ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΟΔΟΝΤΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ ΣΤΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ EDA1 ΚΑΙ EDAR ΣΕ ΟΔΟΝΤΟΓΕΝΕΙΣ ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΣΤΕΙΣ

ΤΑΜΙΩΛΑΚΗΣ ΠΑΡΙΣ

ΑΘΗΝΑ 2018

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΟΔΟΝΤΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ ΣΤΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ EDA1 ΚΑΙ EDAR ΣΕ ΟΔΟΝΤΟΓΕΝΕΙΣ ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΣΤΕΙΣ

ΤΑΜΙΩΛΑΚΗΣ ΠΑΡΙΣ

ΑΘΗΝΑ 2018

Επιβλέπων Καθηγητής για την εκπόνηση της Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας κ. Τόσιος Κωνσταντίνος, Επίκουρος Καθηγητής Στοματολογίας, Οδοντιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

Τριμελής Επιτροπή για την αξιολόγηση της Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας:

1. Τόσιος Κωνσταντίνος: Επίκουρος Καθηγητής Στοματολογίας Οδοντιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
2. Σκλαβούνου - Ανδρικοπούλου Αλεξάνδρα: Διευθύντρια και Καθηγήτρια Στοματολογίας, Οδοντιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
3. Πιπέρη Ευαγγελία: Επίκουρη Καθηγήτρια Στοματολογίας, Οδοντιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

Στους γονείς μου και στον αδερφό μου

Στην οικογένειά μου

Στους φίλους μου

Στους δασκάλους και καθηγητές μου

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .... - 10 -

2. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .... - 16 -

A. **Οδοντογενής Κερατινοκύστη** .... - 16 -

I. Ορισμός .... - 16 -
II. Ιστορική αναδρομή .... - 16 -
III. Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά .... - 19 -
IV. Κλινικά χαρακτηριστικά .... - 23 -
V. Ακτινογραφικά χαρακτηριστικά .... - 24 -
VI. Ιστολογικά χαρακτηριστικά .... - 28 -
VII. Σύνδρομο Σπιλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων.. - 32 -
VIII. Θεραπεία .... - 36 -
IX. Αιτιοπαθογένεια .... - 42 -
Προέλευση .... - 42 -

Σηματοδοτικό μονοπάτι SHH και ΟΚΚ .... - 46 -

Ανοσοϊστοχημικές μελέτες .... - 53 -

B. **Εξωδυσπλασίνη** .... - 68 -

I. Εισαγωγή .... - 68 -
II. Σηματοδοτικό μονοπάτι EDA .... - 70 -
III. Συμμετοχή στην οδοντογένεση .... - 74 -

3. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .... - 76 -

A. Σκοπός .... - 76 -

B. Μέθοδος και υλικά .... - 78 -

I. Υλικό μελέτης .... - 78 -
II. Κλινικά χαρακτηριστικά .... - 79 -
III. Μέθοδος ανοσοϊστοχημικής χρώσης .... - 81 -

Προετοιμασία τομών μικροσκοπίου.. - 81 -

Αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν...................................... - 81 -

Πρωτόκολλο ανοσοϊστοχημείας.. - 82 -

Αξιολόγηση ανοσοϊστοχημικής χρώσης................................. - 85 -

Στατιστική ανάλυση... - 86 -

Γ.Αποτελέσματα... - 88 -

I. Ανοσοϊστοχημική έκφραση EDA1 .... - 88 -
II. Ανοσοϊστοχημική έκφραση EDAR...................................... - 95 -
Δ.Συζήτηση .... - 102 -

