

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دوره ۳۴ شماره ۵ آذر و دی ۱۳۹۱ صفحات ۶۴-۶۰

مقایسه بیان Src در ژانت سل گرانولومای مرکزی مهاجم و غیرمهاجم استخوان فک

منیر مرادزاده: گروه آسیب شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
امیرعلا آغبالی: گروه آسیب شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
منیره حلیمی: گروه آسیب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
سید مصطفی محمودی: گروه آسیب شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
مریم کوه سلطانی: گروه آسیب شناسی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، نویسنده رابط:

E-mail: mkoohsoltani@yahoo.com

دریافت: ۹۰/۱۲/۲۷ پذیرش: ۹۱/۳/۱

چکیده

زمینه و اهداف: ژانت سل گرانولومای مرکزی یک ضایعه شبه تومور واکنشی استخوان فک می باشد که به دو نوع مهاجم و غیر مهاجم تقسیم می شود. در میان محققین درخصوص پاتوژنز این ضایعات و ماهیت سلول های ژانت و اینکه نمای هیستوپاتولوژی می تواند رفتار کلینیکی ضایعات مرکزی را پیش بینی کند یا نه اختلاف نظر وجود دارد. هدف از این مطالعه بررسی نقش پروتئین Src در پاتوژنز ژانت سل گرانولومای مرکزی و مقایسه بیان این پروتئین در ژانت سل گرانولومای مرکزی مهاجم و غیرمهاجم می باشد.

مواد و روش ها: ۱۵ بلوک پارافینی نوع مهاجم و ۱۵ نمونه غیر مهاجم ژانت سل گرانولومای مرکزی استخوان فک از لحاظ بیان ایمونوهیستوشیمی مورد ارزیابی قرار گرفت. به علاوه، یک شاخص (staining-intensity distribution, SID) نسبت سلول های رنگ گرفته \times شدت رنگ نیز برای این ضایعات محاسبه گردید.

یافته ها: علیرغم عدم وجود تفاوت معنی دار در بیان Src و شاخص SID بین انواع کلینیکی ژانت سل گرانولومای مرکزی (به ترتیب $p=0/299$ و $p=0/900$)، همبستگی معنی داری بین آن ها در هر دو ضایعه مهاجم و غیرمهاجم مشاهده شد (به ترتیب $p<0/001$ و $p=0/002$).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان دهنده ماهیت استئوکلاستی سلول های ژانت می باشد ولی از بیان Src و شدت آن نمی توان برای پیش بینی رفتار ضایعات مرکزی استفاده کرد.

کلید واژه ها: ژانت سل گرانولوما، ایمونوهیستوشیمی، سلول ژانت

مقدمه

است. شواهدی وجود دارد که این سلول های ژانت، استئوکلاست هستند، هر چند برخی از محققین حدس می زند این سلول ها بیشتر همردیف با ماکروفاژها باشند (۳-۴ و ۱).

ضایعات مرکزی با وجود شباهت هیستولوژیک، دو روند کلی رشد دارند که منجر به تقسیم بندی آن ها به دو گروه مهاجم و غیرمهاجم بر اساس معیار های بالینی و رادیوگرافی شده است: ضایعات غیرمهاجم بدون علامت هستند، رشد آهسته دارند، باعث

ژانت سل گرانولومای مرکزی (central giant cell granuloma) حفره دهان یک ضایعه نسبتا شایع شبه تومور و واکنشی (reactive) می باشد (۱). این ضایعه تقریبا منحصر به فکین است (۲). در نمای هیستوپاتولوژی، ضایعات ژانت سل مرکزی ویژگی های مختلفی را نشان می دهند. وجه مشترک همه آنها حضور تعداد کم تا تعداد زیادی سلول ژانت چند هسته ای در زمینه ای از سلولهای مزانشیمی دوکی یا بیضی و مونوسیت-ماکروفاژهای گرد

