılmaktadır. Ameloblastoma tanısı, kist olduğu tahmin edilen lezyon enükle edildikten sonra yapılan mikroskopik muayenede konur. Tümörün intralüminal yayılımı olsun ya da olmasın, ameloblastik ögeler kistin lümeninde bulunursa, enükleasyon tedavisi yeterli görülmektedir. Buna rağmen hasta uzun süre takip edilmelidir. Speysmende fibröz kist duvarında tümör yayılımı görülürse, tedavi farklı yapılmalıdır. Bazı cerrahlar bu durumda profilaktik ölçülerde lokal rezeksiyonun uygun olacağını savunurken bazıları da hastaları sıkı radyolojik takibe alıp rekürens geliştiğinde ileri tedavi yapmayı uygun görmektedir (98, 76).

Unikistik ameloblastomanın küretaj ve enükleasyonla tedavisi sonrasında %10 ile 20 lik rekürens oranı bildirilmektedir. Bu oran konvensiyonel ameloblastomanın aynı tedaviyi takiben görülen %50-90lık rekürens oranı ile kıyaslandığında bir hayli düşüktür (98).

2.2.4. Periferal (Ekstraosseöz) Ameloblastoma

Periferal ameloblastoma çok nadir görülür ve tüm ameloblastomaların %1'ini teşkil etmektedir. Bu tümör ya oral mukozaya komşu epitel adacıklarından yada yüzey epitelinin bazal epitel hücrelerinden meydana gelmektedir. Histopatolojik olarak bu tümör intraosseöz formun özelliklerine benzemektedir (98).

Periferal ameloblastoma ağrısız, ülseri olmayan sesil ya da saplı gingival ya da alveoral mukozal lezyondur. Klinik özellikler nonspesifiktir ve çoğu lezyonlar klinik olarak fibromaya benzemektedir. Genellikle 1,5 cm den küçüktür, ancak daha büyük lezyonlar da bildirilmiştir. Genellikle orta yaşlarda görülmektedir (98).

Periferal ameloblastoma genellikle gingival ve alveoral mukozanın posteriorunda maksillaya göre mandibulada daha sık görülmektedir. Pek az olguda yüzeyel alveolar kemik hafifçe rezorbe olmuştur, fakat belirgin bir kemik tutulumu yoktur. Alveolar yada gingival yumuşak dokulara yakın bölgelerdeki mukozada görülebilir (98).

Periferal ameloblastomada yüzey epitelinin altındaki lamina propriyayı kaplayan ameloblastoma adacıkları görülmektedir. Prolifere epitel daha çok pleksiform ve folliküler tipte tarif edilen intraosseöz ameloblastomadaki özelliklere benzemektedir. Olguların %50'sinde tümörün yüzey epitelinin bazal tabakayla ilişkili olduğu görülür (98).

Intraosseöz ameloblastomada farklı olarak periferal ameloblastoma daha selim bir klinik seyir gösterir. Tedavisi lokal olarak lezyonun eksize edilmesidir. Olguların %25'inde lokal rekürens belirtilmesine rağmen ikinci lokal eksizyondan sonra rekürens görülmez. Çok seyrek olmakla beraber periferal ameloblastomanın malign transformasyonu gösterdiği bildirilmiştir (98).

2.3. Karsinogenezis

Normal doku homeostazı, hücre çoğalması ve ölümünün düzenlenmesi ile sağlanır. Normal dokularda çoğalmayı sağlayan mekanizmalar çok hassas bir kontrol altındadır ve sonsuz çoğalma gücü sınırlıdır. Her kök hücre bölündüğünde oluşan kardeş hücrelerden biri kök hücre olarak kalırken diğeri diferansiyasyon yoluna girer. Normal doku çoğalması süreçleri, düzenleyen sinyallerin kontrolündedir. Tümör olma özelliğinin kazanılması, bu kontrol noktalarındaki değişiklikler sonucu olmaktadır. Kanser oluşumunun moleküler biyolojisi olarak tanımlanan karsinogenezis, genetik ve fenotipik seviyede çok aşamalı bir süreçtir (85,11). Oral bölgede görülen tümörlerdeki karsinogenezis, normal hücre fizyolojisini düzenleyen sinyal iletim yolları içinde yer alan genetik olayların, nitelik ve nicelik olarak değişikliğe uğramasıyla sonuçlanan karmaşık ve çok aşamalı bir süreçtir. Normal koşullar altında çok iyi kontrol edilen bu uyarıcı ve engelleyici yollar, oral epitelyal hücre biyolojisini regüle eder. Oral bölgede görülen tümörlerin karsinogenezisinin altta yatan mekanizmalarının aydınlanması, erken teşhis edilerek bireylerin yaşam sürelerinin uzamasına olanak sağlayacağı için, bu alandaki gelişmeler büyük önem kazanmaktadır (140). Ölümcül olmayan genetik hasar (mutasyon) karsinogenezisin temelini oluşturmaktadır. Genetik hasar, kimyasallar, radyasyon, virüsler, gibi çevresel faktörlerle oluşabileceği

gibi gelecek kuşaklara genetik olarak aktarılabilir. En az dört grup gen bu süreç ile ilişkilidir. Bu genler onkogenler, tümör süpresör genleri, DNA tamir genleri ve programlanmış hücre ölümünü kontrol eden genler zinciridir (11). Kansere oluşumuna yol açan genetik değişiklikler en çok tümör süpresör genlerde ve onkogenlerde meydana gelmektedir. Proto-onkogenler normal büyüme ve diferansiyasyonu düzenleyen hücresel genlerdir. Onkogenler olarak aktive edildiklerinde büyüme ve diferansiyasyon yollarının disregülasyonuna yol açarak neoplastik transformasyon olasılığını artırırlar (19). Büyüme faktörleri dahil sinyal iletim yollarında fonksiyon yapan tüm protein yapıları proto-onkogen ürünüdür. Tümör süpresör genler de normal hücresel genlerdir ancak proto-onkogenlerin aksine, inaktive olduklarında neoplastik transformasyon gibi benzer bir sonuca neden olurlar (19). Tümör süpresör genleri resesif genlerdir, böylece büyüme baskılama işlevinin elimine edilmesi için her iki kopyanın inaktive olması gerekir. İnaktivasyon, tipik olarak genin yada alelin bir kopyasının delesyonuna ve ötekine mutasyonuna bağlı olarak oluşur. Mutasyona uğrayan kopya, diğerinin inaktive ettiği için bu özelliğe dominant resesif özellik denir (85,147, 11).

Normal hücrelerde, bu önemli düzenleyici genlerin sinyallerinin dengesi, hücre büyümesi ve diferansiyasyonu koordine eder. Ancak bu sinyallerin düzeninin bozulması proliferasyonda artma yada programlanmış hücre ölümünde azalmaya neden olur. DNA tamir mekanizmaları tarafından onarılamayan daha ileri anomaliler gelişir ve hücrelerdeki anomaliler akümüle olmaya devam ettikçe neoplastik transformasyon gelişme olasılığı artar. Hücre proliferasyonu ve hücre ölümü arasındaki bu dengenin programlanmış hücre ölümü ile idamesi, oral epitel dahil tüm yenilenen hücre popülasyonunun stabilitesi için gereklidir (11). Çene kemiklerinde görülen ve herhangi bir malign transformasyon göstermeyen odontojenik kistler ile neoplastik transformasyon gösterme eğilimi olan diğer odontojenik lezyonlarda, bu süreçleri belirleyen genlerin tespit edilmesi, bu lezyonların patogenezi, prognozu ve ileri tedavi seçeneğine ışık tutması açısından son derece önemlidir.

2.3.1 Apoptozis

İlk olarak 1972'de Kerr (56) tarafından tanımlanan apoptozis, fizyolojik yada programlı hücre ölümü demektir. Apoptozis genetik kontrol altında olup (83, 40, 31, 117, 2, 20, 93) dokunun büyüklüğünün düzenlenmesinde mitozun tam tersi rol oynar (56). Apoptozisin, hücrel diferansiyasyon ve maturasyon gibi normal düzenleyici mekanizmaların yanı sıra bir çok fizyolojik ve patolojik olaydan sorumlu olduğu düşünülmektedir (20, 115). Hücre ölümüyle sonuçlanan apoptozis, biyolojik ve morfolojik olarak, akut patolojik hücre ölümü olarak tarif edilen nekrozdan farklılık gösterir. Hücrel nekrozda hücreler yaralanmayı takiben hızlıca şişerler, lizise yatkın hale gelirler ve membran bütünlüğü bozulur. Hücre içerikleri ekstrasellüler boşluğa yayılır ve inflamatuvar yanıt oluşur. Bu şekilde hücre ölümü inflamatuvar cevabını da uyaracağından, nekrotik hücre ölümleri embriyonel gelişim veya doku hücrelerinin yenilenmesi sürecinde görülmesi dokularda tahrip edici etkilere neden olabilir (58). Apoptoziste ise çekirdek ve sitoplazma büzülür, fragmanlara ayrılır. Oluşan bu apoptotik cisimlerden ekstrasellüler ortama hücre içeriği sızmaz. Apoptotik hücreler makrofajlar yada komşu hücreler tarafından hızla fagosite edilir. Böylece inflamasyon oluşturmadan yok olurlar (112, 83, 31, 108). Apoptozis çok hücreli organizmalarda hücre proliferasyonunun karşıtı olan önemli bir mekanizmadır ve ikisi arasındaki homeostatik denge, organizmanın gelişimi ve devamı için zorunludur. Embriyolojik gelişim sırasında, erişkin hayatta gerekmiyecek dokular apoptozise uğrayarak yok olurlar. Erişkin hayatta ise organların sabit sayıda hücrelere sahip olmaları ve farklılaşmış işlevlerin devamı, proliferasyon ile ölüm arasındaki dengenin korunması ile olur (26, 117,93, 120). Apoptozis , fizyolojik işlevi dışında patojenlere karşı savunma görevi de görür. Apoptozis memeli morfogenezinde organların şekillenmesini sağlar ve varlığı kendisi için tehlike oluşturan infekte yada genetik olarak hasarlı veya kendine karşı immünolojik olarak reaktif olan hücreleri ortadan kaldırır (26, 31, 2, 120).

2.3.2 Apoptozis ve Kanser

Doku büyürken, çoğalan hücrelerin düzenlenmesinde önemli homeostatik fonksiyon yapan apoptotik süreç, tümör gelişiminde, progresyonunda ve tedavisinde önemli rol oynamaktadır (57). Normalde hücre proliferasyonu ile hücre ölümü bir denge halindedir ve bu şekilde dokular belirli hücre sayılarını korurlar. Bu sürecin defektif regülasyonunun kanser, AIDS, otoimmün hastalıklar ve santral sinir sisteminin dejeneratif hastalıklarının etyolojisinde etkisi olduğu ileri sürülmüştür (18). Bu hastalıklarda, apoptotik ölüme uğraması gereken DNA'sı hasar görmüş hücreler yaşamaya devam edecek ve kontrolsüz bir çoğalma gerçekleşecektir. Apoptozisin genetik kontrolü tam olarak anlaşılmamıştır. Birçok araştırma, bazı onkogen, tümör süpresör gen ve büyüme faktörlerinin bu sürecin düzenlenmesinde etkili olduğunu ortaya koymuştur (90, 57, 36, 120).

İnaktivasyonları tümörigenezise yol açan p53, DCC (deleted in colon cancer) ve retinoblastom geni (RB) gibi tümör süpresör genlerin keşfi, insan karsinogenezisini anlamamızda yeni ufuklar açmıştır (73). Son zamanlarda üzerinde en çok araştırma yapılan gen p53 genidir. Bu genin hücre proliferasyonunda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Normal p53 işlev kaybının, invitro olarak hücre transformasyonu ve invivo olarakda neoplazmların gelişimi ile ilişkili olduğu öne sürülmektedir (42, 152,19, 130)

2.4 p53 Tümör Süpresör Gen

p53 Proteini, ilk olarak Simian Virus 40 (SV40) ile enfekte veya transforme hücrelerde büyük tümör antijenine bağlanan bir protein olarak bildirilmiştir (73, 89). "Wild tip" p53 geni, insan 17. kromozomunun kısa kolunda yer alır ve insan kanserlerinde en sık değişikliğe uğrayan gendir (92, 47, 85, 73,89).

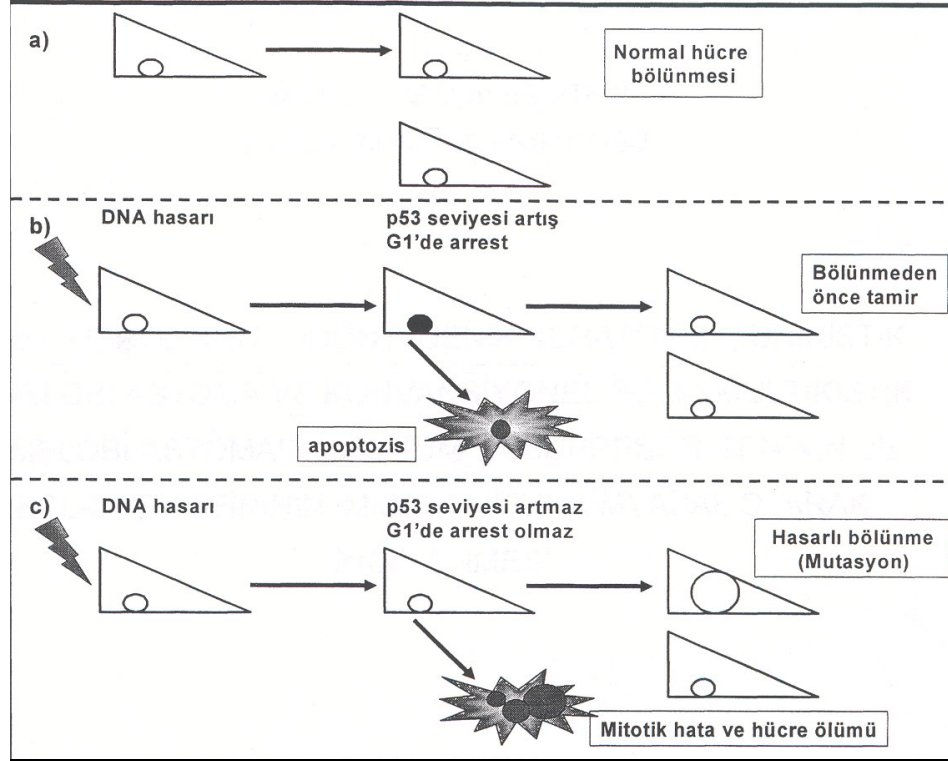
Geçmiş yıllarda p53 geninin, içerisinde hücre siklus kontrolü, DNA tamiri, genom stabilitesi, programlanmış hücre ölümü (apoptozis), diferansiyasyon ve anjiyogenezisin de bulunduğu çok çeşitli hücresel

olaylarda anahtar role sahip olduğu gösterilmiştir (89, 130,151). Aynı adla anılan nükleer bir fosfoproteini kodlayan p53, 53 kilodalton ağırlığında 393 amino asitten meydana gelmekteir (47, 105). Bu gen hücre büyümesi ve transformasyonunu baskılayarak hücre çoğalmasını kontrol eden faktörlerin başında yer almaktadır (30).

p53' n Wild tip formu tümör süpresör geni işlevi görür ve mutant formu tümörijenik aktiviteyi gösterir (75). Wild tip p53 proteini "moleküler polis" olarak hareket eder ve genom bütünlüğünün devamlılığını kontrol eder (71, Sionov ve Haupt, 1999). Fizyolojik koşullarda normal hücre bölünmesi için p53' n gerekliliğini gösteren herhangi bir kanıt yoktur (73,92, 19). Wild tip p53, 6-20 dakika gibi kısa bir yarı ömüre sahiptir ve immünohistokimyasal yöntemlerle tespit edilemez (102).

2.4.1. DNA Hasarı ve p53

p53 Proteini, DNA hasarı, hipoksi, nükleotid eksikliği, hiperoksi, redoks potansiyeli değişiklikleri ve aktive onkogenler gibi çeşitli hücresel streslere cevap olarak apoptozis veya hücre siklus arestinde kritik bir rol oynar. Aktive olan p53, hedef DNA'ya sekans spesifik bağlanarak transkripsiyon (kopyalanma) faktörü olarak etki eder (71, 153, 30). Genetik hasara uğramış hücrelerin eliminasyonu fonksiyonel p53 proteini varlığına bağlıdır (71). DNA hasarını takiben p53 proteini hızlı bir şekilde birikerek aktive olur (89,110, 130). Genomun gardiyanı olarak bilinen p53 proteini, DNA hasarında hücre siklusunu G1 fazında durdurarak S fazına girmesini engeller. Bu sayede, genetik defekt düzeltilene kadar proliferasyonu engelleyerek DNA'nın onarımı için hücrenin zaman kazanmasını sağlar. Onarım başarısız olursa, p53 apoptozisi tetikleyerek mutasyona uğramış hücrelerin kendi kendini yok etmesini sağlar (şekil 2.1) (71, 89).



Şekil 2.1 p53 proteininin işlevi (71)

Hücre siklusu sırasında duraksatılmış hücreler, DNA'larını onararak ya siklusa geri dönerler yada diferansiye olurlar. Onarımı gerçekleştiremeyerek mutasyona uğrayan hücreler ise apoptozis yönünde tetiklenir. p53, bu etkisini proto-onkogenlerden apoptozisi stimüle eden bir ölüm proteini olan bax'ı indükleyerek ve anti-apoptotik ajan-olarak görev yapan bcl-2 genini baskılayarak gerçekleştirir. p53 geninin işlev yapamadığı durumlarda apoptotik cevap aktive olmaz, DNA hasarlı hücre proliferasyona devam eder ve malign koloniler oluşur (30).

Ayrıca, DNA hasarını takiben, hücrelerin G1'de arest olmayıp, S yada G2 fazında arest olması da tamir için zaman kazanmayı sağlamaktadır. Bununla birlikte bazı terapötik ajanlar p53'ü etkileyerek G2'deki aresti modifiye edebilir. p53, G2 aresti için gerekli olmamasına rağmen, kafeinin, aresti durdurmasını engellediği bilinmektedir. UCN-01 (staurosporin), streptomices staurospores bakteriden izole bir proteinkinaz C inhibitörüdür ve

apoptozis indükleyicisi olarak pek çok nörolojik hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır .

2.4.2 Mutant Tip p53

Herhangi bir nedenle genetik değişime uğrayan p53 geni, tümör süpresör gen olma özelliğini kaybeder (121). p53 insan kanserlerinde en sık değişikliğe uğrayan gen olarak bilinir (47, 135, 89). p53 genindeki biyolojik değişiklikler proteinin aşırı salınımı, nokta mutasyonlar yada delesyon şeklinde izlenir (70). Nokta mutasyonlar (missense) p53 geninde %90'dan fazla meydana gelmektedir (71, 89, 94, 110). Mutant tip p53 geni hücre siklusunu kontrol etme yeteneğine sahip değildir. DNA hasarı olduğunda hücreyi G1'de durduramaz. Ayrıca DNA'ya bağlanma özelliği olmadığından transkripsiyonu da kontrol edemez (55, 47, 89). Mutant tip p53'ün wild tip p53 aktivitesini inhibe ederek yarılanma ömrü uzun mutant forma soktuğu gösterilmiştir (10, 71). Tümör oluşumu ile ilişkili bazı virüslerin (adeno virüs, simian virüs 40, HPV) p53'ün inaktivasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (28, 30, 48, 119).

p53 mutasyonları ile, p53 proteininin genom gardiyanı görevi ortadan kalkmakta ve DNA zedeleyici etkenlerin hücreyi etkilemelerine ortam hazırlanmaktadır (89).

p53'ün insan kanserleri içinde en çok mutasyona uğrayan ve dolayısı ile genetik değişikliklerin birikimine yol açarak normal hücre büyümesi kontrolü ve terminal diferansiyasyonunun bozulmasında etkili bir gen olduğu bilinmektedir. p53 tümör süpresör geni, bu fikirden yola çıkarak pek çok kanser araştırmalarına konu olmuştur. Pek çok araştırmada p53 geninin çeşitli analizler sonucu pozitif çıkması tümör gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. p53 geni ekspresyonu primer akciğer kanserlerinde (50), baş boyun bölgesinde görülen skuamöz hücreli karsinomlarda (38, 87, 129, 88, 35, 70, 100, 109), çene kemiklerinde meydana gelen osteosarkomlarda (103), malign mukozal lezyonlarda (102), bronşial displazi ve akciğer skuamöz hücreli karsinomlarda (17, 99), özefajial skuamöz hücreli karsinomlarda (118), kolorektal neoplazmlarda (6) gastirik prekanseröz neoplazmlarda (127),

lenfoma ve reaktif lenf nodu ile lenfatik malignensilerde (143, 132), benign deri lezyonları ve UV ile irradiye olmuş normal insan derisinde (43, 133) araştırılmıştır. Bu tümör süpresör genin aşırı ekspresyonu bazı yazarlar tarafından direkt tümörün malignensisine bağlanırken, bazı benign lezyonlarda neden kuvvetli ekspresyona rastlandığı ve her ekspresyonun malign transformasyon ile ilişkilendirilmesi mi gerektiği tartışma konusu olmaya devam etmektedir.

2.5. Nitrik Oksit

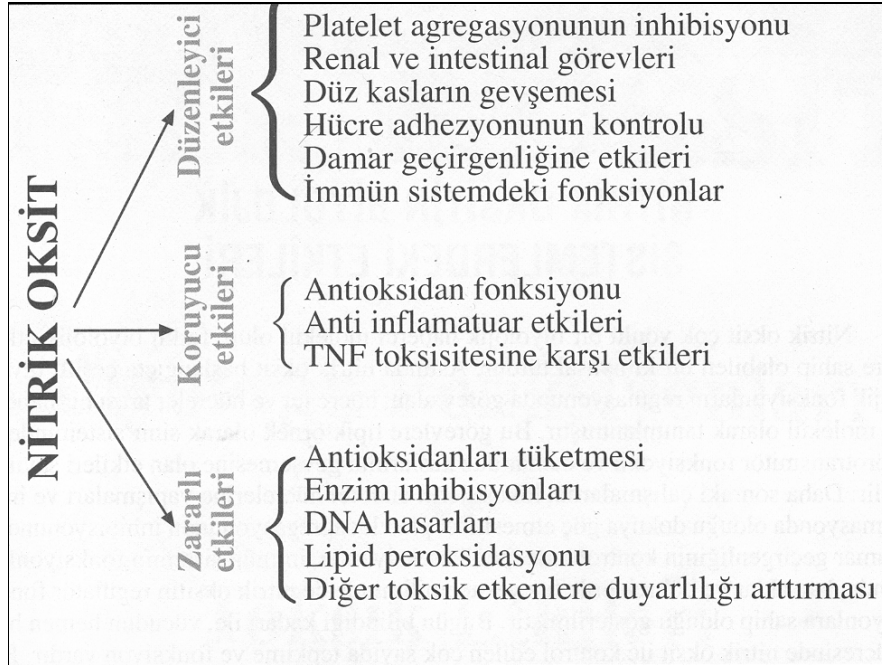
Nitrik Oksit (NO) soğuyan gezegenin atmosferinde oluşmuş dünya üzerindeki en eski moleküllerden biridir. Belçikalı bilim adamı Jan Baptista van Helmont 1610 civarında NO'ı laboratuarda ilk sentezleyen kişi olarak tanımlanabilir (16). 1772'de Joseph Priestley buna "nitröz hava" adını vermiş ve bitkilerin hayatını desteklemediğini ancak maruz kalan etin bozulmasının yavaşladığını tespit etmiştir (16). 1980'lerin başında NO'in bakterisidal bir ajan olarak gözden geçirilmiştir ancak 1987'de endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF)'ün işlevlerinden sorumlu kimyasal olduğu bulunmuştur (104, 51). Bu buluşu takiben, NO ile ilgili çalışmalar çok fazla sayıda artmıştır. Her ne kadar ilk raporlar vasküler tonus üzerine etkisine odaklanmış olsa da ilerleyen zamanlarda NO'in çok geniş bir aralıkta hem fizyolojik hem de patofizyolojik etkilerinin olduğu saptanmıştır (16, 64).