Ε.Συμπεράσματα .... - 108 -

4. ΠΕΡΙΛΗΨΗ .... - 110 -

5. ABSTRACT .... - 112 -

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.. - 114 -

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Οδοντογενής Κερατινοκύστη είναι μια οδοντογενής αναπτυξιακή κύστη η οποία χαρακτηρίζεται από επιθετική συμπεριφορά και υψηλό ποσοστό υποτροπής. Παρόλο που έχει σημειωθεί πρόοδος στην κατανόηση της παθογένεσής της, εντούτοις αυτή δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Το σηματοδοτικό μονοπάτι της εξωδυσπλασίνης, ανακαλύφθηκε και μελετήθηκε για πρώτη φορά το 1996. Έκτοτε, έχει μελετηθεί εκτενώς και έχει δειχθεί ο ρόλος του στο σχηματισμό εξαρτημάτων που προέρχονται από το εξώδερμα όπως τα δόντια. Δεδομένου ότι η εξωδυσπλασίνη εκφράζεται στην οδοντική ταινία από την οποία θεωρείται ότι προέρχεται η οδοντογενής κερατινοκύστη καθώς επίσης ότι ενεργοποιεί το σηματοδοτικό μονοπάτι Sonic Hedgehog, μεταλλάξεις του οποίου ανευρίσκονται σε ικανό αριθμό οδοντογενών κερατινοκύστεων, κρίθηκε σκόπιμο να μελετηθεί η πιθανή συσχέτιση του σηματοδοτικού μονοπατιού της εξωδυσπλασίνης και της οδοντογενούς κερατινοκύστης μέσω της μεθόδου της ανοσοϊστοχημείας.

Στο Γενικό Μέρος γίνεται πλήρης και εκτενής ανασκόπηση της βιβλιογραφίας για την οδοντογενή κερατινοκύστη και την εξωδυσπλασίνη. Στο Ειδικό Μέρος, στην ενότητα μέθοδος και υλικά, περιγράφονται το πρωτόκολλο της παρούσας εργασίας, το πρωτόκολλο της ανοσοϊστοχημείας και οι μέθοδοι στατιστικής αξιολόγησης των αποτελεσμάτων. Ακολουθεί η ενότητα των αποτελεσμάτων όπου παρουσιάζονται τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, η ενότητα της συζήτησης όπου τα ευρήματα αυτά συγκρίνονται με τα αντίστοχα της βιβλιογραφίας και τέλος στα συμπεράσματα, τα κύρια ευρήματα παρατίθενται συνοπτικά. Τέλος ακολουθούν κατά σειρά, η περίληψη της εργασίας στα Ελληνικά και στα Αγγλικά καθώς και η παράθεση όλων των βιβλιογραφικών αναφορών που χρησιμοποιήθηκαν για τη συγγραφή της εργασίας αυτής.

Με τη συγγραφή της μεταπτυχιακής διπλωματικής μου εργασίας ολοκληρώνεται η διαδρομή μου στο Εργαστήριο Στοματολογίας, της Οδοντιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Ολοκληρώνεται προς το παρόν. Ελπίζω στο μέλλον, το εργαστήριο και εγώ, «να τα ξαναπούμε».

Πριν πέντε χρόνια, στο τελείωμα των προπτυχιακών σπουδών μου, ήξερα με τι ήθελα να ασχοληθώ. Ή τουλάχιστον έτσι νόμιζα. Δύο χρόνια μετά, είχα γίνει αποδεκτός στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα της Στοματολογίας και αν και στην αρχή δε το είχα καταλάβει, τελικά αυτή ήταν η σωστή επιλογή για μένα και όχι η αρχική μου. Μια επιλογή που με γέμισε με γνώσεις, με απορίες, με φιλοδοξίες, με ανησυχίες και με πολλά εφόδια για τη μετέπειτα ζωή μου, επαγγελματική και μη.

Στα τρία χρόνια που διήρκησε το μεταπτυχιακό, το μεγαλύτερο μέρος κάθε ημέρας, το περνούσα, κυρίως, με τους συμφοιτητές μου. Με κάποιους πέρασα περισσότερο χρονικό διάστημα, με άλλους λιγότερο. Αλλά όλοι μου προσέφεραν κάτι, ηθελημένα ή όχι, σε προσωπικό ή επιστημονικό επίπεδο και ελπίζω να έκανα και εγώ το ίδιο σε αυτούς. Οπότε δε θα μπορούσα να μη ξεκινήσω τις ευχαριστίες μου με αυτούς. Ελένη, Παναγιώτη, Νατάσα, Βασίλη, Γρηγόρη, φίλοι μου όλοι, σας ευχαριστώ για όλα από καρδιάς.