بودند. ضایعاتی که دارای شباهت هیستولوژیک به ژانت سل گرانولوما بوده ولی دارای رفتار کلینیکی متفاوت می باشند نظیر aneurysmal bone cyst, focal cemento-osseous dysplasia. تومور براون مربوط به هیپوپاراتیروئیدیسم، دیسپلازی فیروز و ضایعات ژانت سلی که همراه با بیماری های ژنتیکی نظیر سندرم Noonan و نوروفیبروماتوز نوع ۱ دیده می شوند، از مطالعه خارج گردیدند. ۱۵ مورد ژانت سل گرانولوما مرکزی مهاجم و ۱۵ مورد ژانت سل گرانولوما مرکزی مهاجم بر اساس معیارهایی که قبلاً ذکر شد (۱) انتخاب شدند. لام های موجود توسط دو پاتولوژیست که از یافته های کلینیکی اطلاع نداشتند، با استفاده از میکروسکوپ Olympus ch30 (ساخت ژاپن) مورد بررسی قرار گرفتند.

ایمونوهیستوشیمی

جهت رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی، بلوک های پارافینی، توسط زایلن پارافین زدایی شده، پس از آن در الکل هیدراته شدند. جهت هیدراته شدن بیشتر در مرحله بعدی، مقاطع در فسفات بافر سالین به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. سپس جهت پدیدار شدن آنتی ژن های بافتی مقاطع در سیترات بافر ۱۰ میلی مولار با pH=6 داخل میکروویو (۶۵۰ وات) قرار داده شدند و پس از آن ظروف حاوی اسلاید به مدت ۲۰ دقیقه کنار گذاشته شدند تا سرد شوند. توقف فعالیت پراکسیداز بافتی از طریق انکوبه کردن مقاطع در پراکسید هیدروژن ۳٪ (Merck, Darmstadt, Germany) در دمای اتاق صورت گرفت. به منظور کاهش رنگ زمینه ای، اسلایدها به مدت ۱۰ دقیقه در BSA ۱٪ (Sigma, St. Louis, MO, USA) قرار داده شدند. در مرحله بعد، مقاطع با آنتی بادی مدت ۲ ساعت انکوبه شدند (۱۰). پس از آن از کیت ExtraAvidin-biotin peroxidase (Sigma, St. Louis, MO, USA) و ماده کروموزن (DAB) Diamino Benzidine (DAKO, Denmark) به منظور بروز رنگ قهوه ای استفاده شد. برای به دست آوردن شاهد منفی از PBS به جای آنتی بادی اولیه استفاده شد. برای هر نمونه، ۸ فیلد جداگانه (با درشت نمایی ۴۰) مربوط به نواحی نسبتاً پر سلول به صورت تصادفی انتخاب شده و سلول هایی که در هر فیلد، در مقایسه با کنترل مثبت، مشخصاً رنگ گرفته اند شمارش شدند. سپس تعداد این سلول ها بر کل سلول های هر فیلد تقسیم شدند. میانگین ۸ فیلد به عنوان میزان تخمینی بیان مارکر در هر نمونه در نظر گرفته شد. به علاوه در هر فیلد نسبت سلول های رنگ گرفته و شدت رنگ مورد بررسی قرار گرفت. نسبت سلول های رنگ گرفته در هر فیلد به صورت زیر نمره دهی شد: ۰: سلول رنگ گرفته دیده نمی شود، ۱: کمتر از ۲۵٪ سلول ها رنگ گرفته اند، ۲: ۲۵٪-۵۰٪ سلول ها رنگ گرفته اند، ۳: بیشتر از ۵۰٪ سلول ها رنگ گرفته اند. شدت رنگ به صورت زیر درجه بندی شد: ۰: منفی، ۱: رنگ گرفتگی خفیف، ۲: رنگ گرفتگی متوسط و ۳: رنگ گرفتگی شدید. سپس، نمره (SID) (staining-intensity distribution) برای هر نمونه به صورت زیر محاسبه شد: نمره نسبت سلول های رنگ گرفته به نمره شدت رنگ در هر فیلد ضرب شود. میانگین ۸ فیلد، نمره SID برای هر نمونه خواهد بود (۱۱).