Nitrik oksit çok yönlü bir biyolojik haberci olup, farklı biyolojik etkilere sahip olabilen bir kimyasal maddedir. Aslında nitrik oksit başlangıçta çeşitli biyolojik fonksiyonların regülasyonunda görev alan, hücre içi ve hücreler arası bir haberci molekül olarak tanımlanmıştır. Bu görevlere tipik örnek olarak sinir sistemindeki nörotransmitter fonksiyonu ve damar düz kaslarının gevşemesine olan etkileri sayılabilir. Daha sonraki çalışmalarda, lökositlerin endotel hücrelerine yapışmaları ve inflamasyonda olduğu dokuya göç etmesinde, platelet agregasyonun inhibisyonunda, damar geçirgenliğinin kontrolünde, penil erreksiyonda, immun sistemin fonksiyonlarında, barsaklar ve böbreklerde tuz ve su emiliminde de nitrik oksitin regülatör fonksiyonlara sahip olduğu gösterilmiştir. Bugün, bilindiği kadarı ile, vücudun hemen her

hücresinde nitrik oksit ile kontrol edilen çok sayıda tepkime ve fonksiyon vardır. Bu nedenle vücudun her hücresinin nitrik oksitin hedefi olduğu söylenebilir (58, 134).

Nitrik oksitin hücreleri sitotoksik etkilere karşı koruyucu etkileri de tanımlanmıştır. Radikal özelliğine sahip bir bileşik olan nitrik oksit, bu özelliğin bir gereği olarak, başta oksijen radikalleri olmak üzere diğer atom merkezli radikallerle tepkimeye girerek, kendisininşç. ve tepkimeye girdiği radikalın radikalik özelliğini sonlandırır. Bu özelliği nitrik oksite tokoferoller ve askorbik asite benzer antioksidan bir özellik kazandırır. Nitrik oksitin doku ve hücreleri çeşitli bileşiklerin sitotoksik etkilerine karşı koruyucu etkisi de vardır. Bu koruyucu etkisini, lökositlerin hücre yüzeyine tutunmaları ve yapışmalarını inhibe ederek gösterir. Nitrik oksitin belirlenen bir diğer koruyucu etkisi ise Tümör nekrotizan faktör (TNF) toksisitesine karşı hücreleri koruyucu etkiye sahip olmasıdır (58).

Belirtilen regülatör ve koruyucu etkilerinin yanı sıra, nitrik oksit sitotoksik etkilere de sahiptir. Örneğin konakçının anti-tümör ve anti-patojen cevabı sırasında, nitrik oksit, üretimi gerekli olan bir moleküldür. Normal fizyolojik homeostatik kontrolde görev alan nitrik oksit, çeşitli inflamatur olaylar ve hastalıklarda sentezi artan ve doku hasarına katkıda bulunan etkenlerden biridir. Artirit, ateroskleroz, doku enfarksiyonları, dejeneratif nöral hastalıklar, diyabet ve pek çok diğer hastalıklarda nitrik oksit sentezi artar ve üretilen nitrik oksit doku hasarına doğrudan katkıda bulunur. Nitrik oksit'in sitotoksik etkilerinin moleküler düzeydeki nedeni, nitrik oksitten kaynaklanan reaktif türlerin enzim inhibisyonlarına, DNA parçalanmalarına, zar lipidlerinin oksidatif yıkımına ve hücrel antioksidanların tüketimine neden olmalarıdır (58). Nitrik oksitin bu çok yönlü etkileri şekil 2.2 de özetlenmiştir.



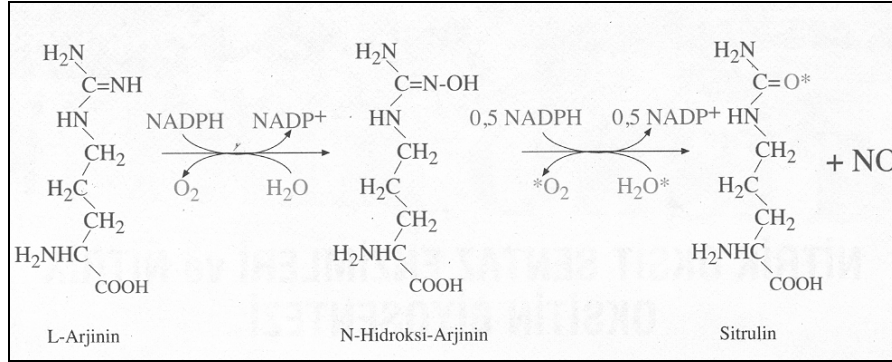
Şekil 2.2 Nitrik oksit molekülünün çok yönlü etkileri (58)

2.5.1. Nitrik Oksitin temel kimyası

Herhangi bir atom veya molekülün dış yörüngelerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektronun bulunması, söz konusu kimyasal maddenin reaktivitesini artırır. Nitrik oksitte, bir nitrojen atomu ve bir oksijen atomunun düzeni bir adet paylaşılmamış elektrona sebep olur bundan dolayı bu molekül yüksek oranda reaktif bir serbest radikaldir (58). Bununla birlikte diğer serbest radikallerden daha az reaktiftir ve fizyolojik sıcaklıklarda kendisi ile reaksiyona girmez (16). Nitrik oksit süperoksit, oksijen, tiol grupları ile reaksiyona girerek nitrozotioller, toksik bir molekül olan peroksinitrit ve nitritler gibi bir çok diğer ürünün oluşmasını sağlar (16). Peroksinitrit, nitrik oksit ve superoksit radikalleri aynı ortamda var olduğunda oluşur ve özellikle DNA ve DNA tamirinde önemli enzimlere karşı yüksek toksisitesi vardır (150). Tüm bu reaktif nitrojen oksit türleri geçiş metallere (civa ve hem-içeren proteinlerdeki demir gibi) ve çeşitli enzim ve proteinlerdeki tiol grupları ile reaksiyona girer. Sonuç olarak meydana gelen etkiler konsantrasyona bağlıdır, ancak sitokrom c oksidaz gibi enzimlerin inhibisyonuna böylece azalmış ATP üretimine ve hücre ölümüne sebep olabilir (16).

2.5.2. Nitrik oksitin sentezi

Nitrik oksit, Nitrik oksit senteazlar (NOS) adı verilen kompleks bir grup enzimlerce sentezlenir. Bunlar bilinen en karmaşık enzimlerdir ve aktiviteleri için pek çok faktör ve ko-faktöre ihtiyaç duyarlar. L-arjinin amino asiti NOS enzimlerinin substratıdır, nitrik oksit ve yan ürün olarak l-sitrulin oluşumu gerçekleşir (84). (Şekil 2.3)



Şekil 2.3 L-Arjininden Nitrik oksit sentezi (58)

Her biri ayrı genlere üretilen üç tip NOS enzimi vardır ve bulunma zamanlarına göre adlandırılmışlardır (122). NOS1 nöral dokulardan ilk saflaştırılan ve klonlananlarıdır, bu sebepten dolayı nöronal NOS (nNOS) olarak da adlandırılmıştır. Bu enzim merkezi sinir sistemi ve nöronlarda haberci molekül olarak kullanılan nitrik oksitin salınımından sorumludur (58). NOS3 endotelial hücrelerde ilk bulunan izoformudur ve endotelial NOS (eNOS) olarak adlandırılmıştır. Bu enzim endotelial gevşetici faktörü (EDRF)'ün salınımından sorumludur (58.) Sırasıyla endotel hücreler ve nöronlardan sürekli üretildikleri için NOS1 ve NOS3 konstitütif NOS (cNOS)'lar olarak ta adlandırılırlar (45, 58). Bu iki enzim aktiviteleri için doku kalsiyum konsantrasyonundaki artışlara bağımlıdırlar ve bu sebeple nitrik oksiti düşük, kısa süreli konsantrasyonlarda üretirler. Bu iki izoformun aksine NOS2 indüklenebilir – bu sebeple indüklenebilir NOS (iNOS) olarak adlandırılmıştır – kalsiyumdan bağımsız bir izoformdur (16, 32).

eNOS ve nNOS'ın tersine iNOS indüklendiğinde sürekli bir nitrik oksit üretimi gerçekleştirir (16). Ayrıca bir kere indüklendikten sonra iNOS enzimi

diğer iki NOS izoformuna göre çok daha yüksek konsantrasyonlarda, saatlerce veya günlerce (144) nitrik oksit üretmeye devam eder.

nNOS ve eNOS izoformlarının aksine, hücrelerde iNOS izoformunun aktivasyonu DNA düzeyinde kontrol edilir. İndüklenmemiş hücrelerde iNOS aktivitesi çok düşük veya ölçülemeyecek kadar azdır. iNOS'ın en önemli indükleyicileri tümör nekrotizan faktör alfa (TNF- α), interferon gama (INF- γ), lipopolisakkaritler (LPS) ve interlökin-1 (IL-1)'dir (58, 60, 142). iNOS ekspresyonunu nitrik oksitin kendisi, TGF- β , IL-4, IL6, IL8 ve IL 10 inhibe eder ve bunlarla birlikte, glukokortikoidler, siklosporin gibi bazı immünosüpresif ilaçlar da inhibisyonda etkilidir (58, 16). (Tablo 2.1)

Tablo 2.1 iNOS indükleyicileri ve indüksiyon inhibitörleri (58)

<i>İndükleyiciler</i>
*Sitokinler (IL-1, INF- γ , TNF- α)
*Büyüme faktörleri (PDGF, FGF)
*Protein kinaz C aktivatörleri (forbol esterleri)
*cAMP-arttırıcı etkenler (forskolin, dibutiril cAMP)
<i>İndüksiyonun inhibitörleri</i>
*Sitokinler (IL-4, IL-8, IL-10, monosit kemotaktik protein-1, makrofaji deaktive eden faktör
*Büyüme faktörleri (TGF- β 1, 2, 3, PDGF-AB, PDGF-BB, IGF-I)
*Tirozin kinaz inhibitörleri (genistein, herbimycin A, Tyrphostin)
*NF- κ B inhibitörleri (pyrrolidine dithiocarbamate, diethyl- dithiocarbamate)
*Glukokortikoidler

iNOS un önemli bir regülatörü ise tümör süpresör gen olan p53' tür ve artmış hücrel nitrik oksit seviyesini algılayarak negatif feedback döngüsü ile iNOS'ı inhibe eder. Bu ilişkinin oral kanserlerde çok farklı önemleri vardır (16).

2.5.3. Nitrik Oksit'in Sitotoksik ve Apoptotik Etkileri

Sitokinler ve toksinler, makrofajlar ile çok sayıdaki diğer hücreleri iNOS sentezini indükleyerek uzun süreli ve yüksek derişimde nitrik oksit sentezine neden olurlar. Bu nedenle, inflamasyon, sitokinler, bakteriyel toksinler nitrit ve nitrat oluşumunu arttırırlar. Nitrik oksitten kaynaklanan reaktif türler sitotoksik etkili olduklarından, mikroorganizmalara karşı immün savunma sistemine katkıda bulunurlar. Bu nedenle, iNOS-eksikliği oluşturulmuş deney hayvanları

patojenlere karşı çok daha duyarlıdırlar (58). Nitrik oksitten kaynaklanan reaktif türler anti tümör etkilere de sahiptirler. Vücutta üretilen bu tür reaktifler konakçıyı da etkilediklerinden, sentezi sağlayan makrofajlar ve yakın çevredeki hücreler üzerinde de sitotoksik etkilere sahiptirler. Nitrik oksit'in sitotoksik etkilerinin glikoliz, sitrik asit döngüsü ve özellikle de mitokondriyel solunumun inhibisyonundan kaynaklandığı kabul edilmektedir (58, 60). İnvitro ve invivo çalışmalar, otoimmün diyabet başta olmak üzere, çeşitli diyabetlerin patogeneğinde nitrik oksit yapımının etkili olduğunu göstermektedir.

Hücre tipine bağlı olarak nitrik oksit proapoptotik ve antiapoptotik etkilere sahiptir. Her ne kadar nitrik oksitin kaynağı ve konsantrasyonu hücrelerin nitrik oksite maruz kaldıklarındaki cevabını belirlese de, nitrik oksite karşı proapoptotik ve antiapoptotik cevabın oluşması etkilenen hücrelerin tipine özeldir (27, 41, 60, 68, 72, 139, 146). Antioksidanların mevcudiyeti gibi çeşitli değişkenler de değişik nitrik oksit sağlayıcılarının apoptotik potansiyellerini azaltabilir (60, 138). Nitrik oksite karşı bütün bu hücre ölümü cevapları, hücre tipleri arasında çok değişik yanıtlarla birlikte, nitrik oksitin düşük dozlarında apoptotik ve yüksek dozlarında nekrotik olarak gerçekleşir (52, 54, 60, 81).

2.5.4. Nitrik Oksitin Karsinogenezisteki Rolü:

Normal somatik hücrenin kanser hücresine değişimi genellikle pek çok genetik değişikliğin sonucunda meydana gelir ve bu onkogenlerin aktivasyonunu ve tümör süpresör genlerin inaktivasyonunu içerir. Bu değişiklikler hücrenin, hücre proliferasyonunu, migrasyonunu, diferansiyasyonunu ve hücre ölümünü kontrol eden normal mekanizmalardan kaçmasına olanak verir (16). Karsinogenezise yol açan mutasyonların sıklığı hücresel mikro-çevredeki kimyasallarca ve daha az kapsamda genetik predispozisyonla belirlenir(16).

Nitrik oksit ve reaktif oksijen türlerinin oluşturduğu reaktif nitrik oksit türleri DNA'yı direkt hasara uğratabilir. Nitrik oksitin DNA'da hasar oluşturmasının üç kimyasal mekanizması vardır. Birincisi reaktif nitrik oksit türlerinin DNA yapısı ile direkt reaksiyonlarıdır. İkincisi DNA tamiri sürecini

inhibe etmesidir. Üçüncüsü ise peroksit ve alkilleme ajanları gibi genotoksik türlerin üretimini arttırmasıdır (149). Aerobik bir ortamda reaktif nitrik oksit türleri memeli ve bakteri DNA'larında tek sarmal yapıda bozulmalara yol açabildiği gibi sitozin, adenin ve guaninin deaminasyonuna sebep olur (78). Nitrik oksitin amino asitlerdeki tiyol gruplarına büyük bir afinitesi vardır ve sonuç büyük miktarlarda sistein artıkları bulunduran DNA ligazların (DNA tamir enzimi) inaktivasyonu olabilir (150). Yüksek konsantrasyonlarda Nitrik oksit genetik mutasyonlara sebep olduğu için, uzun süreli nitrik oksite maruz kalmanın karsinogenezde önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (13, 46, 79, 69, 96).

Nitrik oksitin karsinogenezi tümör süpresör gen olan p53'ü inaktive ederek ilerlettiği de öne sürülmüştür (16). Nitrik oksitin esas etkisi miktarına, hücrelerin redoks durumuna, hücre tipine ve metallerin bulunmasına bağlıdır (49). Bununla birlikte insan kanserlerinde nitrik oksitin, üretilen miktarlardan dolayı, mutajenik olup olmadığı tartışma konusudur. İnvitro bir çalışmada bronşial hücrelere Nitrik oksit sunucuları ve kemirgen iNOS geni transferi sonrası p53 geninde kayda değer bir mutasyon izlenmemiştir (37). Buna karşılık akciğer kanserlerinde toplam NOS aktivitesi ve p53 mutasyonları arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir (3). Forester ve diğ. (39) normal ve tümör hücrelerinde nitrik oksit'e maruz kalma sonrası *wild tip* p53 proteini akumulasyonun olduğu ve sonucunda iNOS aktivitesinin düştüğünü bildirmişlerdir. Ancak sadece *wild tip* p53'ün bu etkiye sahip olduğunu mutant p53'ün bu etkiye sahip olmadığını bildirmişlerdir (39). p53 hücrel nitrik oksit için çok duyarlı bir algılayıcıdır ve nitrik oksit konsantrasyonları yüksek olduğunda apoptozisi indüklemeyen önce iNOS'ı baskılar (16). Bu sebeple oral kanserlerde çok sık bir bulgu olan p53 mutasyonları potansiyel olarak zararlı etkileri olan kontrolsüz iNOS aktivitesine sebep olabilir.

2.6. Gen Bozukluklarını Tespit Etmede Kullanılan Analizler

Tümör süpresör gen ve onkogenlerde meydana gelen bozuklukları tespit etmede pek çok analiz kullanılmasına rağmen en etkili yöntemler PCR (Polymerase Chain Reaction), SSCP (Single-Stranded Conformation

Polymorphism) ve İmmünohistokimyasal yöntemlerdir. Ayrıca gelişmiş bir sitogenetik teknik olan In Situ Hibridizasyon (direkt olarak kromozomal anomalileri tespit eden analiz) analizi de kullanılabilir. PCR ve SSCP teknikleri, gen mutasyonlarının saptanmasında en etkili moleküler genetik yöntemler olmasına rağmen, mükemmel laboratuvar koşulları çok zaman ve para gerektiren ve uygulamada pek çok güçlükle karşılaşılan tekniklerdir. Apoptotik hücrelerin varlığını direkt olarak tespit eden TUNEL yada mTunel tekniği de, apoptozis ile ilişkili proteinlerin apoptotik etkilerini tespit etmede, immünohistokimyasal analize destek olarak kullanılan ileri bir tekniktir (44, 91).

İmmünohistokimyanın patolojide pek çok avantajı bulunmaktadır. Birincisi, bu teknik rutin olarak hazırlanmış doku örneklerine uygulanır ve patoloğa alışık olduğu mikroskop şartlarında çalışma olanağı sağlar. İkincisi, çok hassas bir sistemdir, göreceli olarak düşük düzeydeki antijen ekspresyonunu dahi tespit edebilir ve dikkatli seçilirse, antijen-antikor bağlanması çok spesifik olabilir. Üçüncü avantajı ise, gereçlerin diğer tekniklerle kıyaslanınca ucuz olması ve laboratuvarında çok az yere ihtiyaç duyulmasıdır (53). İmmünohistokimya, dokuya bazı antikorlar uygulayarak spesifik kimyasal maddeleri tespit etmeye yarayan analizdir. Antikorlar doku kesitlerine uygulanıp ilgili antijene bağlanır. Daha sonra bu antikorların lokalizasyonu tayin eden belirleyici moleküller kullanılarak bunları görünür hale getiren yöntem uygulanır. In vivo olarak, antijene verilen yanıt açıkça görülmektedir. Bu antijen üzerinde bulunan çok sayıdaki determinantlara (antijen üzerindeki epitopik bölgeler) reaktif olan antikora poliklonal antikor denir. Monoklonal antikor, immortal olarak transforme olmuş melez hücreden üretilen daha spesifik idiotiptir. İmmünohistokimyasal analizde her zaman mutasyon varlığında pozitif boyanma elde edilmez. Bu yüzden bu analizler genetik analizlerle desteklenmeli ve kesin mutasyon varlığı ondan sonra tartışılmalıdır (91).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu retrospektif çalışmada dentijeröz kist, odontojenik keratokist ve ameloblastoma teşhisi konulmuş ve arşivlenmiş örneklerde tümör süpresör gen p53 ve indüklenbilir Nitrik oksit sentezaz enzimi immunohistokimyasal yöntemlerle değerlendirilmiştir.

3.1 Örnekler

Bu tez çalışmasına 1990-2007 yılları arasında Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları Ve Cerrahisi Anabilim Dalında opere edilerek, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında dentijeröz kist, odontojenik keratokist ve ameloblastoma teşhisi konulmuş patolojik örnekler dahil edilmiştir. Bu yıllar arasında ilgili teşhisler konulmuş tüm örnekler değerlendirilmiş ve epitelyum bütünlüğü bozulmuş veya epiteli değerlendirilemeyecek kadar inflamasyon içeren speysmenler çalışma dışında bırakılmıştır. Buna göre 25 dentijeröz kist olgusu, 30 odontojenik keratokist olgusu, 32 ameloblastoma olgusu çalışmaya dahil edilmiştir. İmmunohistokimyasal analiz için arşivlenmiş örneklerin seçilen parafine gömülmüş doku blokları kullanılmıştır.

3.2 İmmunohistokimyasal Yöntem

Parafine gömülmüş odontojenik kist ve tümör dokuların boyanmasında aşağıda belirtilen protokol uygulanmıştır:

1. Parafine gömülmüş dokulardan 5 mikron kalınlığında kesitler elde edildi.
2. Dokular deparafinize edildi ve 4 kere 5 dakika ksilolde, ve 3 dakika %100 etanolde yıkandı.
3. Distile su ile 3 dakika yıkandı.
4. Tüm kesitler endojen peroksidasyonun inhibisyonu için 10 dakika hidrojen peroksit ile muamele edildi ve 10 dakika boyunca 3 kere distile su ile yıkandı.

5. Her bir kesite 3-4 damla primer antikor damlatıldıktan sonra (Anti-iNOS rabbit polyclonal antibody; Assay Designs Inc., Michigan 48108, USA; p53 mouse monoclonal antibody, Clone DO-7, N1581, "Ready to use", Dako 6392 Via Real, Carpintera CA 93013, USA) oda sıcaklığında 10 dakika iNOS için, 10 dakika p53 antikoruna için inkübe edildi.
6. Kesitler 3 kere PBS (*phosphate buffered saline*) ile yıkandı ve fazlalıklar akıtıldı.
7. 10 dakika boyunca iki kere, taşacak çoklukta %10 normal serum uygulandı ve daha sonra 3 kere PBS ile yıkayıp fazlalıklar akıtıldı.
8. Kesitler, oda sıcaklığında 3-4 damla biyotinlenmiş bağlayıcı antikor (sekonder) ile 10 dakika işleminden geçirildi ve 3 kere PBS ile yıkandıktan sonra fazlalıklar dikkatlice akıtıldı.
9. Kesitlere streptavidin ajanı damlatılıp oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 3 kere PBS ile yıkandı.
10. Görüntüleme için kesitlere peroksidaz işaretli kromojen diaminobenzidin (DAB) damlatılarak oda sıcaklığında 5-10 dakika bekletildi.
11. Kesitler 5 dakika boyunca 3 kere distile su ile yıkandı.
12. Zıt boyama için hematoksilin kullanıldı ve kesitler dehidratasyon için 4 kere değiştirilerek alkolde 3 dakika bekletildikten sonra ksilol ile 4 kere 3 dakika temizlendi ve kapatıldı.

Değerlendirmeler ışık mikroskopunda yapıldı. Boyamalar x10, x20, x40 objektifler kullanılarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. p53 için çekirdek, iNOS için sitoplazmik boyamalar pozitif olarak kabul edildi. Belirgin olmayan veya şüpheli boyamalar negatif sonuç olarak değerlendirildi.

3.2.1 iNOS İmmünoreaktivitesinin Değerlendirilmesi

Anti-iNOS antikoruna uygulanan speysmenlerin mikroskopik incelemesinde, sitoplazmasında herhangi boyanma görülmeyen veya şüpheli boyanma gözükten epitel hücreleri negatif olarak değerlendirildi. Sitoplazmasında boyanma görülen hücreler boyanma yoğunluğuna göre

hafif boyanmada +1, şiddetli boyanmada +2, bazı bölgeleri hafif bazı bölgeleri şiddetli boyanma gösteren olgular +1 +2 olarak değerlendirildi. Ayrıca speysmendeki tüm kistik veya tümoral epitelin boyanma yüzdesine göre, %25 ve altındaki yüzdelerde boyanmada fokal olarak, % 25-50 arası ve, %50-100 olarak sınıflandırıldı.

3.2.2 p53 İmmünoreaktivitesinin Değerlendirilmesi

p53 immünreaktivitesi, boyanan alanların fazlalığına göre değerlendirildi. Buna göre çekirdek boyanması göstermeyen zayıf gösteren veya tek tük boyanma gösteren örnekler negatif olarak tanımlandı. Çekirdek boyanması göstermesine karşın preparatın geneline göre sadece belirli alanı kapsar şekildeki boyanmalar Fokal + olarak değerlendirildi. Preparatın genelinde belirli bir alanı değil çoğunluğu kapsar şekildeki boyanmalar ise Yaygın + olarak değerlendirildi.