Βέβαια φίλοι δεν ήταν μόνο οι συμφοιτητές μου. Ήταν και δύο πανέμορφες, πανέξυπνες, πολύ εργατικές και ακούραστες συνάδελφοι και φίλες. Τζένη και Μαρία. Μαρία και Τζένη. Είστε η κρυφή και φανερή δύναμη αυτού του Εργαστηρίου.

Τα τρία χρόνια αυτά, είχα την τύχη και την τιμή, να συνεργαστώ, να μάθω, να διαφωνήσω, να γελάσω, να νευριάσω, να εντυπωσιαστώ, να προβληματιστώ, να διδαχθώ, να παραδειγματιστώ, με έξι από τους καλύτερους καθηγητές της Οδοντιατρικής Σχολής Αθηνών και σίγουρα από τους καλύτερους στον κλάδο, τόσο στην Ευρώπη όσο και στον κόσμο. κα. Σκλαβούνου, κα. Οικονομοπούλου, κ. Νικητάκη, κ.Τόσιε, κα. Χρυσομάλη και κα. Πιπέρη. Σας ευχαριστώ πολύ για όλα, που με κάνατε δεκτό στο μεταπτυχιακό, που με διδάξατε, που με ανεχτήκατε και που με κάνατε καλύτερο άνθρωπο και επιστήμονα. Να είστε σίγουροι ότι όλοι σας, συμβάλλατε στα παραπάνω, ακόμα και αν δε το καταλαβαίνατε.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα δύο εκ των προαναφερθέντων. Τη Διευθύντριά και Καθηγήτρια κα. Σκλαβούνου Αλεξάνδρα που έχει οργανώσει ένα ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΟ πρόγραμμα σπουδών και που ήταν αρωγός στο επόμενο επαγγελματικό μου βήμα και τον επιβλέποντά μου, Επίκουρο Καθηγητή κ.Τόσιο Κωνσταντίνο. Δε ξέρω τι αμαρτίες πληρώνει ο άνθρωπος και του έτυχε να αναλάβει έναν τρελόΚρητικό που το μόνο χειρότερο από την ταχύτητα που μιλάει, είναι η Γραμμική Β που αποκαλεί γράμματα, αλλά προσωπικά, θα ήθελα να πω ότι νιώθω πολύ τυχερός που με ανέλαβε ο συγκεκριμένος. Λόγω του χαρακτήρα και του τρόπου σκέψεως μου, ήταν ο ιδανικός να με αναλάβει. Οι γνώσεις του, η διορατικότητά του, η συμπεριφορά του, ο τρόπος διαχείρισης των ασθενών, η κριτική του ικανότητα είναι γνωστά οπότε δε μπορώ να μην αισθάνομαι τυχερός που με ανέλαβε και ελπίζω η παρούσα διπλωματική εργασία να είναι αντάξιά του.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους τους επιστημονικούς συνεργάτες του Εργαστηρίου και στις δύο εξαιρετικές εργαλειοδότριες, Ρόζα και Πέγκυ, που συνεργαστήκαμε άψογα.

Βέβαια στη ζωή δεν υπάρχουν μόνο οι σπουδές. Δε θα ήμουν αυτός που είμαι χωρίς τους φίλους μου. Ένα μεγάλο ευχαριστώ στην παρέα μου από το σχολείο που κρατάει πάνω από δώδεκα χρόνια και είμαστε εκεί ο ένας για τον άλλο. Στα καλά και τα δύσκολα. Άγγελε, Πάνο και Πάνο. Τρία ονόματα, αμέτρητες ιστορίες. Ένα ακόμα ευχαριστώ στην παρέα μου από την Οδοντιατρική Σχολή. Νίκο, Φώτη, Καλλιρρόη, Ίνα και Ειρήνη κουβαλάτε τόση τρέλα και καλοσύνη μέσα σας που νιώθω τεράστια τύχη και τιμή που σας γνώρισα. Δε θα μπορούσα να μην αναφέρω βέβαια φίλους και συμφοιτητές που λόγω υποχρεώσεων ή και διαφορετικών χωρών δε βρισκόμαστε παρά πολύ σπάνια, αλλά η αλληλεπίδραση μαζί τους σίγουρα με έκανε καλύτερο και πληρέστερο άνθρωπο. Παυλίνα, Τάσο και Ασότ.