سوراخ شدن کورتکس نمی شوند و تحلیل ریشه و عود در آن ها دیده نمی شود. در حالی که ضایعات مهاجم با درد و رشد سریع، سوراخ شدن کورتکس و تحلیل ریشه دندان ها همراه بوده و عود می کنند (۱). علیرغم تلاش های زیاد جهت شناسایی پارامترهای مورفولوژیک، مورفومتریک و هیستوشیمی برای افتراق انواع مهاجم و غیرمهاجم ضایعات مرکزی، همچنان توافق نظر بین محققین مختلف در این خصوص مشاهده نمی شود (۳). Src یک پروتئین کیناز است و تیروزین کینازی را کد می کند که توسط Harold ، Michael Bishop و Varmus شناسایی شد. این افراد به این خاطر در سال ۱۹۸۹ جایزه نوبل را در زمینه فیزیولوژی پزشکی کسب کردند. افزایش بیان Src قبلاً در سلول های کارسینوم انسانی نظیر پستان، کولون، ریه و کیسه صفرا یافت شده که نشان می دهد بیان این پروتئین ممکن است با تکثیر زیاد در برخی از بافت های غیرطبیعی مرتبط باشد (۸-۵). ازسوی دیگر، Src که برای فعال سازی استوکلاست ها در محیط برون تنی مورد نیاز است، با اتصال به پروتئین TRAF6، به مسیرهای سیگنال دهنده وابسته به RANK اجازه می دهد که زنده ماندن سلول و نوآرایی اسکلت سلولی را القا کنند. پروتئین RANK که یک tumor necrosis factor receptor است، در تمایز و فعال سازی استوکلاست ها نقش مهمی دارد (۹). به این ترتیب که سلول های دوکی شکل که جمعیت سلولی در حال تکثیر هستند پیش سازهای مونوسیت-ماکروفاژ را فرا می خوانند و تمایز آن ها را به سلول های ژانت استوکلاستیک از طریق فعال کردن فعال کننده رسپتور nuclear factor κ B (RANK)/RANK ligand signaling pathway القاء می کنند (۱).

در مطالعات قبلی نقش عوامل دخیل در استوکلاستوزن نظیر RANK و TRAP در چروبیسم، ژانت سل گرانولوما مرکزی، و ژانت سل تومور مشاهده شده است (۱۰). نقش حیاتی مسیر RANK/TRAF-Src در استوکلاستوزن و ارتباط Src با تکثیر سلولی و ضایعات با رفتار مهاجم، ما را بر آن داشت تا با روش های ایمونوهیستوشیمی به بررسی نقش این پروتئین در پاتوزن ژانت سل گرانولوما مرکزی و رابطه بین بیان آن با رفتار بیولوژیک ضایعات مهاجم در مقایسه با ضایعات غیرمهاجم پردازیم.

مواد و روش ها

نمونه های بافتی و معیارهای ورود و خروج

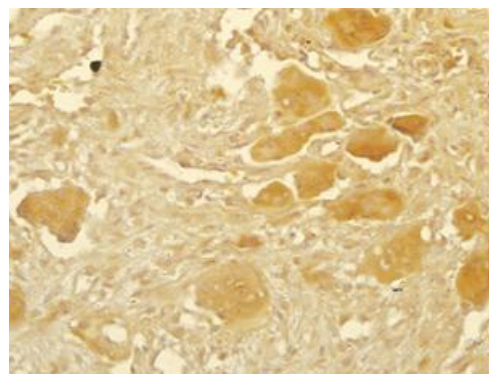
در یک مطالعه توصیفی-مقطعی، بلوک های پارافینی و فیکس شده در فرمالین بیماران مبتلا به ژانت سل گرانولوما مرکزی استخوان فک به صورت تصادفی از آرشیو ۳ آزمایشگاه گرفته شد. در هر یک از موارد تشخیص بر اساس یافته های کلینیکی، رادیوگرافی و هیستولوژیک صورت گرفته بود. تمام موارد برای تأیید تشخیص و بازبینی داده های کلینیکی مورد ارزیابی قرار گرفتند. تنها نمونه هایی وارد مطالعه شدند که دارای اطلاعات کلینیکی کامل و شرح کامل از نمای رادیوگرافی (پانورامیک و یا پری آپیکال) بودند. هیچ یک از بیماران قبل از جراحی، درمان با عواملی نظیر کلسی تونین و کورتیکو استروئید را دریافت نکرده

روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها

توافق بین دو پاتولوژیست بدین صورت ارزیابی شد که ابتدا ۶ نمونه اولیه توسط ۲ مشاهده گر ارزیابی شد؛ سپس توافق بین مشاهده گرها (ضریب kappa) محاسبه و یکی از مشاهده گرها بقیه مراحل را انجام داد. مقدار این ضریب در این مطالعه ۰/۷۲ بدست آمد. تجزیه و تحلیل آماری داده ها توسط نرم افزار آماری SPSS 17 صورت گرفت. برای مقایسه بیان Src و شاخص SID از روش های آماری غیرپارامتریک یومان-ویتنی استفاده شد. همبستگی میان بیان Src و شاخص SID با روش همبستگی اسپیرمن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بصورت میانگین \pm SEM گزارش شدند. در این مطالعه مقدار p کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار تلقی گردید.

یافته‌ها

مدارک کامل و نمونه بافتی ۱۵ مورد ژانت سل گرانولومای مرکزی مهاجم با محدوده سنی ۱۷ تا ۷۵ (متوسط ۳۹) سال و ۱۵ مورد ژانت سل گرانولومای مرکزی غیرمهاجم با محدوده سنی ۹ تا ۶۰ (متوسط ۲۹) سال بررسی شد. در این مطالعه، نمای هیستوپاتولوژی در هر دو نوع ژانت سل گرانولومای مرکزی مهاجم و غیرمهاجم مشابه بود و نمای کلاسیک توصیف شده در منابع را نشان می داد. در تمامی ضایعات سلول های مزانشیمی دوکی یا بیضی و مونوسیت-ماکروفاژهای گرد در کنار سلول ژانت چند هسته ای مشاهده می شد. این ضایعات دارای مویرگ های فراوان به همراه اریتروسیت های خارج شده از عروق و هموسیدرین بودند. تعداد، سایز و شکل سلول های چند هسته ای در نواحی مختلف یک ضایعه و نیز از یک ضایعه به ضایعه دیگر متفاوت بودند. بیان Src در هر دو نوع ژانت سل گرانولوما مشاهده شد. الگوی رنگ پذیری به این صورت بود که در اکثر سلول های چند هسته ای رنگ قهوه ای دیده می شد. شدت رنگ در این سلول ها از خفیف تا متوسط متغیر بود. شکل ۱ الگوی رنگ پذیری ایمونوهیستوشیمی پروتئین Src در ژانت سل گرانولومای مرکزی را نشان می دهد. این الگو در هر دو نوع مهاجم و غیرمهاجم مشابه بود.



شکل ۱: بیان Src در سلول های ژانت

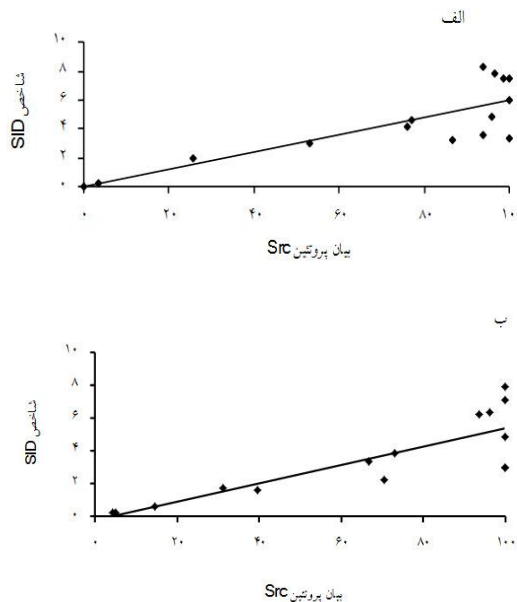
نتایج مقایسه آماری بیان Src (سلولهای رنگ گرفته به تعداد کل سلولها) و شاخص SID (Staining-intensity distribution) بین دو گروه ژانت سل گرانولومای مرکزی مهاجم و غیرمهاجم از لحاظ آماری تفاوت معنی داری را نشان نداد (به ترتیب $p=0/299$ و $p=0/900$) (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه بیان Src و شاخص SID در انواع کلینیکی ژانت سل گرانولومای مرکزی