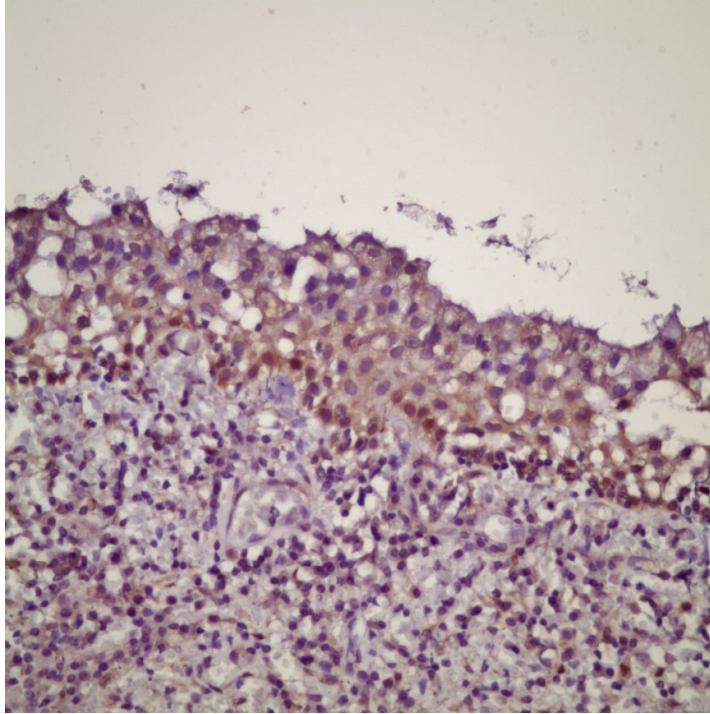
BULGULAR

Bu çalışmada dentijeröz kist, odontojenik keratokist ve ameloblastoma teşhisi konulmuş ve tedavisi yapılmış hastaların arşivlenmiş speysmenleri kullanıldı. Bu lezyonlardan 25 dentijeröz kist olgusu, 30 odontojenik keratokist olgusu, 32 ameloblastoma olgusu çalışmaya dahil edildi.

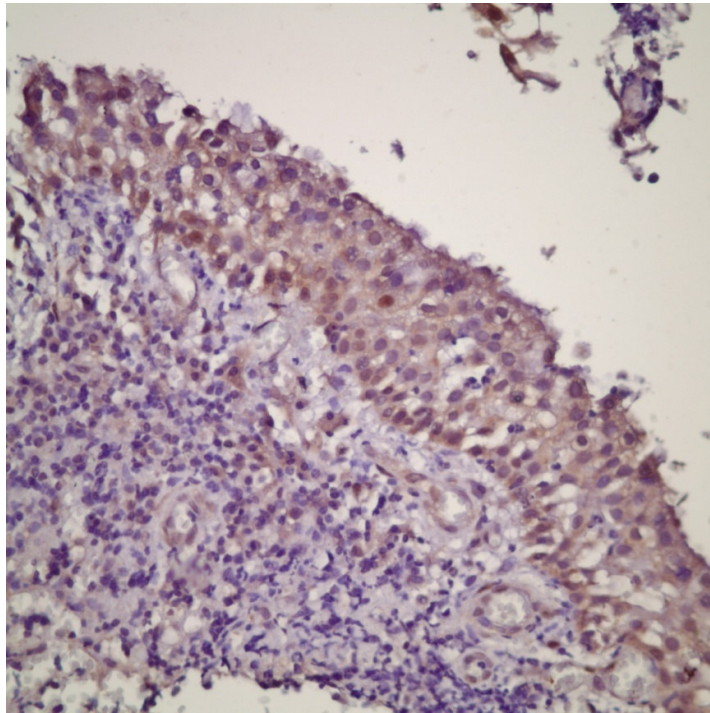
4.1 Dentijeröz Kist İmmünboyanma Bulguları

Yapılan mikroskopik incelemelerde p53 reaktivitesi hücrelerin nukleuslarının koyu kahverengi olarak boyanması ile, iNOS reaktivitesi ise hücrelerin sitoplazmalarının değişen yoğunlukta kahverengi olarak boyanması ile ayırt edilmiştir. Şekil 4.1 ve 4.2 de dentijeröz kist epitelinde bazal membrana komşu hücrelerde p53 reaktivitesi, şekil 4.3 ve 4.4'te dentijeröz kist epitelinde şiddetli iNOS reaktivitesine örnekleri gösterilmiştir.

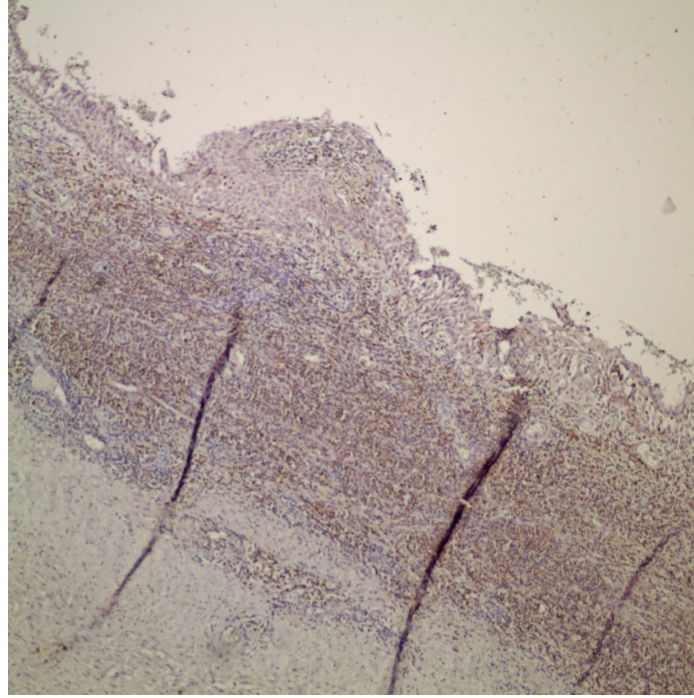
Yapılan immünohistokimyasal boyanma sonucunda boyanma yoğunluğuna göre 25 dentijeröz kistin, 7 sinin epitelinde iNOS immün boyanması negatif olarak, 15 inde +1 olarak, 2'sinde +2 olarak ve 1 örnek +1 ve +2 olarak değerlendirildi. Dentijeröz kist epitellerinin iNOS boyanma yüzdeleri değerlendirildiğinde ise negatif olarak değerlendirilen örnekler çıkarıldığında, 18 dentijeröz kistin, 9'unda fokal boyanma, 4 örnekte % 25-50 arasında boyanma, 5 örnekte %50 ve üzeri boyanma gözlenmiştir. Dentijeröz kistlerdeki p53 boyanma bulgularına göre 25 dentijeröz kistin 17 sinde negatif olarak, 4 ünde fokal + olarak ve 4 ünde yaygın + olarak değerlendirildi. (Tablo 4.1,Tablo 4.2,Tablo 4.3)



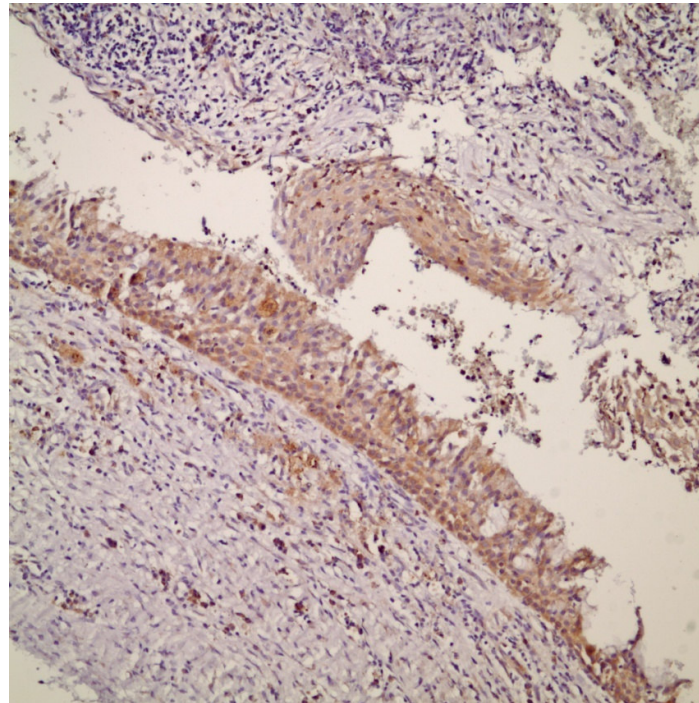
Şekil 4.1 Dentijeröz kist epitelinde 40x büyütmede bazal membrana komşu hücrelerde p53 reaktivitesi



Şekil 4.2 Dentijeröz kist epitelinde 40x büyütmede bazal membrana komşu hücrelerde p53 reaktivitesi



Şekil 4.3 Dentijeröz kist epitelinde 10x büyütmede şiddetli iNOS reaktivitesi

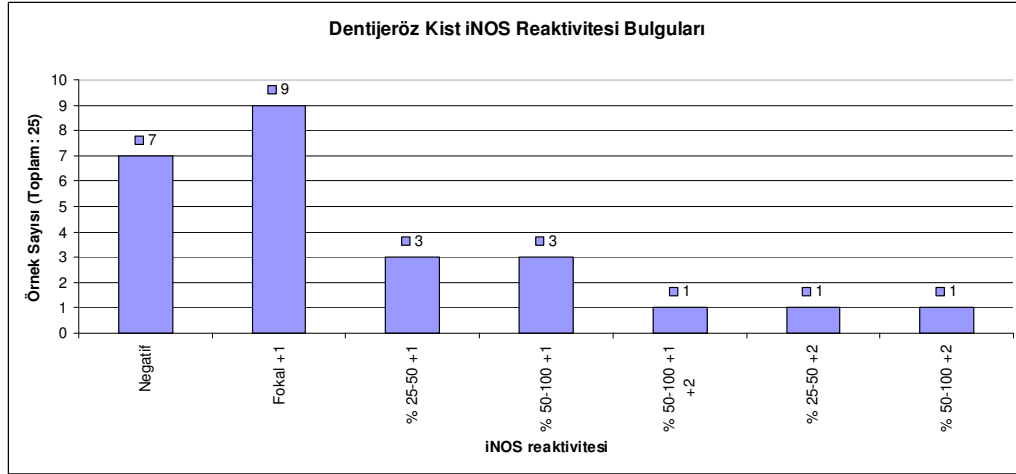


Şekil 4.4 Dentijeröz kist epitelinde 20x büyütmede şiddetli iNOS reaktivitesi

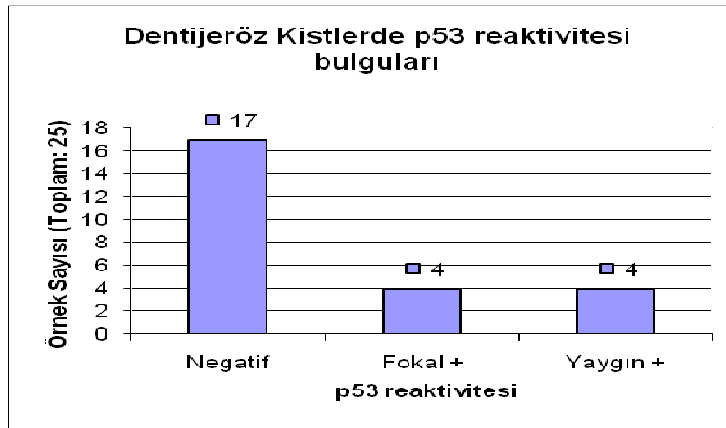
Tablo 4.1 Dentijeröz kist örneklerinin iNOS ve p53 immünreaksiyon bulguları.

OLGU	TEŞHİS	iNOS	p53
1	Dentijeröz Kist	Negatif	Negatif
2	Dentijeröz Kist	Fokal + 1	Negatif
3	Dentijeröz Kist	Negatif	Fokal +
4	Dentijeröz Kist	Negatif	Negatif
5	Dentijeröz Kist	Fokal + 1	Negatif
6	Dentijeröz Kist	% 50-100 +1	Negatif
7	Dentijeröz Kist	% 25-50 +1	Fokal +
8	Dentijeröz Kist	% 50-100 +1	Negatif
9	Dentijeröz Kist	Fokal + 1	Negatif
10	Dentijeröz Kist	Negatif	Negatif
11	Dentijeröz Kist	Negatif	Negatif
12	Dentijeröz Kist	% 50-100 +1 +2	Negatif
13	Dentijeröz Kist	Fokal + 1	Negatif
14	Dentijeröz Kist	Fokal + 1	Negatif
15	Dentijeröz Kist	Negatif	Negatif
16	Dentijeröz Kist	Negatif	Yaygın +
17	Dentijeröz Kist	% 25-50 +1	Negatif
18	Dentijeröz Kist	% 25-50 +1	Fokal +
19	Dentijeröz Kist	% 50-100 +1	Negatif
20	Dentijeröz Kist	Fokal + 1	Negatif
21	Dentijeröz Kist	Fokal + 1	Fokal +
22	Dentijeröz Kist	Fokal + 1	Negatif
23	Dentijeröz Kist	% 25-50 +2	Yaygın +
24	Dentijeröz Kist	Fokal + 1	Yaygın +
25	Dentijeröz Kist	% 50-100 +2	Yaygın +

Tablo 4.2: Dentijeröz kistlerde iNOS reaktivitesi ve speysmendeki kist epitelinin boyanma yüzdeleri



Tablo 4.3 Dentijeröz Kistlerde p53 reaktivitesi verileri



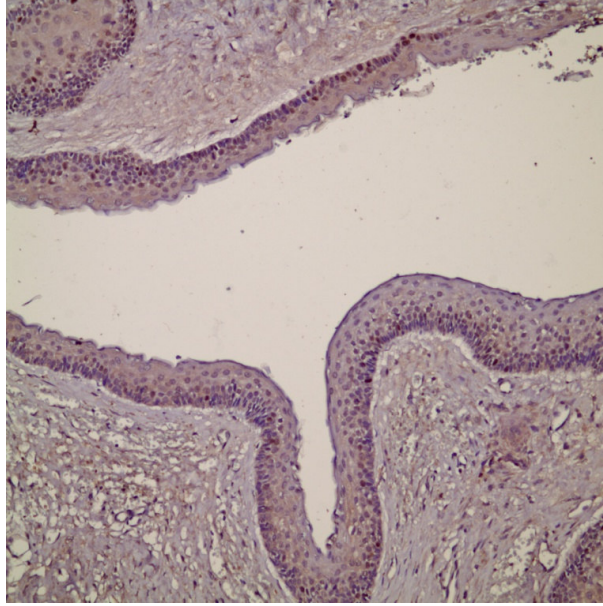
4.2 Odontojenik Keratokist İmmünboyanma Bulguları

Şekil 4.5 ve 4.6 da odontojenik keratokist epitelinde bazal membrana komşu hücrelerde p53 reaktivitesi, şekil 4.7 ve 4.8'de odontojenik keratokist epitelinde şiddetli ve yaygın iNOS reaktivitesine örnekleri gösterilmiştir.

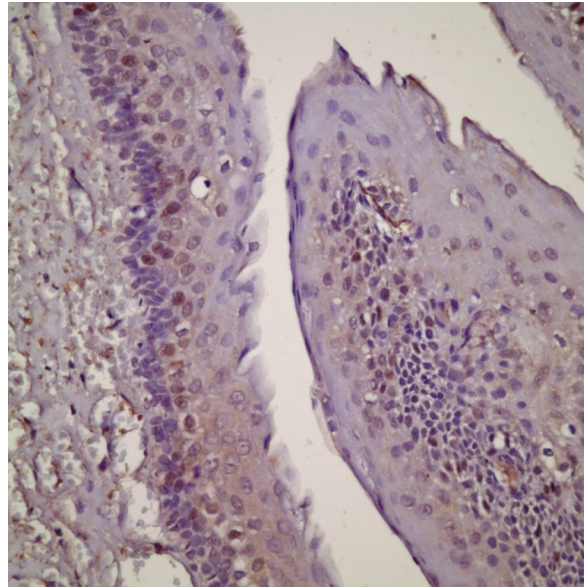
Yapılan immünohistokimyasal boyanma sonucunda boyanma yoğunluğuna göre 30 odontojenik keratokist'in, 4'ünün epitelinde iNOS immün boyanması negatif olarak, 20'sinde +1 olarak, 4'ünde +2 olarak ve 1 örnek +1 ve +2 olarak değerlendirildi. Odontojenik keratokist epitellerinin iNOS boyanma yüzdeleri değerlendirildiğinde ise negatif olarak değerlendirilen örnekler çıkarıldığında, 26 odontojenik keratokistin, 9'unda

fokal boyanma, 7 örnekte % 25-50 arasında boyanma, 10 örnekte %50 ve üzeri boyanma gözlenmiştir.

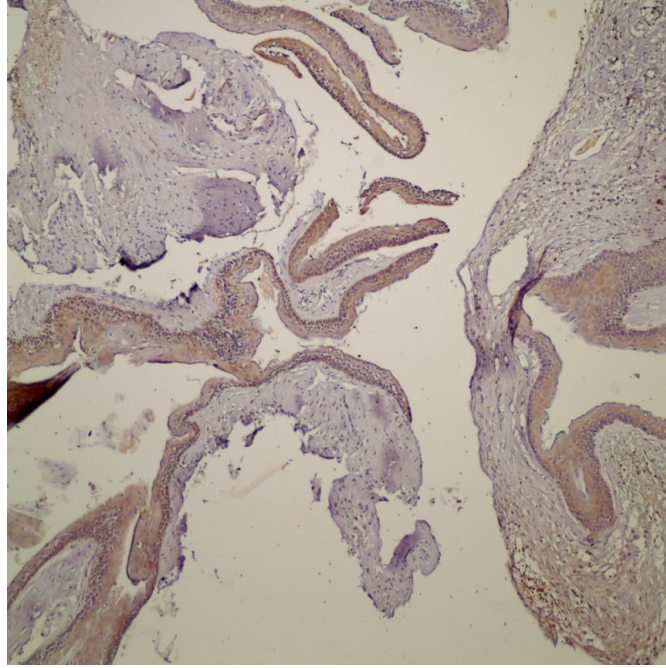
Odontojenik keratokistlerdeki p53 boyanması sonuçlarına göre 30 odontojenik keratokistten 8'i negatif olarak, 7'si Fokal + olarak ve 15'i Yaygın + olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.4, Tablo 4.5, Tablo 4.6)



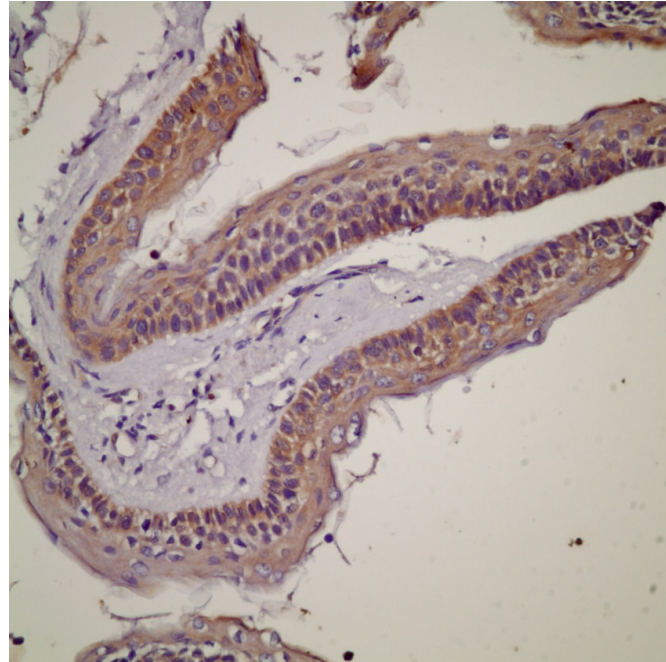
Şekil 4.5 Odontojenik keratokist epitelinde 20x büyütmede bazal membrana komşu hücrelerde p53 reaktivitesi



Şekil 4.6 Odontojenik keratokist epitelinde 40x büyütmede bazal membrana komşu hücrelerde p53 reaktivitesi



Şekil 4.7 Odontojenik keratokist epitelinde 20x büyütmede yaygın ve şiddetli iNOS reaktivitesi

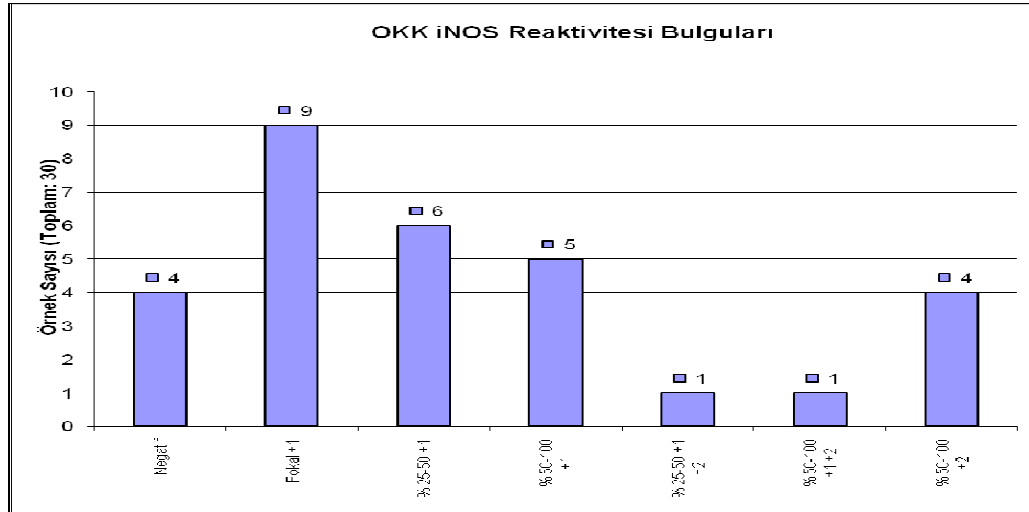


Şekil 4.8 Odontojenik keratokist epitelinde 20x büyütmede yaygın ve şiddetli iNOS reaktivitesi

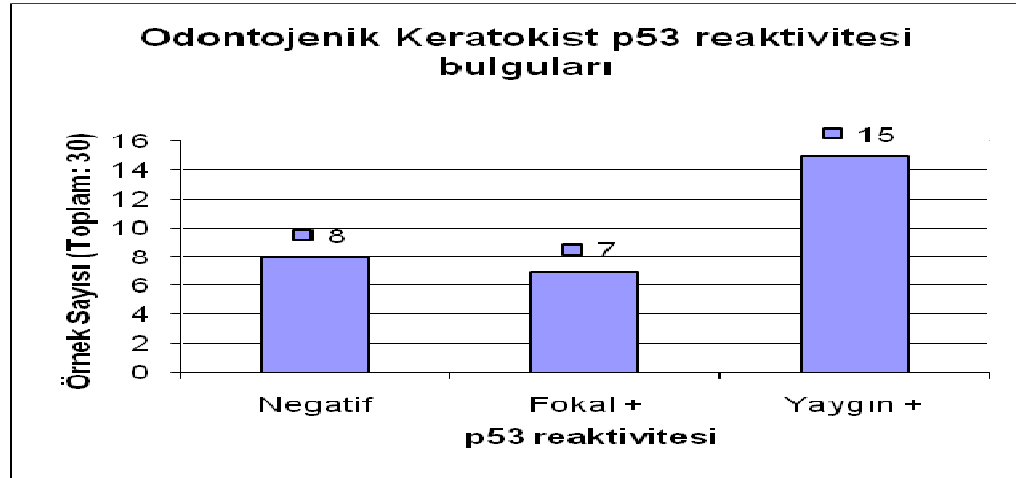
Tablo 4.4 Odontojenik keratokist örneklerinin iNOS ve p53 immünreaksiyon bulguları.