Μπορεί πλέον να έχουμε διαλέξει διαφορετικούς δρόμους, αλλά για πέντε χρόνια, ήταν πάντα δίπλα μου, με στήριζε, με ενθάρρυνε, μου έδινε κίνητρο και το μόνο σίγουρο είναι ότι δε θα ήμουν ο ίδιος χωρίς αυτή. Βίρνα σε ευχαριστώ πολύ. Για όλα.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους τους θείους, θείες και ξαδέρφια που με στήριξαν και με πίστεψαν όλα αυτά τα χρόνια. Ιδαίτερη θέση στην καρδιά μου κατέχουν ο ξάδερφός μου ο Πάρις, που θα μπορούσα να τον χαρακτηρίσω και δεύτερο αδερφό μου, τα ξαδέρφια μου Γιώργος (θυμηθείτε το όνομά του. Γιώργος Μοσχίδης. Μια μαθηματική διάνοια και ταυτόχρονα ο πιο συνεσταλμένος και μετριόφρων άνθρωπος που ξέρω) και Μαριάννα και η νονά μου η Ντίνα. Ένα ακόμα, μεγαλύτερο, ευχαριστώ στους δύο μου παππούδες και τις δύο μου γιαγιάδες, Πάρι, Θάλεια και Θοδωρή και Άννα. Μπορεί με τους δύο πρώτους να ήμαστε πιο κοντά λόγω απόστασης, αλλά και τους τέσσερις τους ευχαριστώ, γιατί άμα δεν ήταν αυτοί που ήταν, δε θα είχαν κάνει τους γονείς μου. Και λέγοντας για αυτούς και τον αδερφό μου θα κλείσω αυτή τη «μικρή εισαγωγή». Νομίζω πως σε αυτά τα τρία άτομα, το ευχαριστώ, όσο και να το εννοώ δε φτάνει. Το μεγαλύτερο ευχαριστώ που θα μπορούσα όμως να πω είναι ότι, πιστεύω, ότι καλύτερους γονείς και αδερφό δε θα μπορούσα να έχω και δε θα τους άλλαζα με τίποτα ούτε θα άλλαζα κάτι στο χαρακτήρα τους. Μαρία, Δημήτρη, Θοδωρή είστε οι καλύτεροι!

2. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Α. Οδοντογενής Κερατινοκύστη

I. Ορισμός

Σύμφωνα με την τελευταία ταξινόμηση του όγκων Κεφαλής και Τραχήλου του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ) [1], ως οδοντογενής κερατινοκύστη (ΟΚΚ) ορίζεται μια «οδοντογενής κύστη που επενδύεται από λεπτού πάχους πολύστιβο πλακώδες παρακερατινοποιημένο επιθήλιο τα κύτταρα της βασικής στιβάδας του οποίου έχουν βαθυχρωματικούς πυρήνες και πασσαλοειδή διάταξη».