گروه های بالینی	تعداد نمونه	بیان Src میانگین \pm SEM	* P	شاخص SID میانگین \pm SEM	* P
مهاجم	۱۵	۷۳/۱۵ \pm ۹/۱۹	۰/۲۹۹	۴/۴۲ \pm ۰/۶۷	۰/۸
غیرمهاجم	۱۵	۶۶/۳۱ \pm ۹/۶۶		۳/۵۰ \pm ۰/۶۴	

* آزمون یومان-ویتنی

با مقایسه بیان Src و SID score در انواع کلینیکی، همبستگی معنی داری در هر دو گروه ژانت سل گرانولومای مرکزی مهاجم و غیرمهاجم از نظر آمار χ^2 مشاهده شد (به ترتیب $p < 0/001$ و $p = 0/002$) (شکل ۲).



شکل ۲: نمودار پراکنش مربوط به همبستگی میان بیان Src و شاخص SID در گروه های ژانت سل گرانولومای مرکزی مهاجم (الف) و غیرمهاجم (ب). برای شکل الف: $R=0/811$ و $p > 0/001$ و برای شکل ب: $R=0/729$ و $p=0/002$ می باشد.

بحث

در مطالعه حاضر، علیرغم عدم وجود تفاوت معنی دار در بیان Src و SID score بین انواع کلینیکی ژانت سل گرانولومای مرکزی، همبستگی معنی داری بین آن ها در هر دو ضایعه مهاجم و غیرمهاجم مشاهده شد (به ترتیب $p < 0/001$ و $p = 0/002$). این یافته ها نشانگر این مطلب است که مکانیسم القا کننده تحلیل استخوان در این ضایعات می تواند وابسته به مسیر RANK/TRAF6-Src باشد، مشابه آن چه در استئوکلاست های بالغ دیده می شود. این نتایج در راستای نتایج Liu و همکارانش می باشد که در بررسی های خود نشان دادند سلول های ژانت در ژانت سل گرانولوما دارای شباهت هایی به استئوکلاست ها نظیر بیان (Tartrate-

MMP-9 را در ژانت سل گرانولومای مرکزی مهاجم نسبت به نوع غیرمهاجم نشان دادند (۱۹). در مطالعه‌ای دیگر Dewsnap و همکاران نشان دادند CD34 که یک فاکتور آنژیوزنیک است در ضایعات مهاجم به طور معنی‌داری بیشتر از ضایعات غیرمهاجم بیان می‌شود (۲۰). وجود تفاوت در بیان MMP-1، CTR، MMP-9 و CD34 بین ضایعات مهاجم و غیرمهاجم احتمالاً به دلیل این است که برخی پروتئین‌های مربوط به آنژیوژنز، گیرنده کلسی‌تونین و آنزیم‌های پروتئولیتیک در ضایعات مهاجم بیشتر از ضایعات غیرمهاجم بیان می‌شوند. در حالی که در مطالعه حاضر که از مارکر استئوکلاستی Src استفاده شده و نیز مطالعه ای که مارکرهای استئوکلاستی (RANK و GRα) را بررسی کرده است تفاوتی در بیان این پروتئین‌ها بین ضایعات مهاجم و غیرمهاجم دیده نمی‌شود. با توجه به مطالب فوق، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً نمی‌توان از مارکرهای استئوکلاستی مانند RANK و Src برای پیش‌بینی رفتار ضایعات مرکزی استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه بیان Src در هر دو گروه ژانت سل گرانولومای مهاجم و غیرمهاجم نشان دهنده ماهیت استئوکلاستی سلول‌های ژانت می‌باشد. همچنین با توجه به عدم تفاوت در بیان Src و شدت آن بین ضایعات مهاجم و غیرمهاجم، می‌توان نتیجه گرفت که نمی‌توان از این مارکر برای پیش‌بینی رفتار ضایعات مرکزی استفاده کرد. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که ارتباط Src با سلول‌های ژانت در این ضایعات می‌تواند یک هدف درمانی برای مهار استئوکلاست‌ها باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از دانشگاه علوم پزشکی تبریز به جهت تامین هزینه‌های این مطالعه طی طرح شماره ۳۵۱ تشکر و قدردانی می‌گردد.