OLGU	TEŞHİS	iNOS	p53
1	OK	% 50-100 +2	Fokal +
2	OK	% 25-50 +1	Yaygın +
3	OK	Fokal +1	Negatif
4	OK	Fokal +1	Negatif
5	OK	% 25-50 +1	Negatif
6	OK	Negatif	Yaygın +
7	OK	% 25-50 +1	Negatif
8	OK	Fokal +1	Yaygın +
9	OK	% 25-50 +1 +2	Yaygın +
10	OK	% 50-100 +1	Negatif
11	OK	Fokal +1	Fokal +
12	OK	Fokal +1	Yaygın +
13	OK	% 50-100 +1	Negatif
14	OK	% 25-50 +1	Fokal +
15	OK	% 50-100 +1	Yaygın +
16	OK	Fokal +1	Fokal +
17	OK	% 25-50 +1	Yaygın +
18	OK	Negatif	Yaygın +
19	OK	Fokal +1	Yaygın +
20	OK	Negatif	Yaygın +
21	OK	% 50-100 +2	Fokal +
22	OK	Fokal +1	Yaygın +
23	OK	% 50-100 +1 +2	Yaygın +
24	OK	% 50-100 +1	Fokal +
25	OK	% 50-100 +2	Yaygın +
26	OK	% 50-100 +2	Fokal +
27	OK	Negatif	Yaygın +
28	OK	Fokal +1	Negatif
29	OK	% 50-100 +1	Negatif
30	OK	%25-50 +1	Yaygın +

Tablo 4.5 Odontojenik Keratokistlerde iNOS reaktivitesi ve speysmendeki kist epitelinin boyanma yüzdeleri



Tablo 4.6 Odontojenik Keratokistlerde p53 reaktivitesi verileri

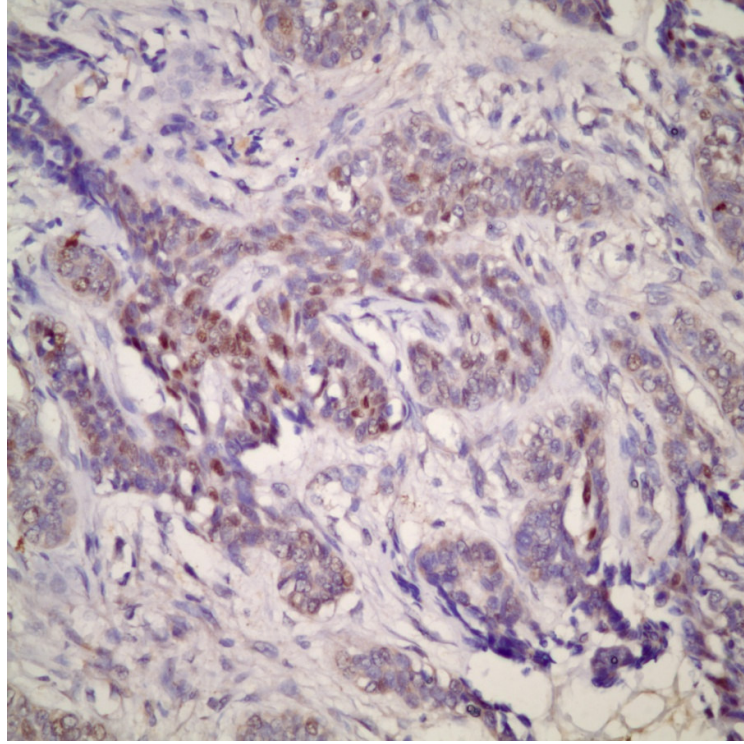


4.3 Ameloblastoma İmmünboyanma Bulguları

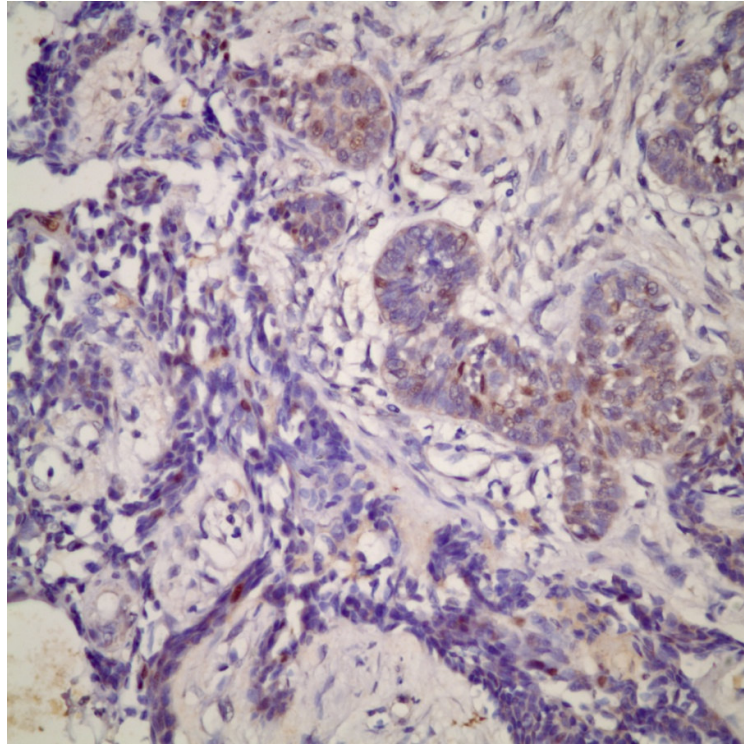
Şekil 4.9 ve 4.10'da ameloblastoma epitelindeki hücrelerde p53 reaktivitesi, şekil 4.11 ve 4.12'de ameloblastoma epitelinde şiddetli iNOS reaktivitesine örnekleri gösterilmiştir.

Yapılan immünohistokimyasal boyanma sonucunda boyanma yoğunluğuna göre 32 ameloblastoma, 10'unun epitelinde iNOS immün boyanması negatif olarak, 18'inde +1 olarak, 1'inde +2 olarak ve 3 örnek +1 ve +2 olarak değerlendirildi. Ameloblastoma epitellerinin iNOS boyanma yüzdeleri değerlendirildiğinde ise negatif olarak değerlendirilen örnekler çıkarıldığında, 22 ameloblastomanının, 15'inde fokal boyanma, 3 örnekte % 25-50 arasında boyanma, 4 örnekte %50-100 arası boyanma gözlenmiştir. Örneklerinizden 5'i Unikistik ameloblastomadır ve bunlardan 4'ü iNOS reaktivitesi açısından negatif, 1'i ise fokal pozitif olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca iNOS reaktivitesi açısından ameloblastoma örnekleri değerlendirilirken özellikle akantamatöz alanlarda daha belirgin bir boyanma şiddeti dikkat çekmiştir.

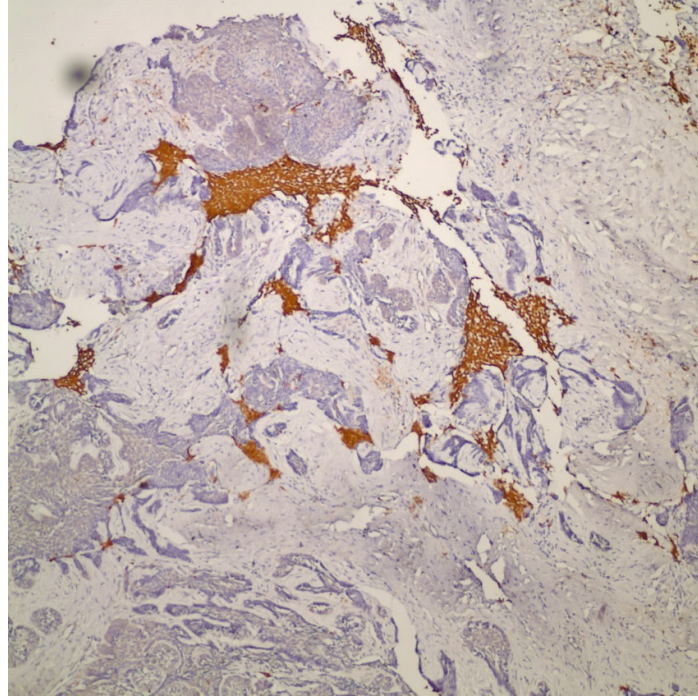
Ameloblastomalarda p53 reaktivitesi sonuçlarına göre 32 Ameloblastomadan 17'si negatif olarak, 8'i Fokal + olarak ve 7'i Yaygın + olarak değerlendirilmiştir. Unikistik ameloblastomadan 5'i de p53 reaktivitesi açısından negatif olarak değerlendirilmiştir. (Tablo 4.7, Tablo 4.8, Tablo 4.9)



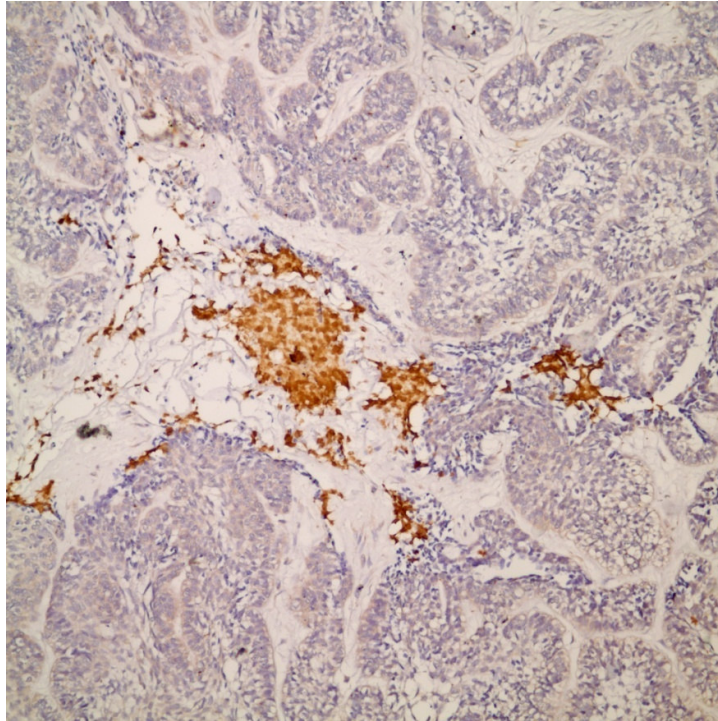
Şekil 4.9 Ameloblastoma epitelinde 40x büyütmede p53 reaktivitesi



Şekil 4.10 Ameloblastoma epitelinde 40x büyütmede p53 reaktivitesi



Şekil 4.11 Ameloblastoma 10x büyütmede şiddetli iNOS reaktivitesi görülen hücrelerin görünümü

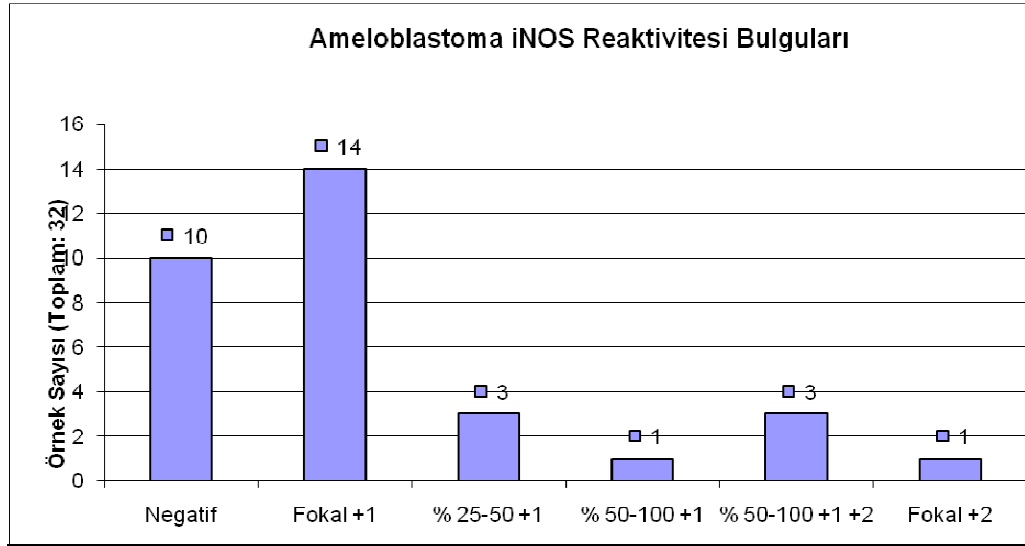


Şekil 4.12 Ameloblastoma 20x büyütmede şiddetli iNOS reaktivitesi görülen hücrelerin görünümü

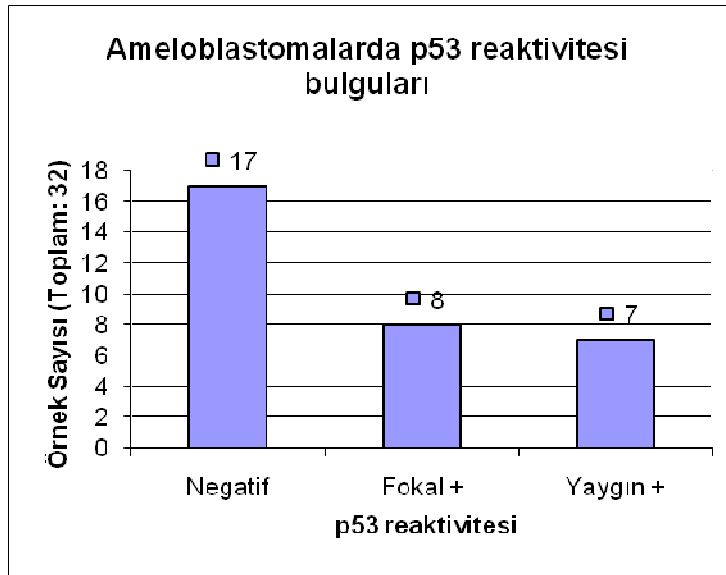
Tablo 4.7 Ameloblastoma örneklerinin iNOS ve p53 immünreaksiyon bulguları.

OLGU	TEŞHİS	iNOS	p53
1	Ameloblastoma	Negatif	Negatif
2	Ameloblastoma	Negatif	Negatif
3	Ameloblastoma	Fokal +1	Fokal +
4	Ameloblastoma	Fokal +1	Negatif
5	Ameloblastoma	Negatif	Negatif
6	Ameloblastoma (unikistik)	Negatif	Negatif
7	Ameloblastoma	% 25-50 +1	Negatif
8	Ameloblastoma	% 50-100 +1 +2	Fokal +
9	Ameloblastoma (Unikistik)	Negatif	Negatif
10	Ameloblastoma	Negatif	Negatif
11	Ameloblastoma	% 25-50 +1	Fokal +
12	Ameloblastoma (Unikistik)	Negatif	Negatif
13	Ameloblastoma	Fokal +1	Negatif
14	Ameloblastoma	Fokal +1	Fokal +
15	Ameloblastoma	% 50-100 +1 +2	Yaygın +
16	Ameloblastoma	Fokal +1	Negatif
17	Ameloblastoma	Negatif	Negatif
18	Ameloblastoma (Akantamatöz alanlar)	Fokal +1	Yaygın +
19	Ameloblastoma	Fokal +1	Yaygın +
20	Ameloblastoma (Akantamatöz alanlar)	%40 +1	Negatif
21	Ameloblastoma (Akantamatöz alanlar)	Fokal +1	Yaygın +
22	Ameloblastoma	Fokal +2	Negatif
23	Ameloblastoma (Unikistik)	Fokal +1	Negatif
24	Ameloblastoma (Unikistik)	Negatif	Negatif
25	Ameloblastoma	Fokal +1	Yaygın +
26	Ameloblastoma	% 50-100 +1 +2	Fokal +
27	Ameloblastoma	Fokal +1	Negatif
28	Ameloblastoma	Fokal +1	Fokal +
29	Ameloblastoma	Fokal +1	Fokal +
30	Ameloblastoma	Negatif	Yaygın +
31	Ameloblastoma	% 50-100 +1	Yaygın +
32	Ameloblastoma (Akantamatöz alanlar)	Fokal +1	Fokal +

Tablo 4.8 Ameloblastomalarda iNOS reaktivitesi ve speysmendeki tümör epitelinin boyanma yüzdelerinin dağılımı



Tablo 4.9 Ameloblastomalarda p53 reaktivitesinin dağılımı

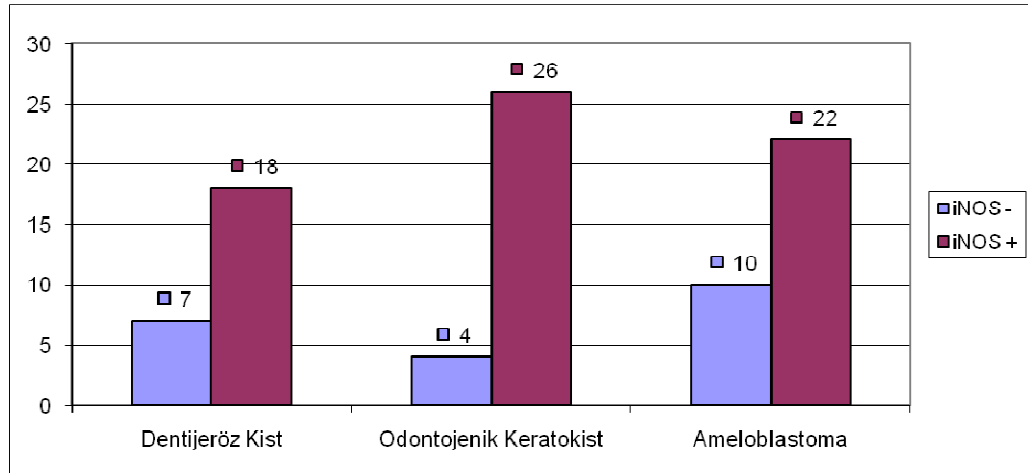


4.4 Bulguların Değerlendirilmesi

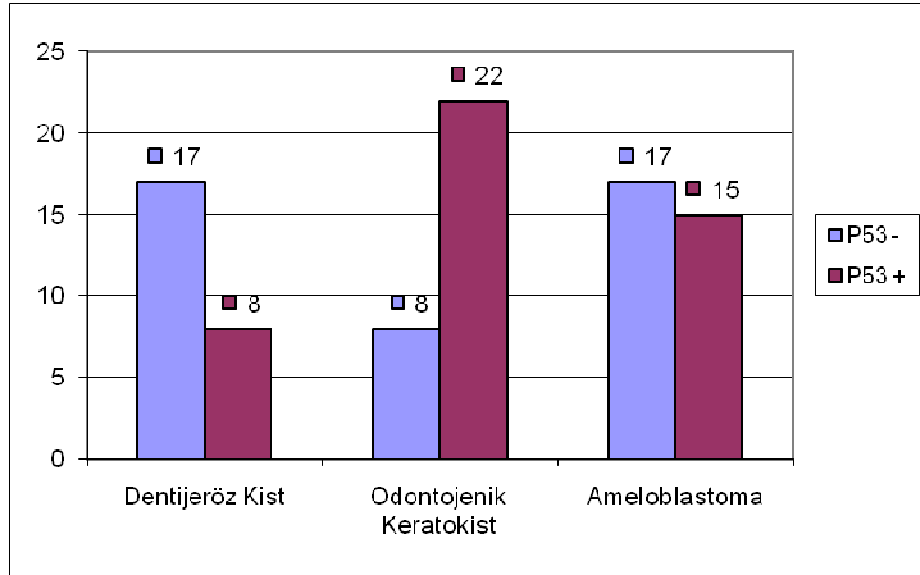
Bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi için literatürde mevcut iki farklı şekilde ele alınmışlardır. İlk olarak değerler pozitif ve negatif değerler olarak değerlendirilmiş ve buna göre istatistiksel analizler yapılmıştır. Bundan

sonra Brennan ve diğerlerinin (15) 2000 yılında yayınlanan araştırmalarında kullandıkları yönteme benzer olarak boyanma yoğunluğuna ve tüm speysmendeki yüzdesine göre skorlama yaparak değerlendirilmiş ve istatistiksel analizler yapılmıştır. Buna göre iNOS boyanması yoğunluğuna göre skorlama negatif 0, hafif boyanma (+1) 1 yoğun boyanma (+2) olacaktır şekilde sınıflandırılmış ayrıca speysmendeki iNOS reaktivitesi yaygınlığına göre %25'ten az 0, %25 ile 50 arası 1, %50 ile 100 arası 2 olarak skorlandırılmıştır. Lezyonun boyanma yoğunluğu ile boyanma yüzdelerinin skoru toplandığında ortaya çıkan değer o lezyon için sonuç skor olarak belirlenmiş böylece her bir lezyon için 0 ile 4 arasında değişen bir skor elde edilmiştir. p53 skorlamasında ise negatif boyanma 0, fokal pozitif boyanma 1 ve yaygın pozitif boyanma 2 olarak skorlanmıştır. Bu iki skorlamaya göre Dentijeröz Kist, Odontojenik Keratokist ve Ameloblastoma guruplarındaki olguların dağılımı ve yüzdeleri aşağıda özetlenmiştir. (Tablo 4.10, 4.11, 4.12, 4.13)

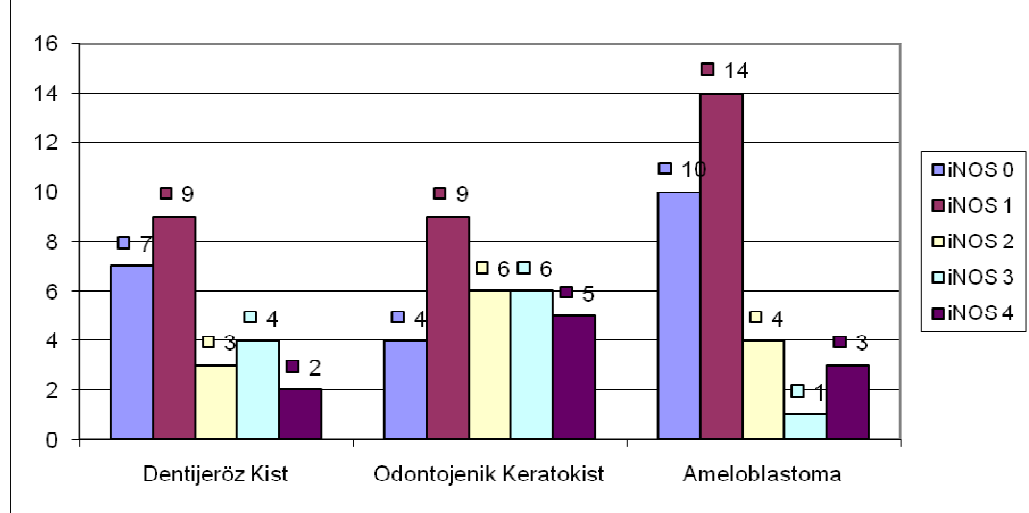
Tablo 4.10 Dentijeröz Kist, Odontojenik Keratokist ve Ameloblastomalarda iNOS reaktiviteleri pozitif ve negatif olarak ayrıldığında örneklerdeki dağılım



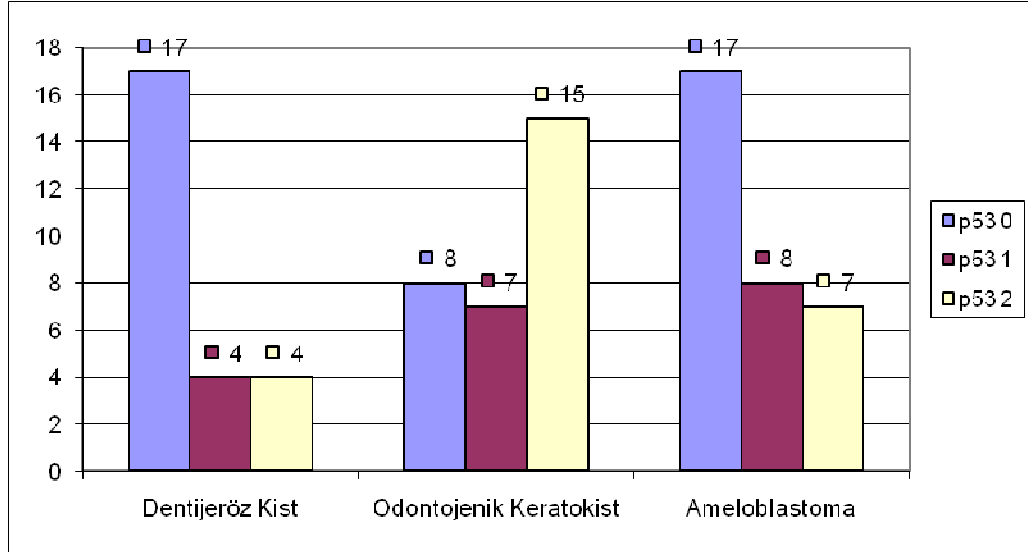
Tablo 4.11 Dentijeröz Kist, Odontojenik Keratokist ve Ameloblastomalarda p53 reaktiviteleri pozitif ve negatif olarak ayrıldığında örneklerdeki dağılımı.



Tablo 4.12 Dentijeröz Kist, Odontojenik Keratokist ve Ameloblastomalarda iNOS reaktiviteleri boyanma yoğunluğu ve yaygınlığına göre skorlandığında örneklerin dağılımı.