II. Ιστορική αναδρομή

Ο όρος ΟΚΚ εισήχθη το 1956 από τον Philipsen [2], για να περιγράψει οδοντογενείς κύστεις που εμφάνιζαν ιστολογικά κερατινοποίηση, ενώ τα διαγνωστικά κριτήρια της οντότητας αυτής, καθιερώθηκαν από τους Pindborg και Hansen το 1963 [3]. Ο ΠΟΥ στην πρώτη ταξινόμηση των οδοντογενών όγκων και κύστεων το 1971 [4], ταύτιζε την ΟΚΚ με την αρχέγονη κύστη, μια οντότητα που περιεγράφηκε πρώτη φορά από τον Robinson το 1945 [5] ως «κύστη επενδυόμενη από επιθήλιο που προκύπτει μετά από εκφυλισμό του αστεροειδούς δικτύου του οργάνου της αδαμαντίνης, πριν από το σχηματισμό ενασβεστιούμενων δομών». Το 1956, οι Robinson και συν [6] ανέφεραν επιπλέον για την αρχέγονη κύστη ότι «αναπτύσσεται σε περιοχές που δεν υπάρχουν δόντια και υπάρχει ιστορικό αποτυχίας ανάπτυξης αυτών», ενώ δε γίνεται καμία αναφορά για κερατινοποίηση του επενδυτικού επιθηλίου της κύστης. Εντούτοις, ο λόγος που η ΟΚΚ και η αρχέγονη κύστη θεωρήθηκαν συνώνυμες στην πρώτη ταξινόμηση των οδοντογενών όγκων και κύστεων [4], είναι ότι και οι δύο θεωρήθηκε ότι προέρχονται από το αρχέγονο επιθήλιο [7]. Παρόλο που ο ίδιος ο Robinson που περιέγραψε για πρώτη φορά την αρχέγονη κύστη, ανέφερε το 1975 ότι δεν πρέπει να συγχέεται με την ΟΚΚ και ότι αποτελούν ξεχωριστές οντότητες [7], για τον ΠΟΥ η αρχέγονη κύστη παρέμενε συνώνυμη με την ΟΚΚ τόσο στη δεύτερη (1992) [8] όσο και στην Τρίτη (2005) [9] ταξινόμηση των όγκων Κεφαλής και Τραχήλου. Εντούτοις στην τελευταία ταξινόμηση (2017) [1], δεν αναφέρεται ότι η ΟΚΚ είναι συνώνυμη με την αρχέγονη κύστη, χωρίς όμως να δίνεται κάποιος ορισμός για την τελευταία. Η πιο πρόσφατη αναφορά σε ορισμό για την αρχέγονη κύστη δόθηκε στην τελευταία έκδοση του άτλαντα του Ινστιτούτου Παθολογίας των Ενόπλων Δυνάμεων (AFIP) (2012) [10] στον οποίο ως αρχέγονη κύστη, ορίζεται μια «μη κερατινοποιημένη οδοντογενής κύστη αγνώστου προελεύσεως που σχηματίζεται στην περιοχή αναπτυσσόμενου φυσιολογικού ή υπεράριθμου οδόντος», ενώ η πιο πρόσφατη δημοσιευμένη περίπτωση (πιθανής) αρχέγονης κύστης, δημοσιεύτηκε από τους Argyris και συν [11], οι οποίοι σε μια εκτενή παρουσίαση περιστατικού και συζήτηση της βιβλιογραφίας, πραγματεύονται αν η περίπτωση που παρουσιάζουν είναι αληθής αρχέγονη κύστη ή αρχέγονο κυστικό οδόντωμα.

Ενώ στις δύο πρώτες ταξινομήσεις των οδοντογενών όγκων και κύστεων [4,8], η ΟΚΚ ταξινομείτο στις οδοντογενείς κύστεις, στην τρίτη ταξινόμηση το 2005 [9], ο ΠΟΥ τη συμπεριέλαβε στους οδοντογενείς όγκους, με την ονομασία «Κερατινοκυστικός Οδοντογενής Όγκος». Οι λόγοι που οδήγησαν στην αλλαγή της ταξινόμησης της ΟΚΚ ήταν η τοπικά διηθητική συμπεριφορά της, το αυξημένο ποσοστό υποτροπής μετά την αφαίρεση, η ύπαρξη μεμονωμένων περιστατικών «συμπαγούς» ΟΚΚ και οι αναφορές για ΟΚΚ με μεταλλάξεις στο γονίδιο PTCH1 [12]. Ήδη όμως παλαιότερες μελέτες, προγενέστερες της πρώτης [13] και της δεύτερης [14] ταξινόμησης, έθεταν το ερώτημα αν η ΟΚΚ πρέπει να θεωρείται καλοήθης όγκος. Ο επαναπροσδιορισμός της ΟΚΚ ως όγκου, είχε ως συνέπεια την αύξηση του επιπολασμού των οδοντογενών όγκων [15,16]. Στον Ελληνικό πληθυσμό μάλιστα, βρέθηκε ότι ο Κερατινοκυστικός Οδοντογενής Όγκος συνιστούσε το συχνότερο οδοντογενή όγκο σε ποσοτό 52,7% [16]. Μια ακόμη αλλαγή που επέφερε η τρίτη ταξινόμηση των όγκων κεφαλής τραχήλου, είναι ότι για πρώτη φορά καθορίστηκε ο τύπος της κερατίνης στην ΟΚΚ. Ενώ στις δύο πρώτες ταξινομήσεις [4,8], ο όρος ΟΚΚ περιλάμβανε κύστεις τόσο με παρακερατινοποιημένο επιθήλιο όσο και με ορθοκερατινοποιημένο, στην ταξινόμηση του 2005 [9], η δεύτερη κατηγορία αφαιρέθηκε από τον ορισμό της ΟΚΚ και ονομάστηκε ορθοκερατινοποιημένη οδοντογενής κύστη, υπαγόμενη στις οδοντογενείς κύστεις. Ο λόγος για αυτόν τον διαχωρισμό, ο οποίος διατηρείται και στην τελευταία ταξινόμηση του ΠΟΥ [1,17], είναι ότι η ορθοκερατινοποιημένη οδοντογενής κύστη, διαφέρει από την ΟΚΚ σε κλινικό, ιστολογικό και βιολογικό επίπεδο [12].