Resistant Acid Phosphatase (TRAP Receptor Activator) و (RANK of Nuclear Factor κB هستند (۱۲). Lim و Gibbins نیز نشان دادند که آنتی ژن‌های سلولی مختص استئوکلاست نظیر MB1 در ضایعات مرکزی بیان می‌شود (۱۳). همچنین Huang و همکاران بیان RANK را در ژانت سل تومور نشان دادند (۱۴). در یک مطالعه نیز بیان Src در ضایعات مربوط به چروبیسم، ژانت سل گرانولومای مرکزی و ژانت سل تومور دیده شد (۱۰). Torabinia و همکاران وی نیز در مطالعه خود بیان TRAP را در ژانت سل گرانولومای محیطی و مرکزی نشان دادند (۱۵).

از همان زمان که Chuong و همکاران ۳ دهه پیش، ضایعات مرکزی را به انواع مهاجم و غیرمهاجم تقسیم کردند، تلاش‌های زیادی برای پیدا کردن روش‌هایی جهت پیش‌بینی رفتار بیولوژیک این ضایعات بر اساس نمای هیستوپاتولوژی صورت گرفته است. این امر می‌تواند بر روی نحوه درمان و پروگنوز این ضایعات اثر داشته باشد. عواملی نظیر سائز سلول‌های ژانت، تعداد سلول‌های ژانت، نسبت سطح اشغال شده توسط آن‌ها (۱۶)، مقدار متوسط DNA (۱۷) و الگوی توزیع این سلول‌ها (۱۸) مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج این مطالعات توافق نظر بین محققین مختلف را نشان نمی‌دهد و تفاوت معنی‌دار پایدار بین ضایعات مهاجم و غیرمهاجم دیده نمی‌شود. بر اساس نتایج این مطالعه، بیان Src و شدت آن نمی‌تواند بین ضایعات مهاجم و غیرمهاجم تمایز قابل‌شود (به ترتیب $p=0.299$ و $p=0.900$). Vered و همکاران، نیز نشان دادند که علیرغم بیان alpha smooth muscle actin در ضایعات مرکزی، تفاوتی بین بیان آن در ضایعات مهاجم و غیرمهاجم دیده نمی‌شود (۳). در حالی که در مطالعه دیگری که بر روی مارکرهای RANK، GRα و CTR صورت گرفت، تفاوتی در بیان RANK و GRα بین ضایعات مهاجم و غیرمهاجم دیده نشد ولی بیان CTR (گیرنده کلسی‌تونین) در ضایعات مهاجم به طور معنی‌داری بیشتر بود (۴). Tobon و همکاران در مطالعه خود بیان بیشتر آنزیم‌های پروتئولیتیک MMP-1