Tablo 4.13 Dentijeröz Kist, Odontojenik Keratokist ve Ameloblastomalarda p53 reaktiviteleri boyanmaları skorlandığında örneklerin dağılımı



4.5 İstatistiksel Analiz

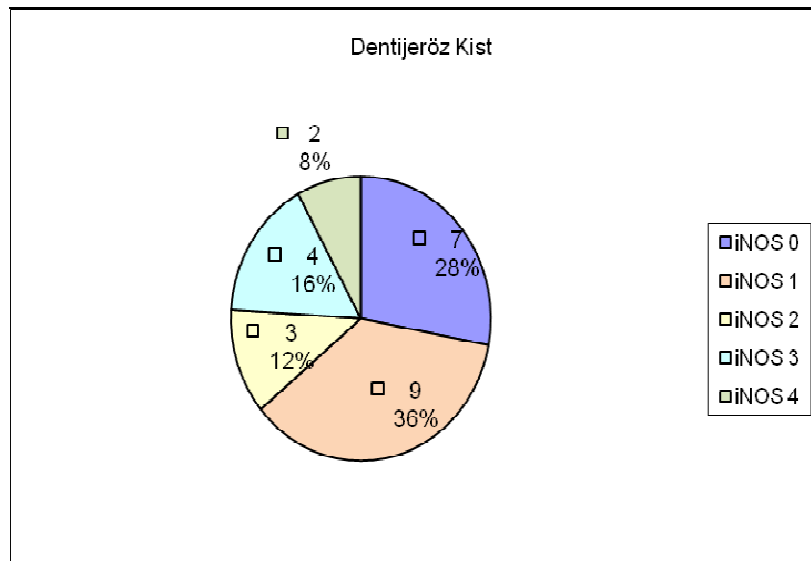
Verilerin analizi SPSS 11.5 paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler sıralanabilir değişkenler (iNOS ve p53 boyanma şiddeti) için ortanca (minimum - maksimum) biçiminde, kategorik değişkenler içinse % olarak ifade edildi. Gruplar arasında iNOS ve p53 markerlerinin boyanma şiddeti yönünden farkın anlamlılığı Kruskal Wallis testiyle araştırıldı. Kruskal Wallis test istatistiği sonucunun anlamlı görülmesi durumunda farka neden olan grubu belirlemek amacıyla Kruskal Wallis çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Kategorik karşılaştırmalar Khi-Kare testi kullanılarak yapıldı. Gruplar içerisinde iNOS ve p53 boyanma skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı doğrusal ilişkinin olup olmadığı Spearman Korelasyon testi ile incelendi. Gruplar içinde her iki markerin pozitif olma yaygınlıkları yönünden aradaki farkın istatistiksel önemliliği McNemar testi ile değerlendirildi. Grup içi karşılaştırmalarda Bonferroni Düzeltmesi yapıldı. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

iNOS reaktivitesi açısından gruplar pozitif ve negatif skorlar olarak değerlendirildiğinde 25 dentijeröz kisten 7'si (%28) negatif, 18'i pozitif (%72),

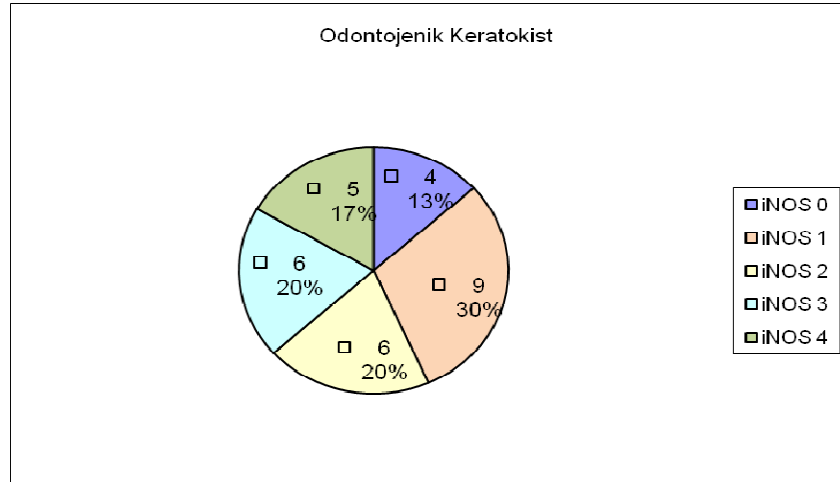
30 odontojenik keratokistten 4'ü negatif (%13,3), 26'sı (%86,7) pozitif, 32 ameloblastomadan 10'u (%31,3) negatif, 22'si pozitif (%68) olarak ayrılmış oldu. Buna göre bu gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,223$).

iNOS reaktivitesi açısından sonuçlar boyanma yoğunluğu ve yüzdesine göre skorlandığında 25 dentijeröz kistten 7'si (%28) 0; 9'u (%36) 1; 3'ü (%12) 2; 4'ü (%16) 3; 2'si (%8) 4 olarak ortalama $1,400 (\pm 1,29099)$, 30 odontojenik keratokistten 4'ü (%13,3) 0; 9'u (%30) 1; 6'sı (%20) 2; 6'sı (%20); 5'i (%16,7) 4 olarak ortalama $1,9667 (\pm 1,32570)$; 32 ameloblastomadan 10'u (%31,3) 0; 14'ü (%43,8) 1; 4'ü (%12,5) 2; 1'i (%3,1) 3 ve 3'ü (%9,4) 4 olarak ortalama $1,1562 (\pm 1,19432)$ olarak skorlanmıştır.(Tablo 4.14,4.15,4.16)

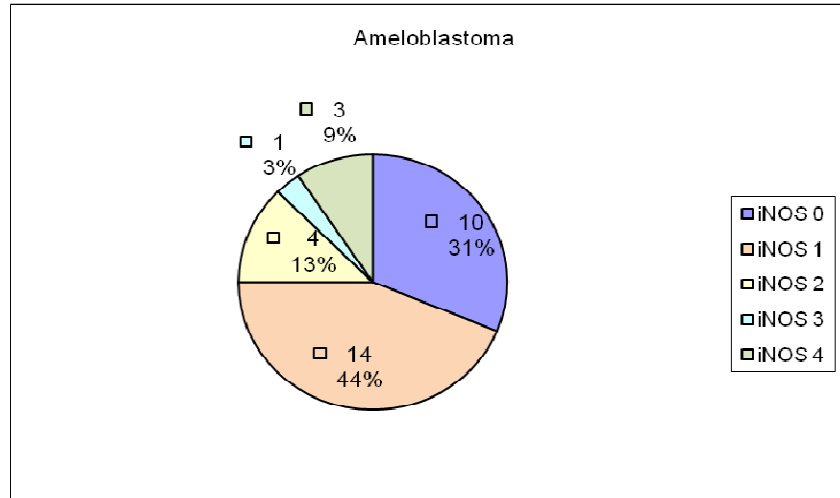
Tablo 4.14 Dentijeröz kistlerde iNOS skorlarına göre örneklerin yüzdesel dağılımı



Tablo 4.15 Odontojenik keratokistlerde iNOS skorlarına göre örneklerin yüzdesel dağılımı



Tablo 4.16 Ameloblastomalarda iNOS skorlarına göre örneklerin yüzdesel dağılımı



Bu grupların istatistiksel analizi sonucu ameloblastoma grubu ile odontojenik keratokist grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,007$). Ancak gerek dentijeröz kist ve ameloblastoma gerekse dentijeröz kist ve odontojenik keratokist grupları arasındaki karşılaştırmada fark anlamlı bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,442$ ve $p=0,071$).

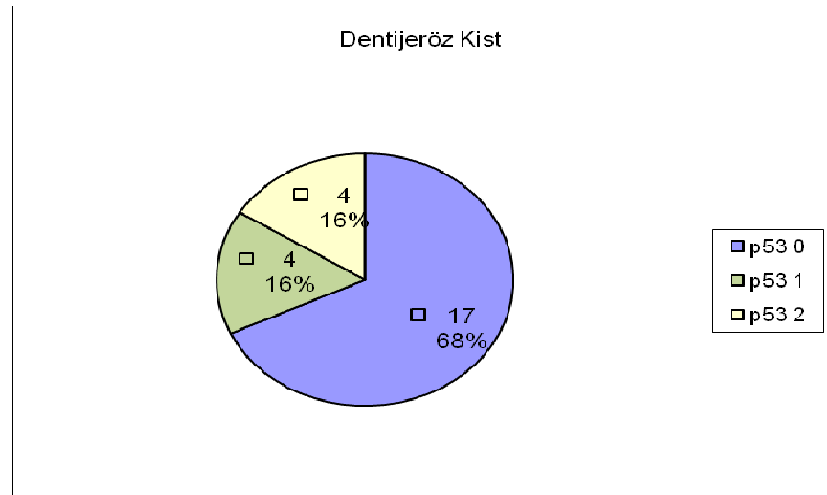
p53 reaktivitesi açısından gruplar pozitif ve negatif değerler olarak gruplandırıldığında 25 dentijeröz kistten 17'si (%68) negatif, 8'i (%32) pozitif; 30 odontojenik keratokistten 8'i (%26,7) negatif, 22'si (%73,3) pozitif; 32

ameloblastomadan 17'si (%53,1) negatif, 15'i (%46,9) pozitif olarak değerlendirilmiştir.

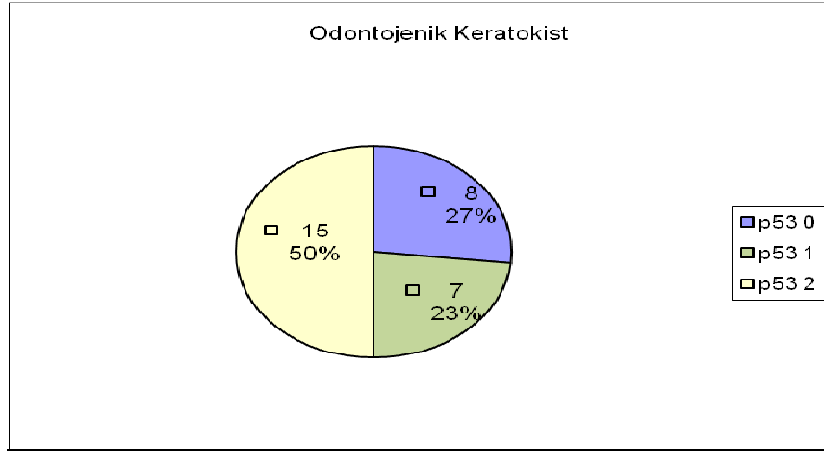
Buna göre dentijeröz kist ve ameloblastoma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,256$). Ancak dentijeröz kist ve odontojenik keratokist grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlenmektedir ($p=0,002$). Odontojenik keratokist ve ameloblastoma grupları arasında ise Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,034$, $p>0,017$).

p53 reaktivitesi boyanma yoğunluk ve yaygınlığına göre skorlandığında; 25 dentijeröz kistten 17'si (%68) 0; 4'ü (%16) 1 ve 4'ü (16) 2 olarak ortalama $0,48 (\pm 0,77028)$, 30 odontojenik keratokistten 8'i (%26,7) 0, 7'si (%23,3) 1 ve 15'i (%50) 2 olarak ortalama $1,2333 (\pm 0,85836)$, 32 ameloblastomadan 17'si (%53,8) 0; 8'i (%25) 1 ve 7'si (%21,9) 2 olarak ortalama $0,6875 (\pm 0,82060)$ olarak skorlanmıştır. (Tablo 4.17; Tablo 4.18, Tablo 4.19).

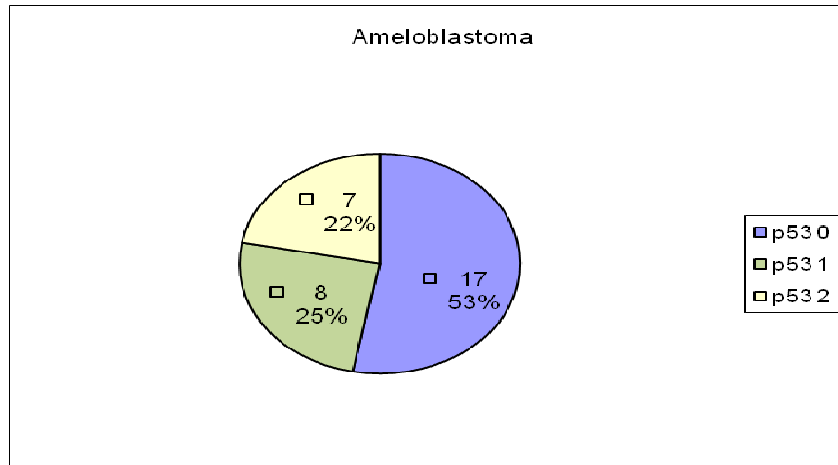
Tablo 4.17 Dentijeröz kistlerde p53 skorlarının örneklere göre dağılımı



Tablo 4.18 Odontojenik keratokistlerde p53 skorlarının örneklere göre dağılımı



Tablo 4.19 Ameloblastomalarda p53 skorlarının örneklere göre dağılımı



Bu gruplar arasında dentijeröz kist ve ameloblastoma grupları karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p=0,519$). Ancak dentijeröz kist ve odontojenik keratokist grupları karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p=0,007$). Odontojenik keratokist ve ameloblastoma grupları karşılaştırıldığında ise Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür ($p=0,046$; $p>0,017$).

Dentijenöz grubu içerisinde iNOS skorları ile p53 skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir doğrusal ilişki tespit edilmemiştir ($\rho=0,141$ ve $0,502$). Ameloblastoma grubu içerisinde iNOS skorları ile p53 skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir doğrusal ilişki görülmüştür ($\rho=0,408$ ve $0,020$). Buna göre; iNOS skoru arttıkça p53 skorunda da anlamlı artış görülmektedir. OK grubu içerisinde iNOS skorları ile p53 skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir doğrusal ilişki tespit edilmemiştir ($\rho=-0,210$ ve $0,266$).

TARTIŞMA

Son yıllarda patolojik dokuların gelişim sebepleri ve gösterdiği karakteristiklerin açıklığa kavuşturulması için pek çok araştırma yapılmaktadır. Bunun için özellikle tümör süpressör genler doku onkogeleri iltihap mediyatörleri alanlarında araştırmalar literatürde çok sayıda mevcuttur (29, 59, 61, 80,113). Bu araştırmada odontojenik orijinli gelişimsel kistlerden dentijeröz kist, odontojenik keratokist ve odontojenik tümörlerden ameloblastomalarda tümör süpressör gen p53 ve tümör gelişimi ve inhibisyonunda kompleks rolü olduğu tespit edilen iNOS enzimi aktivitesini immunohistokimyasal yöntemlerle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmeye çalışılmıştır. Literatürde iNOS ve p53'ün karşılaştırmalı incelenmesi gastirik karsinomlarda (145), gastirik mukoza ilişkili lenfoid doku lenfomalarında (74), konjenital koledektal kistlerde (154), faringeal skuamöz hücreli karsinomlarda (111), oral skuamöz hücreli karsinomlarda (14) yapılmış olsada oral bölgedeki benign karakterli tümörler ve odontojenik kistlerle ilişkili bir araştırma bulunmamaktadır.

Her ne kadar literatürde odontojenik kistler ve odontojenik benign tümörlerin p53 ve iNOS salınımı açısından birbirleri ile karşılaştırmalı incelenmesi mevcut olmasa da, p53 ve iNOS un salınımının ayrı olarak değerlendirildiği çalışmalar mevcuttur.

Odontojenik keratokistlerde (OK) artmış p53 ekspresyonunu ilk gösteren çalışma Ogden ve diğerlerinin (101) 1992 de yayınlanan çalışmalarıdır. Ogden ve diğerleri 12 OK, 12 Dentijeröz kist ve 12 radiküler kiste çalışmışlar ve p53 proteinini tespit eden CM-1 tavşan polyklonal antikor ile çalışmışlardır. Hücre çekirdeğinde p53 proteini varlığı positif sonuç olarak kabul edilmiştir. OK'larda ayrıca PC10 antikor ile PCNA (prolifere olan hücre nükleer antijen) değerlendirmesi yapmışlar. Hücre bölünmesi yüzdesi için her OK örneğinin rastgele seçilen suprabazal tabakadaki 1500 epiteliyal hücrenin mitozları değerlendirilmiştir. OK üç kist tipi arasında p53 reaktivitesi saptanan

tek kist olarak bildirilmiş ve 12 OK dan 5 inde p53 pozitif reaksiyon saptanmıştır. Ayrıca OK'ların hepsi PCNA açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir. Nevroid Bazal Hücreli Karsinom Sendromu olan bir hastanın farklı zamanlarda alınan iki kistinden ilk alınan p53 açısından pozitif olarak değerlendirilmesine karşın üç yıl sonra alınmış olan ikincisi p53 negatif olarak değerlendirilmiştir. Başka bir hastadan alınan iki kist de benzer şekilde biri p53 pozitif ve diğeri p53 negatif olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirilen 12 kistten 3 ü rekürens olan ve 1 tanesi p53 pozitif olarak değerlendirilmiştir. 1500 hücrede suprabazal mitoz sayısı 0 ile 4 arasında değişmekteydi fakat p53 pozitif ve negatif örnekler arasında bu açıdan bir fark bulunamamıştı. Yazarlar CM-1 antikorunun hem mutant hem wild-tip p53 formlarını tanıması gerekçesiyle p53 pozitifliği gösteren örneklerin kesinlikle malignansi ile ilişkili olarak görülemeyeceğini belirmesine karşın 3 kist çeşidi arasından yalnızca karakteristiği agresif bir tümörle karşılaştırılan odontojenik keratokistte p53 pozitif boyanmanın gerçekleşmesine dikkat edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir ve ileri çalışmaların gerekli olduğunu vurgulamışlardır.

Slootweg (131), 9 ameloblastoma, 13 odontojenik keratokist, 15 dentijeröz kist, 6 radiküler kist ve 2 odontojenik karsinomada immünohistokimyasal olarak p53 protein reaksiyonunu ve Ki-67 reaktivitesini araştırmıştır. Araştırmada toplam 45 lezyonun 42'sinde pozitif p53 ekspresyonu saptanmış, odontojenik keratokist, ameloblastoma ve odontojenik karsinomada yoğun boyanma rapor etmiştir. p53 ile pozitif reaksiyon veren örneklerde, proliferasyon göstergesi olan Ki-67 antijeninin de pozitif olduğunu saptamıştır. Ancak bu proliferasyondaki artışın, p53 geninde meydana gelen mutasyondan mı yoksa başka etkenlerle stabilizasyonu sağlanan wild-tip p53'den mi kaynaklandığını, yalnızca immünohistokimyasal yöntemle söylemenin güç olduğunu bildirmiştir. Slootweg (131), odontojenik lezyonlarda yoğun pozitif p53 reaksiyon varlığının artmış proliferasyonla ilişkili olduğunu desteklediğini bildirmiştir.

Dina ve diğ. (34), iki granüler hücreli ameloblastoma örneğinde immünohistokimyasal yöntemle PCNA, bcl-2 ve p53 ekspresyonunu

araştırmıştır. Granüler hücrelerde hiçbir boyanma görülmezken; örneklerin birinde akantamatöz alanlardaki hücrelerin %80'i, diğerinde de %30'u PCNA ile pozitif immün reaksiyon vermiştir. Her iki örnekte akantamatöz alanlardaki hücrelerin %8'inde pozitif bcl-2 immün boyanma görülürken, hiçbir örnekte p53 ile boyanma gerçekleşmediği bildirilmiştir.

Li ve diğ. (75), 11'i izole, 5'i rekürent, 6'sı nevoid bazal hücreli karsinom sendromu (NBHKS) ile ilişkili 22 odontojenik keratokist;5 dentijeröz kist ve 5 radiküler kist epitelinde p53 ekspresyon varlığını, p53 immünoaktivitesi ile epiteliyal hücre proliferasyonu göstergesi olan Ki-67 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi belirlemek için immünohistokimyasal yöntemi kullanmışlardır. Ayrıca p53 geninin konumunu belirlemek için, üç farklı odontojenik keratokist ve bir radiküler kist olmak üzere 4 immünopozitif örnekte, kombine PCR-SSCP (polymerase chain reaction-single stranded conformation polymorphism) ile direkt görüntüleme tekniklerini kullanmışlardır. Çalışma sonucunda, en yoğun odontojenik keratokist kesitlerinde olmak üzere tüm doku kesitlerinde pozitif p53 immünboyanma tespit etmişlerdir. Odontojenik keratokistin suptipleri arasında p53 pozitifliği arasında belirgin bir fark bulunmadığını, ancak Ki-67 pozitif hücrelerin nevoid bazal hücreli karsinomla ilgili odontojenik keratokistlerde belirgin bir şekilde daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. NBHKS örnekleri hariç tutulduğunda, p53 ve Ki-67 arasında belirgin bir ilişki bulmuşlardır. Li ve diğerleri(75), NBHKS'lu odontojenik keratokistler hariç, stabilize edilen p53 protein birikiminin, odontojenik keratokistlerde proliferatif aktiviteyle ilişkili olabileceğini rapor etmişlerdir. p53 pozitif örneklerde yaptıkları PCR-SSCP ile direkt görüntüleme analizleri sonucunda, p53 geninde herhangi bir mutasyona rastlamamışlardır. Buna dayanarak, odontojenik keratokistlerde immünohistokimyasal yöntemle tespit edilen aşırı p53 protein birikiminin, incelenmeyen başka eksonlarda mutasyon olabileceği olasılığına rağmen ,normal p53 proteininin aşırı yapımı ve/veya stabilizasyonunun işareti olabileceğini bildirmişlerdir (75).

Lo Muzio ve diğ. (97), 16 NBHKS ile ilişkili ve 16 sendromdan bağımsız olarak görülen odontojenik keratokistlerde olmak üzere toplam 32

örnekte yaptıkları immünohistokimyasal araştırmada, proliferatif hücre nükleer antijeni (PCNA) , bcl-2, p53 ve cyclin D1 (neoplazi gelişmesinde rol oynayan bir protein) onko-proteinlerini araştırmıştır. Buna göre p53 immunreaktivitesi görülmeyen ile epitelyum hücrelerinin %10'una kadar pozitiflik görülen örnekler negatif, epitel hücrelerinin % 10-20 inden az reaktivite görülen örnekler hafif pozitif (+1), epitel hücrelerinin % 20'si ile 50'si arasında reaktivite görülen örnekler orta derecede pozitif (+2) ve epitel hücrelerinin % 50'nin üzerinde reaktivite görülen örnekler şiddetli pozitif (+3) olarak değerlendirmişlerdir. 29 örnekte bazal tabakadaki hücrelerde bcl-2 ile pozitif immünreaksiyon tespit edilirken, tüm NBHKS ile ilişkili odontojenik keratokistlerde pozitif, sendromla ilişkisi olmayan odontojenik keratokistlerde ise negatif p53 immünboyanması rapor edilmiştir. Tüm örneklerde PCNA boyanması saptanmış, ancak sadece NBHKS ile ilişkili odontojenik keratokist örneklerinde pozitif cyclin D1 reaksiyonu tespit edildiği rapor edilmiştir. Çalışmada p53 aşırı ekspresyonu varlığının, NBHKS ile ilişkili odontojenik keratokistlerde, PCNA pozitifliği ile birlikte takip süreçleri de göz önünde bulundurularak daha agresif bir fenotipi sergilediğini bildirmişlerdir.

Kumamoto'nun (65) 1997'de yayınlanan araştırmasında, immünohistokimya ve in situ DNA nick end labelling (m TUNEL) analizi kullanılarak 31 ameloblastomada ve 14 diş germinde bcl-2 proteini, p53 proteini ve Lewis^y antijeni incelenmiştir. Ameloblastomanın 12'si folliküler , 9'u pleksiform, 8'i granüler hücreli, 2'si malign olarak bildirilmiş, 14 diş germi örneğinden 14 mine organı 8 dental lamina kesiti hazırlandığı bildirilmiştir. Yaptıkları immünohistokimyasal analiz sonucunda p53 ekspresyonu hiçbir diş germi örneğinde görülmezken; 1 malign ameloblastoma örneğinde ve 6 folliküler, 6 pleksiform ve 2 granüler hücreli tip ameloblastoma olmak üzere toplam 14 ameloblastomada bazal tabakadaki hücrelerde pozitif p53 immün boyanması görülmüştür. Araştırmada, karşılaştırma için yapılan Ki-67 antijen reaktivitesinin p53 pozitif örneklerle uyumlu olduğu tespit edilmiş ve ameloblastomadaki p53 protein ekspresyonunun, hücre ölümünden ziyade hücresel proliferasyonu etkilediği bu bulgularla da desteklenmiştir. Aynı çalışma sonucunda p53 protein birikiminin odontojenik epitelde, onkogenezis

ve/veya malign transformasyonla ilişkili olabileceği savını desteklediği bildirilmiştir.