Στην τελευταία ταξινόμηση των όγκων Κεφαλής και Τραχήλου του ΠΟΥ [1], η ΟΚΚ επαναταξινομήθηκε στις οδοντογενείς κύστεις. Ο λόγος για αυτήν την αλλαγή ήταν ότι στην πλειοψηφία των περιπτώσεων δεν υπάρχουν μεταλλάξεις στο γονίδιο PTCH1 και κυρίως ότι ως αληθές νεόπλασμα, δε θα έπρεπε να υποχωρεί ακόμα και μετά την απομάκρυνση του αιτίου δημιουργίας του, γεγονός που δε συνηγορεί με την πλήρη υποστροφή των ΟΚΚ μετά από μαρσιποποίηση [17]. Παρόλα αυτά, τονίζεται από τους συγγραφείς του αντίστοιχου κεφαλαίου της ταξινόμησης των όγκων Κεφαλής και Τραχήλου του ΠΟΥ [17] ότι δε θεωρούν ότι η ΟΚΚ είναι σίγουρα κύστη, απλά τα δεδομένα μέχρι τη στιγμή της συγγραφής του κεφαλαίου δεν επαρκούσαν για να διατηρήσουν τη βλάβη στους οδοντογενείς όγκους.

III. Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά

Η ΟΚΚ είναι μια σχετικά σπάνια οντότητα καθώς έχει υπολογιστεί ότι ο επιπολασμός της είναι 15,1 ασθενείς ανά εκατομμύριο πληθυσμού [18], ενώ ανά έτος διαγιγνώσκονται 2,5 νέα περιστατικά ανά εκατομμύριο πληθυσμού [19]. Ο αριθμός των νέων περιπτώσεων ανά έτος ποικίλει ανάλογα με την εθνικότητα και έχει αναφερθεί ότι είναι μεγαλύτερος στις Αφρικανικές χώρες [20].

Η σχετική συχνότητα της ΟΚΚ στο σύνολο των οδοντογενών κύστεων, με βάση τη νέα ταξινόμηση του ΠΟΥ [1], δεν έχει ακόμα προσδιοριστεί [21]. Για αυτό το λόγο, για τον προσδιορισμό της σχετικής συχνότητας της ΟΚΚ, αναφερόμαστε είτε σε μελέτες που χρησιμοποιούν την ταξινόμηση του ΠΟΥ του 1992 [8] είτε την ταξινόμηση του 2005 [9]. Όσον αφορά στις μελέτες που χρησιμοποιούν την ταξινόμηση του 1992 [8], λόγω του ότι στον ορισμό της ΟΚΚ συμπεριλαμβανόταν και η ορθοκερατινοποιημένη οδοντογενής κύστη, η ακριβής συχνότητα ΟΚΚ δε μπορεί να προσδιοριστεί. Παρόλα αυτά, καθώς η ορθοκερατινοποιημένη οδοντογενής κύστη συνιστά πολύ μικρό ποσοστό (10%) των κερατινοποιούμενων κύστεων [22], μπορεί να θεωρηθεί ότι η σχετική συχνότητα της ΟΚΚ στις μελέτες που χρησιμοποιούν την ταξινόμηση του 1992 [8], δε διαφέρει σε σημαντικό βαθμό από τη συχνότητα που θα πρόεκυπτε με την εξαίρεση των ορθοκερατινοποιημένων οδοντογενών κύστεων. Αντίθετα, οι μελέτες που χρησιμοποιούν την ταξινόμηση του 2005 [9] αναφερουν την ακριβή συχνότητα της ΟΚΚ στο σύνολο των οδοντογενών κύστεων, καθώς στον όρο «Κερατινοκυστικός Οδοντογενής Όγκος» δε συμπεριλαμβανόταν η ορθοκερατινοποιημένη οδοντογενής κύστη.