References

- Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Oral and Maxillofacial Pathology*. 3rd ed. St Louis, Mo, Saunders Elsevier, 2009; PP: 520, 553-554, 627-628.
- Regezi JS, Sciubba JJ, Jordan RCK. *Oral Pathology: clinical pathologic correlations*. 5th ed. St. Louis, Mo, Saunders Elsevier, 2008; PP: 165-166, 292.
- Vered M, Nasrallah W, Buchner A, Dayan D. Stromal myofibroblasts in central giant cell granuloma of the jaws cannot distinguish between non-aggressive and aggressive lesions. *J Oral Pathol Med* 2007; **36**(8): 495-500.
- Tobón-Arroyave SI, Franco-González LM, Isaza-Guzmán DM, Floréz-Moreno GA, Bravo-Vásquez T, Castañeda-Peláez DA, et al. Immunohistochemical expression of RANK, GRα and CTR in central giant cell granuloma of the jaws. *Oral Oncol* 2005; **41**(5): 480-488.
- Verbeek BS, Vroom TM, Adriaansen-Slot SS, Geertzema JG, Ottenhoff-Kalff AE, Hennipman A, et al. c-Src protein expression is increased in human breast cancer: An immunohistochemical and biochemical analysis. *J Pathol* 1996; **180**: 383-388.
- Cartwright CA, Meisler AI, Eckhart W. Activation of the pp60c-src protein kinase is an early event in colon carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; **87**: 558-562.
- Mazurenko NN, Kogan EA, Zborovskaya IB, Kissel'ov FL. Expression of pp60c-src in human small cell and non-small cell lung carcinomas. *Eur J Cancer* 1992; **28**: 372-377.
- Fanning P, Bulovas K, Saini KS, Libertino JA, Joyce AD, Summerhayes IC. Elevated expression of pp60c-src in low grade human bladder carcinomas. *Cancer Res* 1992; **52**: 1457-1462.
- Xing L, Venegas AM, Chen A, Garrett-Beal L, Boyce BF, Varmus HE, et al. Genetic evidence for a role for Src

- family kinases in TNF family receptor signaling and cell survival. *Genes Dev* 2001; **15**: 241-253.
10. Wang C, Song Y, Peng B, Fan M, Li J. Expression of c-Src and comparison of cytologic features in cherubism, central giant cell granuloma, and giant cell tumors. *Oncol Rep* 2006; **15**: 589-594.
 11. Flórez-Moreno GA, Henao-Ruiz M, Santa-Sáenz DM, Castañeda-Peláez DA. Cytomorphometric and immunohistochemical comparison between central and peripheral giant cell lesions of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008; **105**: 625-632.
 12. Liu B, Yu SF, Li TJ. Multinucleated giant cells in various forms of giant cell containing lesions of the jaws express features of osteoclasts. *J Oral Pathol Med* 2003; **32**: 367-375.
 13. Lim L, Gibbins JR. Immunohistochemical and ultrastructural evidence of a modified microvasculature in the giant cell granuloma of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; **79**(2): 190-198.
 14. Huang L, Xu J, Wood DJ, Zheng MH. Gene expression of osteoprotegerin ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF- κ B in giant cell tumor of bone. *Am J Pathol* 2000; **156**(3): 761-767.
 15. Torabinia N, Razavi S, Shokrolahi Z. A comparative immunohistochemical evaluation of CD68 and TRAP protein expression in central and peripheral giant cell granulomas of the jaws. *J Oral Pathol Med* 2011; **40**: 334-337.
 16. Kruse-Losler B, Diallo R, Gaertner C, Mischke K-L, Joos U, Kleinheinz J. Central giant cell granuloma of the jaws: a clinical, radiologic, and histopathologic study of 26 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2006; **101**: 346-54.
 17. Eckardt A, Pogrel MA, Kaban LB, Chew K, Mayall BH. Central giant cell granulomas of the jaws. Nuclear DNA analysis using image cytometry. *J Oral Maxillofacial Surg* 1989; **18**: 3-6.
 18. Whitaker SB, Waldron CA. Central giant cell lesions of the jaws: A clinical, radiologic, and histopathologic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; **75**: 199-208.
 19. Tobón-Arroyave SI, Mideros-Simarra SM, Castaño-Ramírez LM, Flórez-Moreno GA, Isaza-Guzmán DM. Overexpression of matrix metalloproteinase (MMP)-1 and -9 in central giant cell lesions of the jaws: implications for clinical behavior. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; **110**: 755-763.
 20. Dewsnup N C, Susarla SM, Abulikemu M, Faquin WC, Kaban LB, August M. Immunohistochemical evaluation of giant cell tumors of the jaws using CD34 density analysis. *J Oral Maxillofac Surg* 2008; **66**: 928-933.