Tosios ve diğ. (141), 3 glandular odontojenik kist ve 6 dentijeröz kistte, bcl-2 proteini, Ki-67 antijeni ve p53 proteinini immünohistokimyasal olarak araştırmıştır. 6 dentijeröz kist örneğinin 5'inde p53 pozitifliği saptamışlardır.

Piatelli ve diğ. (107), 24 radiküler kist, 22 dentijeröz kist ve 20 odontojenik keratokistte immünohistokimyasal olarak p53 ekspresyonu incelemiştir. P53 pozitifliğini epitel hücrelerinin %10'undan daha azı boyandı ise negatif, epitel hücrelerinin %10'undan fazlası boyandı ise pozitif olarak değerlendirmiş ve 2 dentijeröz kist, 2 radiküler kist ve 9 odontojenik keratokistte pozitif immünreaksiyon tespit edildiği rapor edilmiştir ve bu gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu bildirmişlerdir. 20 odontojenik keratokistin 10'unda displazi olduğu, p53 pozitif olarak tespit edilen 9 örneğin 8'inde de bu displazinin görüldüğü bildirilmiştir. Pozitif p53 immünboyanma lokalizasyonunun odontojenik keratokistlerde parabazal, diğer kistlerde bazal tabaka olduğunu bildirmişlerdir. Öte yandan, odontojenik keratokistlerdeki boyanma yoğunluğunun diğer kistlere göre daha fazla olduğunu saptamışlardır. Yazarlar bu sonuçların, hücre poliferasyonundaki artmayla birlikte hücre dönüşü kontrolünde değişiklikler görülmesinin, odontojenik keratokistin biyolojik davranışını açıklayabileceğini bildirmişlerdir.

Agaram ve diğ. 2004'te yayınlanan makalesinde 10 odontojenik keratokisti tümör süpresör genlerdeki heterozygosite kaybını mikro diseksiyon ve semkuantatif genotipleme analizi ile incelemiştir. Analizi yapılan genler p53 üde içeren 10 tane tümör süpressör genlerdir. Buna göre 10 odontojenik keratokistin 7 sinde % 11 ile %80 arasında değişen oranda heterozygosite kaybı tespit edilmiştir. En yüksek oranda allel kaybı görülen genler p16(%75), p53 (%66), PTCH (%60) ve MCC (%60) olarak bulunmuştur. Uydu kistlerin (Daughter kistlerin) allel kaybı ile yüksek oranda ilişkili olduğunu da ayrıca bildirmişlerdir. Buna göre sonuç olarak belirgin sayıda odontojenik keratokistte bilindik tümör süpressör genlerde klonal

heterozygosite kaybı olduğunu belirtmişler ve bu sonuçların odontojenik keratokistlerin gelişimsel kistlerden çok neoplastik oldukları hipotezini desteklediğini belirtmişlerdir.

Kumamoto ve diğ.. (66), ameloblastomalardaki p53 gen durumu p53, MDM2 (murine double minute 2) ve p14^{arf} proteinlerinin salınımının odontojenik tümörlerin sitodifferansiyasyonu ve karsinogeneziste hücre siklusu regülasyonundaki rollerini araştırmışlardır. Bunun için 16 diş germinin, 46 benign ve 5 malign ameloblastomanın p53, MDM2 ve p14^{arf} salınımı açısından immünohistokimyasal değerlendirilmesini yapmışlardır. Ek olarak dondurulmuş doku örneklerinden 10 benign ve 1 malign (metastaz yapan) ameloblastomayı *direct DNA squencing* yöntemi ile p53 gen değişimi açısından değerlendirmişlerdir. p53 immunreaktivite bulgularını 4 gruba ayırarak incelemiştir. Buna göre p53 immunreaktivitesi görülmeyen örnekler negatif, epitel hücrelerinin % 5 inden az reaktivite görülen örnekler hafif pozitif (\pm), epitel hücrelerinin % 5 ile 25 arasında reaktivite görülen örnekler orta derecede pozitif (+) ve epitelyum hücrelerinin % 25 in üzerinde reaktivite görülen örnekler şiddetli pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Buna göre 16 diş germinden 2'sinde 46 ameloblastomadan 29 unda 5 malign ameloblastomanın da 5'inde immünohistokimyasal olarak pozitif immunreaktivite olduğunu saptamışlardır. Benign ve malign ameloblastomalardaki p53 salınımının diş germelerindekine göre belirgin şekilde daha şiddetli olduğunu belirtmişlerdir. Direct DNA squencing ile incelenen 10 benign 1 malign ameloblastoma p53 için orta derecede pozitif olarak nitelendirmişlerdir. Yazarlar sonuç olarak artmış p53,MDM2 ve p14^{arf} salınımının benign ve malign ameloblastomalarda p53-MDM2-p14^{arf} kaskadının değişimini gösterdiğini ve bunu da odontojenik epitelin oncogenezisinde ve malign transformasyonunda etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Barboza ve diğerlerinin (9) 2005 te yayınlanan makalesinde 16 ameloblastoma vakasında ve 8 adanomatoid odontojenik tümörde PCNA ve p53 ekspresyonları değerlendirilmiştir. Çalışmada ameloblastomalar değişik histolojik şekillerin gözlendiği solid tip ameloblastomalar olarak belirtilmiştir.

Bazı ameloblastomalarda birden fazla histolojik şekil bir arada gözlenmesine karşın en yaygın tipteki hücrelerin histolojik tipi o ameloblastoma için geçerli kabul edilmişti. Buna göre odontojenik tümörler 7 folliküler ameloblastoma, 4 pleksiform ameloblastoma, 3 akantamatöz+folliküler tip ameloblastoma, 2 basal hücreli ameloblastoma ve 8 adanamatoid odontojenik tümör olarak sınıflandırılmıştı. PCNA immunhistokimyasal boyaması için PC-10 antiikoru p53 boyaması için DO-7 antikoru kullanılmış. PCNA immunohistokimyasal olarak folliküler ameloblastomada yüksek oranda boyanma sergilerken p53 pleksiform tipte daha fazla boyanma oranı göstermiş. Ancak istatistiksel olarak ameloblastoma subtipleri arasında belirgin bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir.

Bu çalışmalar göz önünde bulundurularak çalışmamızın sonuçları değerlendirilmiş ve karşılaştırılmıştır. Örnek sayıları açısından bu çalışmalar değerlendirildiğinde toplam örnek sayısı açısından çalışmamız en kapsamlı çalışmalardan biridir. Gruplar tek tek değerlendirildiğinde ise ameloblastoma grubu Kumamoto ve diğerlerinin (66) 51 (46 benign, 5 malign) ameloblastomayı incelediği çalışmadan sonra en yüksek örneğe sahip çalışmadır ve yine Kumamoto'nun (65) 31 örneği incelediği çalışmasına yakındır. Odontojenik keratokist çalışmalarındaki örnek sayıları ele alındığında 16'sı NBHKS ile ilişkili, 16'sı sendromla ilişkisiz 32 odontojenik keratokistin incelendiği Lo Muzio ve diğerlerinin (97) çalışması p53 çalışması yapılan en yüksek örnek sayısını içeren çalışmadır. Li ve diğerlerinin (75) çalışmasındaki 22 odontojenik keratokist ve Piatelli'nin (107) 20 odontojenik keratokisti incelediği çalışmaları çalışmamızdaki 30 odontojenik keratokist örnek sayısına yakın çalışmalardır. Dentijeröz kist olgu sayıları açısından p53 çalışması yapılan yayınlar değerlendirildiğinde Piatelli'nin (107) 2001'de yayınlanan araştırmasında incelediği 22 dentijeröz kist olgusu çalışmamızdaki 25 dentijeröz kist olgusuna en yakın sayıdaki çalışmadır.

Olgu grupları açısından değerlendirildiğinde Sloomweg'in (131) çalışması çalışmamızdaki her üç grubuda kapsayan tek çalışmadır. Bunun dışında Ogden ve diğ. (101), Li ve diğ. (75) ve Piatelli'nin (107) çalışmaları olgu gruplarımızdan dentijeröz kist ve odontojenik keratokisti içermektedir. Lo

Muzio ve diğ. (97), Agaram ve diğ. (1) çalışma grubumuzdaki olgulardan odontojenik keratokistleri, Dina ve diğ. (34), Kumamoto'nun (65), Kumamoto ve diğ. (66), Barboza ve diğ. (9) çalışma grubumuzdaki olgulardan ameloblastomaları, Tosios ve diğ. (141) ise bu çalışmada da incelenen olgulardan dentijeröz kistleri içeren araştırma yapmışlardır.

p53 Reaktivitesinin değerlendirilmesi açısından araştırmalar incelendiğinde Ogden ve diğ. (101), Sloomweg (131), Li ve diğ.(75), Tosios ve diğ. (141) ve Barboza ve diğ. (9) olgulardaki p53 reaktivitesini pozitif ve negatif olarak ayırarak incelemişlerdir. Lo Muzio ve diğ. (97), Piatelli ve diğ. (107), Kumamoto ve diğ. (66) epitelin boyanma yüzdesine göre değerlendirme yapmıştır.

Bu araştırmanın örnekleri hem pozitif ve negatif olarak ayırarak hem de epitelin boyanma yüzdesine göre sınıflandırarak değerlendirilmiştir ve istatistiksel olarak incelenmiştir. Bu iki tip sınıflama da literatürde kullanılan sınıflandırmalardır. Buna göre dentijeröz kist ve ameloblastoma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,256$). Ancak dentijeröz kist ve odontojenik keratokist grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlenmektedir ($p=0,002$). Odontojenik keratokistte p53 değerlerinin belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu görülmektedir. Odontojenik keratokist ve ameloblastoma grupları arasında ise Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0,034$, $p>0,017$).

Bu araştırmadaki sonuçlarla diğer araştırmaların sonuçları karşılaştırıldığında Piatelli ve diğerlerinin (107), dentijeröz kist ve odontojenik keratokistler için bulunduğu sırasıyla %9.1 ve %45'lik oranlara göre daha yüksek olsa da aradaki fark benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı çıkmasıyla uyumludur. Ogden ve diğ. (101) 12 dentijeröz kiste p53 reaktivitesi olmadığını bildirmişler ancak 12 OK'nın 5'inde p53 pozitif olarak değerlendirmişlerdir. Bu sonuçlar araştırmamızdaki oranlara göre farklılık gösterse de gerek p53 pozitifliği değerlendirme kriterlerini tam açıklanmamış olması gerekse örnek sayısındaki fark bu değişikliği açıklayabilir. Ancak

çalışmamızda p53 pozitifliği açısından dentijeröz kistlerle odontojenik keratokistlerin p53 pozitifliği arasında belirgin fark olduğu tespit edilmiştir. Sloomweg (131) 45 lezyondan 42 sinde p53 pozitifliği tespit etmiş olmasına rağmen çalışmamızda toplam 87 lezyondan 45'inde p53 pozitifliği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar arasındaki fark gerek olguların sayısındaki farklılığa gerekse bizim tektük boyanma gösteren örnekleri negatif olarak tanımlamamızdan kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca Tosios ve diğ. (141) 6 dentijeröz kist örneğinin 5'inde p53 pozitifliği saptamışlardır bu oran çalışmamızda bulduğumuz orandan çok fazladır ancak diğer çalışma çok fazla olmayan bir örnek sayısına sahiptir. Araştırmamız Kumamoto'nun (65) 31 ameloblastomadan 14'ünde p53 pozitifliği bildirdiği çalışmasıyla benzer bulgulara sahiptir. Aynı zamanda, Kumamoto ve diğerlerinin (66) 46 ameloblastomadan 26'sında p53 pozitifliği bildirdiği çalışmasına yakındır.

Araştırmamızda kullanılan monoklonal p53 antikoru (DO-7) hem mutant-tip hem de *wild*-tip p53 ile reaktivite gösterebilmektedir. Her ne kadar *wild*-tip p53'ün yarı ömrünün çok kısa olduğu ve immunohistokimyasal yöntemlerle tespit edilemeyeceği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiş olsa da (102, 131, 75) benign lezyonlarda tespit edilen p53'ün tipi tartışma konusudur. Soini ve diğ. (133) benign deri lezyonlarında, Hall ve diğ. (43) UV ile irradiye olmuş normal insan derisinde p53 salınımı tespit etmiş ve bu proteinin *wild*-tip p53 olduğunu düşündüklerini bildirmişlerdir. Chang ve diğ. (19) bazı virüslerin ve MDM2 gibi bazı hücrel proteinlerin, *wild*-tip p53 inaktivasyonuna ve daha sonra stabilizasyonuna neden olduğunu bildirmiş ve bu hipotezleri Hall ve Lane (44) tarafından desteklenmiştir. Literatürde p53 gen mutasyonlarının değerlendirilmesi için SSCP (*single strand confirmation polymorphism*), PCR (Polymerase Chain Reaction) ve yeni geliştirilen *Yeast functional assay* gibi yöntemler kullanılmaktadır (128). Ancak mükemmel laboratuvar koşulları çok zaman ve para gerektiren ve uygulamada pek çok güçlüklerle karşılaşılacak tekniklerdir. İmmunohistokimyasal yöntemle, p53 genindeki mutasyonların varlığı tespit edilemediğinden, mutasyon varlığından söz edilecekse araştırmamızın ileri tekniklerle desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Odontojenik keratokistler rekürrens ve değişik büyüme potansiyelleri olduğu bilinmektedir (107). Ayrıca çenelerde görülen kistlerin malign transformasyonu ender olarak bildirilmiş olsa da keratinize kistlerde ve odontojenik keratokistlerde daha sık geliştiği bildirilmiştir (101,75). Araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre odontojenik keratokistlerin epitelinde tespit edilen kuvvetli p53 salınımının ister mutant-tip p53 olsun, ister çeşitli etkenlerle stabilitesi artmış wild-tip p53 olsun, epitelin bazal tabakasında hücrelerin hücre döngüsü kontrolünde meydana gelen bir değişikliğe bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Böylece bu hücrelerin proliferasyonunda artıştan bahsedilebileceği görüşündeyiz.

Yaptığımız immunohistokimyasal çalışmada, ameloblastoma örneklerindeki p53 reaktivitesi oranları Kumamoto (65) ve Kumamoto ve diğ. (66) ile uyumludur. Çalışmamızda belirtilen p53 protein birikiminin ameloblastomaların proliferatif aktivitesi ile ilgili olduğunu destekleyen literatür ile uyumlu olduğunu düşünmekteyiz.

Nitrik oksitin oral hastalıklardaki rolü hakkında yayınlanmış sayılı çalışma vardır. Bununla beraber nitrik oksite olan ilgi hızla büyümektedir. Özellikle nitrik oksitin patogenezdaki ve oral kanserlerin tümör biyolojisindeki rolü araştırmacıların ilgisini çekmektedir (16). Nitrik oksit, oral hastalıklarla ilgili olarak periodontal hastalıklar, odontojenik kistler ve periapikal infeksiyonlar, mukozal inflamatuvar hastalıklar, tükürük bezi hastalıkları, oral karsinomlar ve displazilerdeki etkileri açısından incelenmiş ve incelenmektedir (16, 22, 24).

Takeichi ve diğerleri (137), interferon- γ (INF- γ) ve iNOS üreten hücreleri radiküler kistlerde incelemişlerdir. Endodontik cerrahi sırasında 20 hastadan elde edilen inflame periapikal dokuları histolojik olarak ve immunohistokimyasal yöntemlerle incelemişlerdir. Histolojik incelemeleri sonucu tüm lezyonların radiküler kist olduğunu doğrulamışlar ve immunohistokimyasal olarak konsantre tavşan anti-iNOS serumu ve INF- γ monoklonal antikoru kullanılarak lezyonlardan elde edilen preparatlarda çift boyama gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak lezyonlarda iNOS üreten

hücrelerin INF- γ hücrelerin yanında konumlandığını ancak epitelial hücrelerde belirgin düzeyde iNOS üretimi olmasına karşın INF- γ üretiminin olmadığını saptamışlardır. Sonuç olarak iNOS salınımının periapikal lezyonlarda önemli bir role sahip olduğunu düşündüklerini bildirmişlerdir.

Brennan ve diğerleri (15) 2000 de yayınlanan çalışmalarında oral epitelial displazinin şiddeti ile iNOS ekspresyonu arasında bir korelasyon varlığını araştırmışlar ve şiddeti hafiften şiddetliye kadar değişen 26 oral epitelial displazi vakasında iNOS varlığını immunohistokimyasal olarak ve Western blot yöntemi ile değerlendirmişler. Buna göre iNOS boyanması negatif 0, hafif 1, orta 2 ve şiddetli 3 olarak sınıflandırılmış ayrıca speysmendeki yaygınlığına göre negatif 0, %25'ten az 1, %25 ile 50 arası 2, %50 ile 75 arası 3, %75 ten fazlası ise 4 olarak skorlandırılmıştır. Lezyonun boyanma yoğunluğu ile boyanma yüzdelerinin skoru toplandığında ortaya çıkan değer o lezyon için sonuç skor olarak belirlenmiş böylece her bir lezyon için 0 ile 7 arasında değişen bir skor elde edilmiş. Buna göre immunohistokimyasal olarak iNOS boyanması skorları ile displazi şiddeti eşlendiğinde toplam 9 hafif displazi görülen olguda iNOS skoru 2 ile 3 arasında değerler ile ortalama 2 olarak bulunmuş. 7 adet orta şiddette displazi içeren örnekte iNOS skoru 3 ile 5 arasında değişen değerlerde ortalama 4 olarak bulunmuş. 10 adet şiddetli displazi içeren örneklerde ise iNOS skorları 5 ile 7 arasında değişen değerlerde ortalama 5 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar eşliğinde iNOS reaktivitesi ile displazinin şiddeti arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğunu saptamışlardır.

Chen ve diğ. (25) 2002 yılında yayınlanan makalelerinde oral submüköz fibrozis, veriköz hiperplazi ve veriköz karsinomalarda iNOS aktivitesini immunohistokimyasal yöntemlerle değerlendirmişler. iNOS reaktivitesini negatif (%25 altında bir boyanma varsa) veya pozitif (% 25'in üzerindeki boyanmalarda) olarak değerlendirmişler. Buna göre 20 oral submüköz fibrozis vakasından 17 sinde (%85) pozitif olarak değerlendirilen membranöz bir boyanma olduğunu, 20 veriköz hiperplazi vakasının 16 sında (%80) pozitif olarak değerlendirilen sitoplazmik boyanma olduğunu, 20 veriköz karsinomdan 17 (%85) sinde pozitif olarak değerlendirilen sitoplazmik

hem nükleer bir boyanma paterni olduğunu bildirmişlerdir. Buna bağlı olarak NOS-bağımlı mekanizmaların premalignant lezyonların malignant değişimde etkisi olabileceğini savunmuşlardır.

Suzuki ve diğerleri (136), periapikal inflamatuvar lezyonları çevreleyen epitelin aktivasyonu ve proliferasyonundan sorumlu mekanizmaları incelemek için iNOS ve ısı şok proteinlerini (HSP) immunohistokimyasal olarak incelemiştir. Bunun için 15 apikal granülom, 16 radiküler kist, 10 residüel radiküler kisti immunohistokimyasal olarak iNOS için tavşan anti-iNOS serum ile ve HSP'ler için uygun monoklonal antikorlar kullanarak incelemiştir. iNOS boyanmasını boyanma şiddetine göre 0 (boyanma yok), 1+ (hafif boyanma), 2+ (orta şiddette boyanma), ve 3+ (şiddetli boyanma) olarak değerlendirmişlerdir. Periapikal inflamatuvar lezyonlarda granülasyon dokusu tabakalarında makrofajların çoğu ve bazı lenfositlerde sitoplazmik boyanma olduğunu bildirmişlerdir. Bununla beraber radiküler kistlerde ve residüel radiküler kistlerde epiteliyel hücrelerin pozitif boyanma gösterdikleri ve radiküler kistlerin residüel radiküler kistlere oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yoğun boyanma gösterdiklerini bildirmişlerdir. Sonuç olarak peri apikal epiteliyel hücrelerde iNOS salınımının inflamatuvar süreçlerde ve bu hücrelerin proliferasyonunda rol oynadığını düşündüklerini bildirmişlerdir.

Kumamoto ve diğerleri (67), nitrik oksit ve stress proteinlerinin onkogeneze ve odontojenik epitelin sitodiferansiyasyonundaki muhtemel rolünü açıklığa kavuşturmak için diş germelerinde ve ameloblastomalarda iNOS ve HSP'leri immunohistokimyasal metodlarla incelemiştir. Bunun için 7 diş germinde 36 benign ameloblastomada ve 5 malign ameloblastomada immunohistokimyasal olarak iNOS için tavşan anti-iNOS antikorunu ve HSP'ler için uygun antikorlarla boyama gerçekleştirmişlerdir. iNOS için diş germelerinde mine epitelinin iç kısımlarında, dental papildeki endotelial hücrelerde ve dental foliküllerin iNOS açısından çok zayıf reaktif olduğunu ancak folliküler ve pleksiform ameloblastomaların periferel küboidal ve kollumner hücrelerinde hafif boyanma olduğunu bildirmişlerdir. Akantomatöz ameloblastomadaki keratin üreten hücrelerin artmış iNOS reaktivitesi gösterdiği ancak granüler hücreli ameloblastomalarda granüler hücrelerin hiç

iNOS reaktivitesi göstermediğini vurgulamışlar ve basal hücre ameloblastomaları ve dezmoplastik ameloblastomaların neoplastik hücrelerinde diffüz ancak hafif iNOS reaktivitesi olduğunu bildirmişlerdir. Metastaz yapan bir ameloblastomanın foliküler ameloblastomalara benzer boyanma şekli gösterdiği ancak ameloblastik karsinomların neoplastik hücrelerinde diffüz ve şiddetli şekilde iNOS pozitifliği görüldüğünü saptamışlardır. Tartışmalarında iNOS veya ürünlerinin ameloblastoma hücrelerinin diferansiyasyonunda etken olabileceğini vurgulamışlar ve sonuç olarak iNOS aktivasyonunun epitelyal odontojenik tümörlerin malignensi potansiyeli ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

İncelenen literatürde çalışmamızdaki örnek gruplarının tümünü içeren herhangi bir çalışma olmamasına karşın, örnek gruplarımızdan sadece ameloblastomalarla ilgili bir araştırma mevcuttur. Örnek grubumuzdan dentijeröz kistlerde ve odontojenik keratokistlerde hiç çalışma yapılmamış olmasına karşın Brennan ve diğerleri (16) 2003 yılında yayınlanan derlemelerinde odontojenik keratokistlerle ilgili bir çalışma yürüttüklerini bildirmişlerdir.

Belirtilen araştırmaların dışında Lin ve diğerleri 2007 (77) yılında yayınlanan araştırmalarında periapikal lezyonların gelişiminde önemli hücresel komponentler, toplam makrofaj ve osteoblast hücrelerinin apoptozisinin düzenlenmesinde nitrik oksit rolünü araştırmışlar ve sonuçları eşliğinde nitrik oksit periapikal lezyonun gelişimini osteoblast ve makrofajların apoptozisine neden olarak sağladığını düşündüklerini bildirmişlerdir.

iNOS reaktivitesi açısından sonuçlar boyanma yoğunluğu ve yüzdesine göre skorlandığında 25 dentijeröz kisten 7'si (%28) 0; 9'u (%36) 1; 3'ü (%12) 2; 4'ü (%16) 3; 2'si (%8) 4 olarak ortalama $1,400 (\pm 1,29099)$, 30 odontojenik keratokistten 4'ü (%13,3) 0; 9'u (%30) 1; 6'sı (%20) 2; 6'sı (%20); 5'i (%16,7) 4 olarak ortalama $1,9667 (\pm 1,32570)$; 32 ameloblastomadan 10'u (%31,3) 0; 14'ü (%43,8) 1; 4'ü (%12,5) 2; 1'i (%3,1) 3 ve 3'ü (%9,4) 4 olarak ortalama $1,1562 (\pm 1,19432)$ olarak skorlanmıştır.

iNOS reaktivitesi açısından gruplar pozitif ve negatif skorlar olarak değerlendirildiğinde 25 dentijeröz kistten 7'si (%28) negatif, 18'i pozitif (%72), 30 odontojenik keratokistten 4'ü negatif (%13,3), 26'sı (%86,7) pozitif, 32 ameloblastomadan 10'u (%31,3) negatif, 22'si pozitif (%68) olarak ayrılmış oldu. Buna göre bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,223$).