Η ΟΚΚ συνιστά την 3^{η} σε συχνότητα οδοντογενή κύστη μετά την ακρορριζική κύστη και την οδοντοφόρο κύστη [23-29], με εξαίρεση τις μελέτες των Tekkesin και συν

[30] και Del Corso και συν [31], όπου η ΟΚΚ ήταν η $2^η$ σε συχνότητα οδοντογενής κύστη μετά την ακρορριζική κύστη. Το 2014, οι Johnson και συν [32], πραγματοποίησαν συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και βρήκαν ότι η ΟΚΚ είναι η $3^η$ σε συχνότητα οδοντογενής κύστη και αντιστοιχεί στο 11,5% όλων των οδοντογενών κύστεων με $1^η$ σε συχνότητα την ακρορριζική κύστη (54,6%) και $2^η$ την οδοντοφόρο (20,6%). Αξίζει να τονιστεί ότι υπάρχουν διαφορές στις αναφερόμενες συχνότητες των ΟΚΚ στο σύνολο των οδοντογενών κύστεων ανάλογα με τη χώρα προέλευσης της εκάστοτε μελέτης [32], με τη μελέτη των Tortorici και συν [27] να αναφέρει τη μικρότερη συχνότητα (1,5%) και τη μελέτη των Mosqueda-Taylor και συν [28] τη μεγαλύτερη (21,5%).

Το 2011, ο MacDonald-Jankowski [22], πραγματοποίησε συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, με τη μελέτη αυτή να αποτελεί την πιο αξιόπιστη όσον αφορά τα δημογραφικά στοιχεία της ΟΚΚ, αφού συμπεριέλαβε μόνο περιπτώσεις με ιστολογικά διαγνωσμένες ΟΚΚ, εξαιρώντας τις ορθοκερατινοποιημένες οδοντογενείς κύστεις και τις ΟΚΚ που εμφανίζονται σε ασθενείς με Σύνδρομο Σπιλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων. Με βάση τη συγκεκριμένη ανασκόπηση [22], η ΟΚΚ, εμφανίζεται συχνότερα σε άνδρες (αναλογία ανδρών – γυναικών: 1,5:1), ενώ οι ασθενείς βρίσκονται συχνότερα στην $2^η$ – $4^η$ δεκαετία ζωής με μέση ηλικία τα 37,81±6,33 έτη (ηλικιακό εύρος 6 – 84 έτη). Η ΟΚΚ εμφανίζεται με μεγαλύτερη συχνότητα σε άνδρες σε σχέση με γυναίκες στη $2^η$, $4^η$ – $7^η$ δεκαετία, ενώ το αντίστροφο συμβαίνει στην $1^η$, $3^η$, και $8^η$ δεκαετία [22]. Τα προαναφερθέντα ισχύουν για το σύνολο των ΟΚΚ. Ανάλογα με την εθνικότητα παρατηρούνται διαφορές όσον αφορά την ηλικιακή κατανομή και την αναλογία ανδρών - γυναικών [22]. Στον Ελληνικό πληθυσμό, σύμφωνα με πρόσφατη εργασία των Ταμιωλάκη και συν [33], η ΟΚΚ εμφανίζεται με ελαφρά αυξημένη συχνότητα στους άνδρες (54%) σε σχέση με τις γυναίκες (46%) (αναλογία ανδρών – γυναικών: 1,17:1) ενώ η πλειοψηφία των ασθενών βρίσκονται στην 3η – 5η δεκαετία ζωής και η μέση ηλικία τους είναι τα 42,8±18,7 έτη (ηλικιακό εύρος: 8- 84 έτη). Με βάση την ίδια μελέτη [33], οι άνδρες ασθενείς βρίσκονται συχνότερα στην 3η – 5η δεκαετία ζωής με μέση ηλικία τα 45±18,3 έτη, ενώ οι γυναίκες στη 2η, 3η και 7η δεκαετία ζωής με μέση ηλικία τα 40,2±18,99 έτη. Η δίκορφη αυτή κατανομή στις γυναίκες ασθενείς, τόσο στον Ελληνικό πληθυσμό όσο και στο σύνολο των περιπτώσεων [22], δεν έχει μέχρι στιγμής τεκμηριωθεί. Η ΟΚΚ, στον Ελληνικό πληθυσμό, εμφανίζεται με μεγαλύτερη συχνότητα σε άνδρες σε σχέση με γυναίκες στη 4η - 6η, 8η και 9η δεκαετία, ενώ το αντίστροφο συμβαίνει στην 1η – 3η και 7η δεκαετία [33]. Στον Πίνακα 1, παρατίθεται η ηλικιακή κατανομή των ασθενών με ΟΚΚ ανά δεκαετία, φύλο και εθνικότητα [22,33]. Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 1, στον Ελληνικό πληθυσμό, η ΟΚΚ εμφανίζεται σε μεγαλύτερη ηλικία σε σχέση με άλλες εθνικότητες αλλά η συνολική ηλικιακή της κατανομή προσεγγίζει αυτή των Καυκάσιων, ενώ η αναλογία ανδρών – γυναικών προσεγγίζει αυτήν των ασθενών από την Λατινική Αμερική.