Bu sonuçlar ışığında çalışmamızın iNOS bulguları açısından literatürde karşılaştırma yapabileceğimiz tek bir araştırma olduğu görülmektedir. Kumamoto ve diğerlerinin (67) 2002 de yayınlanan ameloblastoma için kullandıkları örnek sayısı ile araştırmamızın sayısı çok yakındır. Ameloblastomaların iNOS reaktivitesini incelerken dikkatimizi çeken akantomatöz alanlarda şiddetli reaksiyon bulgusunda Kumamoto ve diğerlerinin (67) çalışmasındaki bulgularla uyumludur.

Çalışmamızdaki örnek gruplarından odontojenik keratokistler ve dentijeröz kistlerle ilgili literatürde herhangi bir çalışma mevcut değildir. Nitrik oksitin yüksek oranlarda salınımının patolojik sonuçlara sebep olabileceği bildirilmiştir. Bu açıdan dentijeröz kistlerde iNOS reaktivitesi ameloblastoma lardaki salınımına yakın olarak bulunmuştur. Odontojenik keratokistlerde ise çalışma grubumuzdaki örnekler arasındaki en yüksek iNOS reaktivitesi oranları görülmüştür. Ayrıca odontojenik keratokistle ameloblastoma grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Odontojenik keratokistlerde iNOS reaktivitesi anlamlı şekilde daha fazladır. Odontojenik keratokistlerde iNOS reaktivitesi açısından dentijeröz kistlerle de bir farklılık gözükse de, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu yüksek reaktivitenin odontojenik keratokistlerin epitel özelliği ile ilgili olabileceğini akla getirmektedir. Ancak bunun ileri çalışmalarla desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Daha önce de belirttiğimiz gibi literatürde odontojenik kistler ve odontojenik benign tümörlerin p53 ve iNOS salınımı açısından birbirleri ile karşılaştırmalı incelenmesi mevcut değildir. Ancak p53 ve iNOS açısından baş boyun bölgesi karsinomlarında, premalignant lezyonlarda araştırmalar yapılmıştır.

Brennan ve diğerleri (12) oral epiteliyal displazilerde iNOS ve p53 arasındaki etkileşimi incelemişlerdir. Bunun için değişen şiddette 36 oral displazide immunohistokimyasal olarak p53 ve iNOS için spesifik monoklonal antikolar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekleri her iki antikor için speysmendeki yaygınlığına göre hiçbir hücrede boyanma görülmezse 0, %25'ten az hücrede görülen boyanmada 1, %25 ile 50 arası hücrede görülen boyanmalarda 2, %50 ile 75 arası hücrede görülen boyanmalarda 3, %75 ten fazla hücrede görülen boyanmalarda ise 4 olarak ve boyanma şiddetine göre 0 (boyanma yok), 1+ (hafif boyanma), 2+ (orta şiddette boyanma), ve 3+ (şiddetli boyanma) olarak skorlamışlardır. Böylece bu skorlar boyanma yoğunlu ve yüzdesi birleştirilerek 0 ile 7 arasında bir skor olarak incelenmiştir. iNOS açısından değerlendirmede hafif displazi görülen iki örnek dışında bütün örneklerde pozitif iNOS boyaması olduğunu ayrıca displazinin şiddetinin artmasıyla hem boyanma yoğunlu hemde yüzdesinin arttığını bildirmişlerdir. p53 boyanması 16 olguda görülmüş ve displazinin şiddeti arttıkça boyanma yüzdesinde artış olduğu belirtilmiştir. Bu 16 örnek hem iNOS hem de p53 için pozitif olarak değerlendirilmiştir. iNOS ve p53 boyanma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak oral displazilerde görülen iNOS salınımının hem displazinin şiddetiyle hem de p53 salınımı ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Brennan ve diğerleri (14) iNOS tarafından uzun süreli nitrik oksit salınımının insan kanserlerinde anjiyogenez ve metaztazla ilişkilendirildiği; hayvan modellerinde mutant tip p53'ün değil ama *wild*-tip p53'ün iNOS salınımını düşürdüğü ve bunun da tümör gelişimini azaltığının gözlemlendiği belirtilerek oral skuamöz hücreli karsinomlarda iNOS ile p53 arasında herhangi bir koreleasyon olup olmadığını karşılaştırmışlardır. Bunun için 56 oral skuamöz hücreli karsinomda hem iNos hemde p53 için monoklonal

antikorlar kullanılarak immunohistokimyasal boyamalar yapmışlardır ve p53 için nükleer, iNOS için sitoplazmik boyanmaları pozitif olarak kabul etmişlerdir. Örnekleri her iki antikör için speysmendeki yaygınlığına göre hiçbir alanda boyanma görülmezse 0, hücrelerin %25'inden az boyanma izlendi ise +1, %25 ile 50 arasında boyanma görüldü ise +2, hücrelerin %50 ile 75 arasında boyanma görüldü ise +3, %75 ten fazla boyanma için +4 olarak skorlamışlardır. Buna göre 31 olguda hem iNOS hem de p53 için pozitif boyanma görülmüştür. Her ikisinde negatif görüldüğü 11 olgunun yanı sıra 2 örnekte p53 pozitif olmasına karşı iNOS negatif, 12 örnekte iNOS pozitif olmasına karşı p53 negatif olarak değerlendirilmiştir. Böylece iNOS ve p53 salınımı arasında belirgin bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca iNOS ve p53 boyanmasının çoğunun keratin incileri etrafında olduğunu bildirmişlerdir.

Chen ve diğ. (23) 2003 yılında yayınlanan çalışmalarında deneysel olarak oluşturulan bukkal cep karsinomlarında iNOS ve p53 protein ve mRNA ekspresyonunun ilişkisini incelemeyi amaçlamışlar. Bunun için 25 hamsterin 13'ünde bukkal cep karsinomları oluşturulmuş ve bu lezyonlarda immunohistokimyasal olarak ve insitu RT-PCR ve RT-PCR ile iNOS ve p53 ilişkisini değerlendirmişler. Geliştirilen 13 karsinomun 13'ünde de hem immünohistokimyasal olarak iNOS ve p53 salınımına hem de insitu RT-PCR ve RT-PCR ile mRNA ekspresyonları değerlendirildiğinde iNOS ve p53 ekspresyonlarının yüksek derecede ilişkili olduğu saptanmıştır. İmmunohistokimyasal olarak incelenen örneklerde 13 örnekte 13'ü iNOS için pozitif olarak değerlendirilirken bu 13 örneğin p53 açısından değerlendirilmesinde 8'i pozitif olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak oral karsinogeneziste iNOS ile p53 salınımı arasında belirgin bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Literatürde deri ve gastrointestinal sistemdeki benign lezyonlarda iNOS ve p53'ün karşılaştırmalı incelemeleri mevcut olmasına karşın odontojenik kistlerde ve epitel kökenli odontojenik tümörlerde bilinen bir çalışma mevcut değildir. Araştırmamız bu açıdan bir ilk özelliğini taşımaktadır.

Bu araştırmada boyanma yoğunluğu ve yüzdeleri açısından skorldama yapılarak incelendiğinde Dentrigenöz grubu içerisinde iNOS skorları ile p53 skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir doğrusal ilişki tespit edilmedi ($\rho=0,141$ ve $0,502$). Ameloblastoma grubu içerisinde iNOS skorları ile p53 skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir doğrusal ilişki görüldü ($\rho=0,408$ ve $0,020$). Buna göre; iNOS skoru arttıkça p53 skorunda da anlamlı artış görülmektedir. OK grubu içerisinde iNOS skorları ile p53 skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir doğrusal ilişki tespit edilmedi ($\rho=-0,210$ ve $0,266$).

Bu araştırmada ameloblastoma grubu için geçerli olan iNOS skorları ile p53 skorları arasındaki doğrusal ilişki varlığı literatürde malign veya prekanseröz lezyonlarda görüldüğü gibi belirgindir. Bu ameloblastomalarda iNOS şiddetinin artmasıyla p53 salınımıyla ilgili reaksiyonlar arasında benign tümöral lezyonlarda da ilişki olduğu hipotezini kuvvetlendirmektedir. Bu ilişki ile ilgili olarak Ambros ve diğerlerinin (4) ağıklaması mutant p53 geninin kontrol mekanizmasının başarısız olmasına ve böylece iNOS'un sürekli salınımına yol ağtığı şeklinde dir. Ancak stabilizasyonu artmış *wild*-tip p53'ünde iNOS tarafından üretilen nitrik oksite cevap olarak artabileceği de literatürde belirtilmiş diğer bir görüştür (12). Ancak bu görüşlerden Ambros ve diğerlerinin (4) ağıklaması hem p53 hemde iNOS'un negatif olduğu örneklerin normal p53 salınımı sonucu iNOS salınımının azalması anlamına geldiğini vurgulamaktadır.

Bu araştırmada gerek iNOS gerekse p53 açısından en fazla immün reaktivite gösteren odontojenik keratokistlerde, iNOS skorldamasında artışla p53 skorldaması arasında pozitif bir ilişki bulunamamıştır. Bu odontojenik keratokistlerde p53'ün iNOS'tan bağımsız farklı mekanizmalarca da etkilenebildiğini gösterdiği düşünölmektedir.

Dentijeröz kistler klinik görüntülerini yansıtır şekilde araştırmamızda hem iNOS skorlarının p53'le ilişkisi açısından bir korelasyon bulunmadığı ve düşük p53 reaktivitesi göstermiştir. Bu odontojenik keratokistle p53 reaktivitesi içinde görölen belirgin farklılıkta göz önüne alındığında

odontojenik keratokistlerin proliferatif aktivitesinin diğ er odontojenik kistlere göre çok daha fazla olduğunu ve daha agresif klinik seyrinde ilişkili olabileceğ i savını desteklemektedir.

Bu çalışmada odontojenik orijinli gelişimsel kistlerden dentijeröz kist ve odontojenik keratokist ve odontojenik tümörlerden ameloblastomalarda tümör süpressör gen p53 ve tümör gelişimi ve inhibisyonunda kompleks rolü olduğu tespit edilen iNOS enzimi aktivitesini immunohistokimyasal yöntemlerle karşılaştırmalı olarak değerlendirmeye çalışılmıştır. Uygulanan immunohistokimyasal yöntemin prognostik ve diagnostik avantajları olsa da elde edilen sonuçların bu proteinlerin mekanizmalarının ve karşılıklı etkileşimlerinin daha ileri araştırmalarla geliştirilmesi gerektiğ ini düşünölmektedir. Bu amaçla yapılacak çalışmalarda özellikle iNOS ve p53 ilişkisi açısından ameloblastomalar ve odontojenik keratokistlerde rekürens ve malign transformasyonla olan ilişkisi, p53 mutasyonlarının immunohistokimyasal olarak tespit edilen reaktivitesinde ne kadar ilişkili olduğu ve inflamatuvar süreçlerin iNOS ve p53 ilişkisi açısından ne oranda etkili olduğ unun araştırılması oral ve maksillofasiyel patolojiye yeni boyutlar katabileceğ ini düşünölmektedir.

SONUÇLAR

Bu çalışmada immunohistokimyasal yöntemlerle, dentijeröz kist, odontojenik keratokist ve ameloblastomalarda p53 protein ve indüklenebilir nitrik oksit sentez enzimi reaktivitesini değerlendirilmiştir. Sonuçlar hem sadece pozitif ve negatif olarak hem de reaktivite şiddeti ve yüzdesine göre skora yapılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Buna göre:

- İncelenen her üç grubun içerisinde hem iNOS hem de p53 reaktivitesi açısından immünreaktivite gösteren örnekler mevcuttur.
- iNOS immünreaktivitesi açısından incelenen Dentijeröz kist örneklerinin %72 sinde, odontojenik keratokistlerin %87sinde , ameloblastoma örneklerinin %69 unda çeşitli skorlarda reaktivite varlığı gözlenmiştir. Bu açıdan grupların istatistiksel olarak ikili karşılaştırmalarında sadece odontojenik keratokist ile ameloblastoma grubu arasında fark anlamlı bulunmuştur. Diğer grupların karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.
- Odontojenik keratokistlerin iNOS değerlerindeki yüksek oranın bu kistin epitelinin karakteristiği ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Literatürde bu konu ile ilgili bilgimiz dahilinde bir araştırma bulunmamaktadır ve yapılacak araştırmalara açık bir konu olduğu düşünülmektedir.
- p53 İmmünreaktivitesi bulgularına göre dentijeröz kist grubu örneklerinin %68 inde reaktivite görülmemiş, %32 sinde değişen yaygınlıkta reaktivite görülmüştür, Odontojenik keratokist örneklerinin %27 sinde p53 reaktivitesi görülmezken, örneklerin %73 ünde değişen yaygınlıkta reaktivite görülmüştür. Ameloblastoma örneklerinin %53 ünde p53 reaktivitesi görülmezken, %47 sinde değişen yaygınlıkta reaktivite görülmüştür. p53 reaktivitesi açısından istatistiksel olarak örnekler karşılaştırıldığında odontojenik keratokist grubu ile dentijeröz kist grubu arasında istatistiksel olarak fark

anlamli bulunmuştur. Diğer grupların karşılaştırılmasında istatistiksel olarak fark anlamli bulunmamıştır.

- p53 skorlarında Odontojenik Keratokist ve dentijeröz kist grupları arasındaki farkın Odontojenik keratokistlerin diğer odontojenik kistlere göre agresif seyrini açıklamakta yardımcı olabileceği düşünölmektedir. Bu araştırmada elde edilen sonuçlara göre odontojenik keratokistlerin epitelinde tespit edilen kuvvetli p53 salınımının ister mutant-tip p53 olsun, ister çeşitli etkenlerle stabilitesi artmış wild-tip p53 olsun, epitelin bazal tabakasında hücrelerin hücre döngüsü kontrolünde meydana gelen bir değişikliğe bağlı olduğunu düşünölmektedir. Böylece bu hücrelerin proliferasyonunda göreceli bir artıştan bahsedilebileceği düşünölmektedir.
- iNOS skorları ile p53 skorları arasındaki korelasyonun istatistiksel olarak incelenmesinde ameloblastoma grubunda iNOS skorları ve p53 skorları arasında istatistiksel olarak anlamli pozitif bir korelasyon olduğu görölmüştür. Buna göre; iNOS skoru arttıkça p53 skorunda da anlamli artış görölmektedir. Diğer iki örnek grubunda iNOS skorları ile p53 skorları arasındaki istatistiksel olarak anlamli bir korelasyon bulunmamıştır.
- iNOS ve p53 ilişkisinin açıklamasında literatürde de değinilmiş olan mutant p53 geninin, iNOS üzerindeki kontrol mekanizmasının başarısız olması sonucu, iNOS'un sürekli salınımına olanak sağladığı savının bu çalışmada ameloblastoma grubunda iNOS ve p53 arasındaki korelasyonun nedenini belirttiği düşünölmektedir. Ancak sadece immunohistokimyasal çalışmalarla kesin bir yargıya varmanın mümkün olmadığını ve ek olarak DNA mutasyonlarını tespit eden yöntemlerle immunohistokimyasal çalışmaların desteklenmesi gerektiğini ve uzun süreli takipleri de içeren araştırmalarla benign olmasına karşı metazoz yapabileği bilinen ameloblastomaların bu biyolojik karakterinde iNOS ve p53 arasındaki etkileşimin rolünün kesin bir açıklığa kavuşturulabileceğini kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Agaram P. N.,M.D.,Bobby M. Collins D.D.S.,Leon Barnes M.D.,Deren Lomago B.S.,Dalal Aldeeb M.D.,Patricia Swalsky B.S.,Sydney Finkelstein M.D., Jennifer L. Hunt M.D.,Molecular analysis to demonstrate that odontogenic keratocysts are neoplastic, *Archives of pathology & laboratory medicine*,128,313-317, 2004.
2. Adams J.M., Cory S., The Bcl-2 Protein Family:Arbiters of Cell Survival. *Science*, 281, 1322-1326, 1998.
3. Ambs S., Bennett W.P., Merriam W.G., Ogunfusika M.O., Oser S.M.,Khan M.A., Vascular endothelial growth factor and nitric oxide synthase expression in human lung cancer and the relation to p53, *British journal of cancer*,78, 223-239, 1998.
4. Ambs S.,Hussain S.P., Harris C.C.,Interactive effects of nitric oxide and the p53 tumor suppressor gene in carcinogenesis and tumor progression, *The Faseb Journal*, 11,443-448, 1997.
5. Ambs S.,Ogunfusika M.O., Merriam W.G., Bennett W.P., Billiar T.R.,Harris C.C.,Up-regulation of inducible nitric oxide synthase expression in cancer-prone p53 knockout mice, *Medical Sciences, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.*,95,8823-8828, 1998
6. Baas I.O., Mulder J.W.R., Offerhaus G.J.A., Vogelstein B., Hamilton S.R., An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms, *The Journal of pathology*, 172, 5-12, 1994.
7. Badn W., Hegardt P.,Fellert M.A., Darabi A.,Esbjörnsson M.,Smith K.E., Janelidze S.,Salford L.G., Visse et P.Siesjö E., Inhibition of inducible nitric oxide synthase enhances anti-tumour immune responses in rats immunized with IFN- γ - secreting glioma cells, *Scandinavian Journal of Immunology*,65,289-297, 2007.

8. Bakaeen G., Rajab L.D., Sawair F.A., Hamdan M.A.M., Dallal N.D., Nevoid basal cell carcinoma syndrome: a review of the literature and a report of a case, *International Journal of Pediatric Dentistry*, 14, 279-287, 2004.
9. Barboza C.A.G., Pereira Pinto L., Freitas R.A., Costa A.L.L., Souza L.B., Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and p53 protein expression in ameloblastoma and adenomatoid odontogenic tumor, *Brazilian Dental Journal*, 16(1), 56-61, 2005.
10. Bartek J., Bartkova J., Vojtesek B., Staskova Z., Rejthar A., Kovarik J., Lane D.P., Patterns of expression of the p53 tumour suppressor in human breast tissues and tumours in situ and in vitro, *International journal of cancer*, 46, 839-884, 1990.
11. Booth P.W., Schendel S.A., Hausemen J.E., "Maxillofacial Surgery", Vol1, Churchill Livingstone, London, 1999.
12. Brennan P.A., Conroy B., Path F.R.C., Spedding V.A., Expression of inducible nitric oxide synthase and p53 in oral epithelial dysplasia, *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics.*, 90, 624-629, 2000.
13. Brennan P.A., Downie I.P., Langdon J.D., Zakit G.A., Emerging role of nitric oxide in cancer, *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 37, 370-373, 1999.
14. Brennan P.A., Pacios-Callendar M., Umar T., Hughes D., Spedding V.A., Zaki G.A., Correlation between type II nitric oxide synthase and p53 expression in oral squamous cell carcinoma, *British Journal of Oral Maxillofacial Surgery*, 38, 627-632, 2000.
15. Brennan P.A., Pacios-Callendar M., Sinclair D., Spedding V.A., Zaki G.A., Does expression of inducible nitric oxide synthase correlate with severity of oral epithelial dysplasia?, *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 28, 44-48, 2000.

16. Brennan P.A., Thomas G.J., Langdon J.D., The role of nitric oxide in oral diseases, *Archives of oral biology*, 48, 93-100, 2003.
17. Burns J.E., Baird M.C., Clark L.J., Burns P.A., Edington K., Chapman C., Mitchell R., Robertson G., Soutar D., Parkinson E.K., Gene mutations and increased levels of p53 protein in human squamous cell carcinomas and their cell lines, *British journal of cancer*, 67, 1274-1284, 1993.
18. Carson D.A., Ribeiro J.M., Apoptosis and disease, *The Lancet*, 341, 1251-1254, 1993.
19. Chang F., Syrjänen S., Kurvinen K., Syrjänen K., The p53 tumor suppressor gene as a common target in human carcinogenesis, *The American journal of gastroenterology*. 88(2), 174-186, 1993
20. Chao D.T., Korsmeyer S.J., Bcl-2 family: Regulators of cell death, *Annual review of immunology*., 16, 395-419, 1998
21. Chappelle K.A.O.M., Stoelinga P.J.W., C.M de Wilde P., Brouns J.J.A., Voorsmit R.A.C.A., Rational approach to diagnosis and treatment of ameloblastomas and odontogenic keratocysts, *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 4, 381-390, 2000.
22. Chen W.-L., Feng H.-J., Li J.-S., Li H.-G., Expression and pathological relevance of inducible nitric oxide synthase in osteosarcoma of the jaws, *International journal of oral and maxillofacial surgery*., 36, 541-544, 2007.
23. Chen Y.K., Hsue S.S., Lin L.M., Correlation between inducible nitric oxide synthase and p53 expression for DMBA-induced hamster buccal-pouch carcinomas, *Oral Diseases*, 9, 227-234, 2003.
24. Chen Y.K., Hsue S.S., Lin L.M., Expression of inducible nitric oxide synthase in human oral premalignant epithelial lesions, *Archives of Oral Biology*, 47, 387-392, 2002.

25. Chen Y.K., Hsuen S.S., Lin L.M., Increased expression of inducible nitric oxide synthase for human oral submucous fibrosis, verrucous hyperplasia, and verrucous carcinoma, *International journal of oral and maxillofacial surgery.*, 31, 419-422, 2002.
26. Chiarugi V., Magneli L., Turchetti A., Cinelli M., Cavari S., Ruggerio M., Cell survival and death programmes, *Pharmacological research.*, 29(2), 101-110, 1994.
27. Choi B.M., Pae H.O., Jang S., Kim Y.M., Chung H.T., Nitric oxide as a pro-apoptotic as well as anti-apoptotic modulator, *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 35, 116-126, 2002.
28. Clark P., Marker P., Bastian H.L., Kroghdahl A., Expression of p53, Ki-67 and EGFR in odontogenic keratocysts before and after decompression, *Journal of oral pathology & medicine*, 35, 568-572, 2006.
29. Connelly S.T., Macabeo-Ong M., Dekker N., Jordan R.C.K., Schmidt B.L., Increased nitric oxide levels and iNOS over-expression in oral squamous cell carcinoma, *Oral Oncology*, 41, 261-267, 2005.
30. Cox L.S., Multiple pathways control cell growth and transformation: Overlapping and independent activities of p53 and p21^{cip1/WAF1/Sdi1}, *The Journal of pathology*, 183, 134-140, 1997.
31. Cummings M.C., Winterford C.M., Walker N.I., Apoptosis, *The American journal of surgical pathology*, 21(1), 88-101, 1997.
32. D'Attilio M., Di Maio Franca, D'Arcangela C, Filippi M.R., Felaco M., Lohinai Z. ve diğerleri. Gingival endothelial and inducible nitric oxide synthase levels during orthodontic treatment: a cross-sectional study, *The Angle Orthodontist*, 74(6), 851-858, 2004.
33. Diaz-Fernandez J.M., Infante-Cossio P., Belmonte-Caro R., Ruiz-Laza L., Garcia-Perla-Garcia A., Gutierrez-Perez J.L., Basal cell nevus syndrome. presentation of six cases and literature review, *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 10, E57-E66, 2005.

34. Dina R., Marchetti C., Vallania G., Corinaldesi G., Eusebi V., Granular cell ameloblastoma. An immunocytochemical study., *Pathology, research and practice*, 192(6), 541-546, 1996.
35. Dunphy C.H., Dunphy F.R., Boyd J.H., Varvares M.A., Kim H.J., Lowe V., Dunleavy T.L., Rodriguez J., McDonough E.M., Minster J., Expression of p53 protein in advanced head and neck squamous cell carcinoma before and after chemotherapy, *Archives of otolaryngology-head & neck surgery*, 123, 1223-1225, 1997.
36. Eastman A., Rigas J.R., Modulation of apoptosis signaling pathways and cell cycle regulation, *Seminars in oncology*, 26(16), 7-16, 1999.
37. Felley-Bosco E., Mirkovitch J., Ambs S., Mace K., Pfeifer A., Keefer L.K., Nitric oxide and ethylnitrosourea: relative mutagenicity in the p53 tumor suppressor and hypoxanthine-phosphoribosyltransferase genes, *Carcinogenesis*, 16, 2069-2074, 1995.
38. Field J.K., Pavelic Z.P., Spandidos D.A., Stambrook P.J., Jones A.S., Glukman J.L., The role of the p53 tumor suppressor gene in squamous cell carcinoma of head and neck, *Archives of otolaryngology-head & neck surgery*, 119, 1118-1122, 1993.
39. Forrester K., Ambs S., Lupold S.E., Kapust R.B., Spilare E.A., Wendy C.W., Felley-Bosco E., Wang X.W., Geller D.A., Tzeng E., Billiar T.R., Harris C.C., Nitric oxide induces p53 accumulation and regulation of inducible nitric oxide synthase expression by wild-type p53, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 2442-2447, 1996.
40. Gibson I., Holmgren S.P., Huang D.C.S., Bernard O., Copeland N.G., Jenkins N.A., Sutherland G.R., Baker E., Adams J.M., Corry S., Bcl-w, a novel member of the bcl-2 family, promotes cell survival, *Oncogene*, 13, 665-678, 1996.

41. Gopinath V.K., Musa M., Samsudin A.R., Lalitha P., Sosroseno W., Role of nitric oxide in hydroxyapatite-induced phagocytosis by murine macrophage cell line, *Archives of Oral Biology*, 51, 339-344, 2006.
42. Halevy O., Michalovitz D., Oren M., Different tumor-derived p53 mutations exhibit distinct biological activities, *Science*, 250, 113-116, 1990.
43. Hall P.A., McKnee P.H., Menage H.P., Dover R., Lane D.P., High levels of p 53 protein in UV-irradiated normal human skin, *Oncogene*, 8, 203-207, 1993.
44. Hall P.A., Lane D.P., p53 in tumour pathology: Can we trust immunohistochemistry ?-Revisited!, *The Journal of pathology*, 172, 1-4, 1994.
45. Hama S., Takeichi O., Hayashi M., Komiyama K., Ito K., Co-production of vascular endothelial cadherin and inducible nitric oxide synthase by endothelial cells in periapical granuloma, *International Endodontic Journal*, 39, 179-184, 2006.
46. Ho Y.S., Wang Y.J., Lin J.K., induction of p53 and p21/WAF1/CIP1 expression by nitric oxide and their association apoptosis in human cancer cells, *Molecular Carcinogenesis*, 16, 20-31, 1996.
47. Hollstein M., Sidransky D., Vogelstein B., Harris C.C., p53 mutations in human cancer, *Science*, 253, 49-53, 1991.
48. Hudson J.D., Shoabi M.A., Maestro R., Carnero A., Hannon G.J., Beach D.H., A proinflammatory cytokine inhibits p53 tumor suppressor activity, *The Journal of experimental medicine*, 190, 1375-1382, 1999.
49. Hussain S.P., Hofsth L.j., Harris C.C., Radical causes of cancer, *Nature reviews. Cancer*, 3, 276-285, 2003.
50. Iggo R., Gatter K., Lane D., Harris A.L., Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer, *The Lancet*, 335, 675-690, 1990.

51. Ignarro L.J., Buga G.M., Wodd K.S., Bryns R.E., Chaudhari G., Endothelial-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America USA*, 84, 9265-9269, 1987.
52. Jaiswal M., Larusso N.F., Gores G.J., Nitric oxide in gastrointestinal epithelial cell carcinogenesis: linking inflammation to oncogenesis, *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 281, 626-634, 2001.
53. Jordan R.C.K., Daniels T.E., Greenspan J.S., Regezi J.A, Advanced diagnostic methods in oral and maxillofacial pathology. Part 2: Immunohistochemical and immunofluorescent methods, *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 93, 56-74, 2002.
54. Kendal H.K., Marshall R.I., Bartold P.M., Nitric oxide and tissue destruction, *Oral Diseases*, 7, 2-10, 2001.
55. Kern S.E., Pietenpol J.A., Thiagalingam S., Seymour A., Kinzler K.W., Vogelstein B., Oncogenic forms of p53 protein inhibit p53-regulated gene expression, *Science*, 256, 827-830, 1992.
56. Kerr J.F.R., Wylie A.H., Currie A.R., Apoptosis: A basic phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics, *British journal of cancer*, 26, 239-257, 1972.
57. Kerr J.F.R., Winterford C.M., Harmon B.V., Apoptosis, Its significance in cancer and cancer therapy, *Cancer*, 73, 2013-20216, 1994.
58. Kılınç A., Kılınç K., Nitrik oksit biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri, Palme Yayıncılık, 2003.
59. Kichi E., Enokiya Y., Muramatsu T., Hashimoto S., Inoue T., Abiko Y., Shimono M., Cell proliferation, apoptosis and apoptosis-related factors in odontogenic keratocysts and in dentigerous cysts, *Journal of oral pathology & medicine*, 34, 280-286, 2005.

60. Kim P.K.M, Zamora R., petroska P., Billiar T.R.,The rugulatory role of nitric oxide in apoptosis, *International Immunopharmacology*, 1, 1421-1441, 2001.
61. Kimi K., Kumamoto H., Ooya K., Motegi K., Immunohistochemical analysis of cell-cycle and apoptosis-related factors in lining epithelium of odontogenic keratocysts, *Journal of oral pathology & medicine*, 30,434-442, 2001.
62. Kolar Z., Geierova M., Bouchal J.,Pazdera J.,Zboril V., Tvrdy P., Immunohistochemical analysis of the biological potential of odontogenic keratocysts, *Journal of oral pathology & medicine*, 35, 75-80, 2006.
63. Kramer I.R.H., Pindborg J.J., Shear M., "Histological typing of odontogenic tumours",2nd edition, Springer Verlag, Berlin, 1992.
64. Krönke K.D., Fehsel K., Suschek C., Kolb-Bachofen V., Inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide in gene regulation, cell death and cell survival, *International Immunopharmacology*,1, 1407-1420, 2001.
65. Kumamoto H., Detection of apoptosis-related factors and apoptotic cells in ameloblastomas: analysis by immunohistochemistry and an in situ DNA nick end-labelling method, *Journal of oral pathology & medicine*, 26(9),419-425, 1997.
66. Kumamoto H.,Izutsu T., Ohki K., Tkahashi N., Ooya K., p53 gene status and expression of p53, MDM2, and p14^{ARF} proteins in ameloblastomas, *Journal of oral pathology & medicine*, 33, 292-299, 2004.
67. Kumamoto H.,Suzuki T., Ooya K., Immunohistocheical analysis of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and heat shock proteins (HSPs)in ameloblastomas, *Journal of oral pathology & medicine*, 31, 605-611, 2002.

68. Kuzushima M., Mogi M., Togari A., Cytokine-induced nitric-oxide-dependent apoptosis in Mouse osteoblastic cells: Involvement of p53MAP kinase, *Archives of Oral Biology*, 51, 1048-1053, 2006.
69. Lala PK, Orucevic A. Role of nitric oxide in tumor progression: lessons from experimental tumors, *Cancer metastasis reviews*, 17, 91-106, 1998.
70. Lambkin H.A., Mothersill C.M., Kelehan P., Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection, *The Journal of pathology*, 172, 13-18, 1994.
71. Lane D.P., P53, guardian of the genome, *Cancer*, 358, 15-16, 1992.
72. Lee S.K., Kim H.S., Lee H.J., Lee J., Jeon B.H., Jun C.D., Lee S.K, Kim E.C., Dual effect of nitric oxide in immortalized and malignant human oral keratinocytes: induction of apoptosis and differentiation, *Journal of oral pathology & medicine*, 35, 352-360, 2006.
73. Levine A.J., Momand J., Finlay C.A., The p53 tumour suppressor gene, *Nature*, 351, 453-456, 1991.
74. Li H.L, Sun B.Z, Ma F.C, Expression of COX-2, iNOS, p53 and Ki-67 in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma, *World journal of gastroenterology*, 10(13), 1862-1866, 2004.
75. Li T.J., Browne R.M., Paterson I.C., mathews J.B., p53 expression in odontogenic keratocyst epithelium, *Journal of oral pathology & medicine*, 25(5), 249-255, 1996.
76. Li T.J., Wu Y.T., Yu S.F., Yu G.Y., Unicystic ameloblastoma, A clinicopathologic study of 33 chinese patients, *The American journal of surgical pathology*, 24(10), 1385-1392, 2000.
77. Lin S.K, Kok S.H., Lin L.D., Wang C.C, Kuo M.Y.P, Lin CT., Hsiao M., Hong C.Y., Nitric oxide promotes the progression of periapical lesion via inducing macrophage and osteoblast apoptosis, *Oral microbiology and immunology*, 22, 24-29, 2007.

78. Liu X, Kim C.N., Yang J., Jemmerson R., Wang X., Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome, *Cell*, 8, 147-157, 1996.
79. Liu RH, Hotchkiss JH. Potential genotoxicity of chronically elevated nitric oxide: a review, *Mutation research.*, 339, 73-89, 1995
80. Lombardi T., Odell E.W., Morgan P.R., p53 immunohistochemistry of odontogenic keratocysts in relation to recurrence, basal-cell budding and basal-cell nevus syndrome, *Archives of oral biology*, 40(12), 1081-1084, 1995.
81. Löwick C.W.G.M., Nibbering P.H., Van de Ruit M., Papapoulos S.E., Inducible production of nitric oxide in osteoblast-like cells and in fetal Mouse bone explants is associated with suppression of osteoclastic bone resorption, *The Journal of clinical investigation.*, 93, 1465-1472, 1994.
82. Lynch M.A., "Burket's Oral Medicine", Lippincot-Raven Pub., Philadelphia, 1997.
83. Majno G., Joris I., Apoptosis, oncosis, and necrosis, *The American journal of pathology*, 146(1), 3-15, 1995.
84. Marletta M.A., Nitric oxide synthase structure and mechanism, *The Journal of biological chemistry*, 269, 12231-12234, 1993.
85. Marshall C.J., Tumor Suppressor genes, *Cell*, 64, 313-328, 1991.
86. Martins W.D., Favaro D.M., Recurrence of an ameloblastoma in an autogenous iliac bone graft, *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 98, 657-659, 2004.
87. Mathews J.B., Scully C., Jovanovic A., Van Der Waal I., Yeudall W.A., Prime S.S., Relationship of tobacco/alcohol use to p53 expression in patients with lingual squamous cell carcinomas, *European journal of cancer. Part B, Oral oncology*, 29B(4), 285-289, 1993.

88. Matsumura T., Yoshihama Y., Kimura T., Shinati S., Alcalde R.E., p53 and MDM2 expression in oral squamous cell carcinoma, *Oncology*, 53, 308-312, 1996.
89. May P., May E., Twenty years of p53 research: Structural and functional aspects of the p53 protein, *Oncogene*, 18, 7621- 7636, 1999.
90. McDonnell T.J., Marin M.C., Hsu B., Brisbay S.M., McConnell K., Tu S.M., Campbell M.L., Villanueva J.R., Symposium: Apoptosis/Programmed cell death, *Radiation research*, 136, 307-312, 1993.
91. Mikel U.V., "Advanced Laboratory Methods in Histology and Pathology", Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC, 1994.
92. Milner J., Medcalf E.A., Cook A.C., Tumor suppressor p53: Analysis of wild-type and mutant p53 complexes, *Molecular and cellular biology*, 11(1), 12-19, 1991.
93. Minn A.J., Swan R.E., Ma A., Thompson C., Recent progress o the regulation of apoptosis by bcl-2 family members, *Advances in Immunology*, 70, 345-279, 1998.
94. Moll U.M., Schramm L.M., p53 –an acrobat in tumorigenesis, *Critical reviews in oral biology and medicine*, 9(1), 23-37, 1998.
95. Moochhala S., Chhatwal V.J.S., Chan S.T.F., Ngoi S.S., Chai Y.W., Rauf A., Nitric oxide synthase activity and expression in human colorectal cancer, *Carcinogenesis*, 17(5), 1171-1174, 1996.
96. Muratta J, Tada M, Iggo RD, Sawamura Y, Shione Y, AbeH. Nitric oxide as a carcinogen: analysis by functional yeast assay of inactivating p53 mutations induced by nitric oxide, *Mutation research*, 379, 211-218, 1997
97. Muzio L.Lo, Staibano S., Pannone G., Bucci P., Nocini P.F., Bucci E., Rosa G. De, Expression of cell cycle and apoptosis-related proteins in

sporadic odontogenic keratocysts and odontogenic keratocysts associated with the nevoid basal cell carcinoma syndrome, *Journal of dental research*, 78(7),345-1353, 1999.

98. Neville B.W., Damm D.D., Allen C.M., Bouquet J.E., " Oral and Maxillofacial Pathology", W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 1995.
99. Nuorva K., Soini Y., Kamel D., Harmainen h.a., ristelli J.,Vähäkangas K., Pääkkö P., Concurrent p53 expression in bronchial dysplasias and squamous cell lung carcinomas, *The American journal of pathology*, 142, 725-732,1993.
100. Nylander K., Dabelsteen E., Hall P.A., The p53 molecule and its prognostic role in squamous cell cacinomas of the head and neck, *Journal of oral pathology & medicine.*, 29, 413-425, 2000.
101. Odgen G.R.,Chisholm D.M., Kiddie R.A., Lane D.P., p53 protein in odontogenic cysts: increased expression in some odontogenic keratocysts, *Journal of clinical pathology*, 45, 1007-1010,1992.
102. Odgen G.R.,Kiddie R.A., Lunny D.P., Lane D.P., Assesment of p53 protein expression in normal, benign and malignant oral mucosa, *The Journal of pathology*, 166, 389-394, 1992b.
103. Olivera P., Nogueira M., Pinto A., Almedia O., Analysis of p53 expression in osteosarcoma of the jaw: Correlation with clinicopathologic and DNA ploidy findings, *Human pathology*,28, 1361-1365,1997.
104. Palmer R.M., Ferrige A.G., Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelial-derived relaxing factor, *Nature*, 327,524-526,1987.
105. Papadimitrakopoulou V.A., Shin D.M., Hong W.K., Molecular and cellular biomarkers for field cancerization and multistep process in head and neck tumorigenesis, *Cancer and Metastasis reviews*,15, 53-76, 1996.

106. Paula A.M.B, Carvalhais J.N., Domingues M.G., Baretto D.C., Mesquita R.A., Cell proliferation markers in odontogenic keratocyst: effect of inflammation, *Journal of oral pathology & medicine* , 29, 477-82, 2000.
107. Piatelli A., Fiorini M.,Santinelli A., Rubini C., p53 protein expression in odontogenic cysts, *Journal of Endodontics*, 27(7),45-461, 2001.
108. Polverini P.J., Nör J.E., Apoptosis and predisposition to oral cancer, *Critical reviews in oral biology and medicine*,10(2),139-152, 1999.
109. Portugal L.G., Goldenberg J.D., Wenig B.L., Ferrer K.T., Human papilloma expression and p53 gene mutations in squamous cell carcinoma, *Archives of otolaryngology-head & neck surgery*, 13, 1230-1234, 1997.
110. Prives C., Hall P.A., The p53 pathway, *The Journal of pathology*, 187, 112-126, 1999.
111. Pukkila M.J., Kellokoski J.K., Virtaniemi J.A., Kumpulainen E.J., Johansson R.T., Halonen P.M., Kosunen A.S.T., Nuutinen J., Kosma V.M.,Inducible nitric oxide synthase expression in pharyngeal squamous cell carcinoma relation to p53 expression , clinicopathological data, and survival, *Laryngoscope*, 112, 1084-1088, 2002.
112. Raff M.c., Social controls on cell survival and cell death, *Nature*, 356,397-400, 1992
113. Rajendran R., Varkey S., Inducible nitric oxide synthase expression is upregulated in oral submucous fibrosis, *Indian Journal of dental research.*, 18(3),94-100, 2007.
114. Regezi J.A., Sciubba J., “ Oral Pathology, Clinical-Pathologic Correlations”, 2nd edition,W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 1993.
115. Revillard J.P., Adorini I., Goldman M., Kabelitz D., Waldman H., Apotosis: potential for disease therapies, *Immunology Today*, 19, 291-293, 1998.

116. Rosenstein T., Pogrel M.A., Smith R.A., Regezi J.A., Cystic Ameloblastoma-behavior and treatment of 21 cases, *Journal of oral and maxillofacial surgery* , 59,1311-1316, 2001.
117. Rudin C.M., Thompson C.B., Apoptosis and disease: Regulation and clinical relevance of programmed cell death, *Annual review of medicine*, 48, 267-281, 1997.
118. Sasano H., Miyazaki S., Goukon T., Nishihira T., Sawai T., Nagura H., Expression of p53 in human esophageal carcinoma: An immunohistochemical study with correlation to proliferating cell nuclear antigen expression, *Human pathology*, 23, 1238-1243,1992.
119. Scheffner M., Werness B.A., Huibregste J.M., Levine A.J., Howley P.M., The E6 oncoprotein encoded by humanpapillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53, *Cell*, 63, 1129-1136,1990.
120. Schmitt C.A., Lowe S.W., Apoptosis and therapy, *The Journal of pathology*, 187, 127-137, 1999.
121. Selivanova G., Wiman K.G., p53: A cell cycle regulator activated by DNA damage, *Advances in Cancer Research*, 66, 143-181, 1995.
122. Sessa W.C., The nitric oxide synthase family of proteins,*Journal of vascular research*, 31, 131-143, 1993.
123. Shang Z.J., Li Z.B., Li J.R., In vitro effects of nitric oxide synthase inhibitor L-NAME on oral squamous cell carcinoma: a preliminary study, *International Journal of oral and maxillofacial surgery* , 35, 539-543, 2006.
124. Shang Z.J., Li J.R., Li Z.B., Effects of exogenous nitric oxide on oral Squamous cell carcinoma : an invitro study, *Journal of oral and maxillofacial surgery* , 60, 905-910, 2002.
125. Shang Z.J., Li J.R., Expression of endothelial nitric oxide synthase and vascular endothelial growth factor in oral squamous cell carcinoma: its correlation with angiogenesis and disease progression, *Journal of oral pathology & medicine* , 34, 134-139, 2005.

126. Shear M., The aggressive nature of the odontogenic keratocyst: is it a benign cystic neoplasm? Part 2 proliferation and genetic studies, *Oral Oncology*,38,323-331,2002.
127. Shiao Y.H., Rugge M., Correa P., Lehmann H.P., Scheer W.D., p53 alteration in gastric precancerous lesions, *The American journal of pathology*144, 511-517, 1994.
128. Shibata T., Nakata D., Chiba I., Yamashita T., Abiko Y., Tada M., Moriuchi T., Detection of TP53 mutation ameloblastoma by the use of a yeast functional assay, *Journal of oral pathology & medicine* ., 31, 534-538, 2002.
129. Shin D.M., Kim J., Ro J.Y., Hittelman J., Roth J.A., Hong W.K., Hittelman W.N., Activation of p53 gene expression in premalignant lesions during head and neck tumorigenesis, *Cancer Res.*, 54, 321-329, 1994.
130. Sionov R.V., Haupt Y., The cellular response to p53: the decision between life and death, *Oncogene*, 18, 6145-6157, 1999.
131. Slootweg P.J., p53 protein and Ki-67 reactivity in epithelial odontogenic lesions. An immunohistochemical study., *Journal of oral pathology & medicine.*,24(9), 393-397, 1995.
132. Soini Y., Pääkkö P., Alaviakko M., Vähäkangas K., p53 expression in lymphatic malignancies, *Journal of clinical pathology.*, 45, 1011-1014, 1992.
133. Soini Y., Kamel D., Pääkkö P., Letho V.P., Oikarinen A., Vähäkangas K., Aberrant accumulation of p53 associates with Ki-67 and mitotic count in benign skin lesions, *The British journal of dermatology.*, 131, 514-520, 1994.
134. Song Z.J., Gong P., Wu Y.E., Relationship between the expression of iNOS, VEGF, tumor angiogenesis and gastric cancer, *World journal of gastroenterology*, 8(4), 591-595, 2002.

135. Soussi T., Legros Y., Lubin K., Ory K., Schlichtholz b., Multifactorial analysis of p53 alteration in human cancer: A review, *International journal of cancer*, 57, 1-9, 1994.
136. Suzuki T., Kumamoto H., Ooya K., Motegi K., Expression of inducible nitric oxide and heat shock proteins in periapical inflammatory lesions, *Journal of oral pathology & medicine*, 31, 488-493, 2002.
137. Takeichi O., Hayashi M., Tsueumachi T., Tomita T., Ogihara H., Ogiso B., Saito T., Inducible nitric oxide synthase activity by interferon- γ – producing cells in human radicular cysts., *International Endodontic Journal*, 32, 124-130, 1999.
138. Thomas D.D., Ridnour L.A., Espey M.G., Donzelli S., Ambis S., Hussain S.P., Harris C.C., DeGraff W., Roberts D.D., Mitchell J.B., Wink D.A, Superoxide fluxes limit nitric oxide-induced signaling, *The Journal of Biological Chemistry*, 281(36), 25984-25993, 2006.
139. Thomassen M.J., Kavuru M.S., Human alveolar macrophages and monocytes as a source and target for nitric oxide, *International Immunopharmacology*, 1, 1479-1490, 2001.
140. Todd R., Donoff R.B., Wrong D.T.W., The molecular biology of oral carcinogenesis: Toward a tumor progression model, *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 55, 613-623, 1997.
141. Tosios K.I., Kakarantza-Angelopoulou E., Kapranos N., Immunohistochemical study of bcl-2 protein, Ki-67 antigen and p53 protein in epithelium of glandular odontogenic cysts and dentigerous cysts, *Journal of oral pathology & medicine*, 29, 139-144, 2000.
142. Touil-Boukoffa C., Bavois B., Sanceau J., Hamriui B., Wietzerbin J., Production of nitric oxide (NO) in human hydatidosis: relationship between nitrite production and interferon- γ - levels, *Biochimie*, 80, 739-744, 1998.
143. Villuendas R., Piris M.A., Orradre J.L., Mollejo M., Algara P., Sanchez L., Martinez J.C., Martinez P., p53 protein expression in lymphomas

- and reaktive lymphoid tissue, *The Journal of pathology*, 166, 235-241, 1992.
144. Vodovotz Y., Kwon N.S., Pospischill M., Manning J., Paik J., Nathan C., Inactivation of nitric oxide synthase after prolonged incubation with IFN- gamma and bacterial lipopolysac-charide, *Journal of immunology* , 152, 4110- 4118, 1994.
 145. Wang Y.Z., Cao Y.Q., Wu J.N., Chen M., Cha X.Y., Expression of nitric oxide synthase in human gastric carcinoma and its relation to p53,PCNA, *World journal of gastroenterology*,11(1),46-50,2005.
 146. Watarai H., Warita H., Soma K., Effect of nitric oxide on the recovery of the hypofunctinal periodontal ligament, *Journal of dental research*, 83(4), 338-342, 2004.
 147. Weinberg R.A., Tumor suppressor genes, *Science*, 254, 1138-1146, 1991
 148. Whyte D.A., Broton C.E.,Shilitore E.J., The unexplained role survival of cells in oral cancer: what is the role of p53?, *Journal of oral pathology & medicine*,31, 125-133, 2002.
 149. Wink D.A., Mitchell J.B., Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide, *Free radical biology & medicine*.,25, 434-456, 1998.
 150. Wink D.A.,Vodovotz Y., Laval D., Laval F., Dewhirst D.W., Mitchell J.B., The multifaceted roles of nitric oxide in cancer, *Carcinogenesis*, 19, 711-721, 1998.
 151. Wynford-Thomas, Cellular Senescence and cancer, *The Journal of pathology*, 187(1), 100-111, 1999.
 152. Yonich-Rouach E., Resniztky D., Lotem J., Sachs L., Kimichi A., Oren M., Wild-type p53 induces apoptosis of leukaemic cells that is inhibited by interleukin-6, *Nature*, 352, 345-347, 1991.

153. Zhan Q., Carrier F., Fornace A.J., Induction of cellular p53 activity by DNA-damaging agents and growth arrest, *Molecular and cellular biology*, 4242-4250, 1993.
154. Zhan L.H., Hu X.L., Dai C.J., Niu J., Gu J.Q., Expressions of p53 and inducible nitric oxide synthase in congenital choledochol cysts, *Hepatobiliary & pancreatic diseases international*, 3, 120-123, 2004.