Πίνακας 1 - Σύγκριση της ηλικιακής κατανομής ανά δεκαετία, φύλο και εθνικότητα με βάση τη συστηματική ανασκόπηση του MacDonald-Jankowski [22] και την εργασία των Ταμιωλάκη και συν [33]

Δεκαετία ζωής	**Όλες οι περιπτώσεις [11]** άντρες: γυναίκες (ποσοστό επί του συνόλου)	**Ανατολική Ασία [11]** άντρες: γυναίκες (ποσοστό επί του συνόλου)	**Λατινική Αμερική [11]** άντρες: γυναίκες (ποσοστό επί του συνόλου)	**Δυτικοί/Καυκάσιοι [11]** άντρες: γυναίκες (ποσοστό επί του συνόλου)	**Υπο-Σαχάρια Αφρική [11]** άντρες: γυναίκες (ποσοστό επί του συνόλου)	**Ελληνικός πληθυσμός [33]** άντρες: γυναίκες (ποσοστό επί του συνόλου)
1η δεκαετία	7:11 (1,9%)	6:5 (1,3%)	1:2 (2%)	0:4 (5,5%)	0	0:1 (0,3%)
2η δεκαετία	78:57 (18,9%)	48:28 (17%)	24:23 (23,7%)	6:6 (21,3%)	0	12:23 (13%)
3η δεκαετία	80:84 (29%)	45:48 (28,1%)	30:28 (32,2%)	3:8 (28,1%)	2:0 (33,3%)	22:25 (17%)
4η δεκαετία	41:32 (18,9%)	25:16 (21,1%)	14:11 (15,7%)	2:4 (11,5%)	0:1 (16,7%)	33:17 (19%)
5η δεκαετία	41:29 (13.6%)	25:15 (14,7%)	9:8 (11,3%)	6:5 (11,1%)	1:1 (33,3%)	24:18 (16%)
6η δεκαετία	32:20 (9,2%)	15:9 (9,6%)	11:8 (7,1%)	6:3 (11,5%)	0	21:16 (14%)
7η δεκαετία	20:15 (6,5%)	9:7 (7,2%)	8:7 (4,2%)	3:1 (7,2%)	0	16:21 (14%)
8η δεκαετία	8:10 (1,8%)	1:2 (0,8%)	5:3 (3,8%)	2:4 (3,4%)	0:1 (16,7%)	13:5 (6%)
9η δεκαετία	3 (δε διευκρινίζεται φύλο) (0,1%)	2 (δε διευκρινίζεται φύλο) (0,1%)	0:0 (0%)	1 (δε διευκρινίζεται φύλο) (0,2%)	0	3:0 (1%)
Σύνολο	307:258 (3 ασθενείς χωρίς διευκρίνιση φύλου)	174:130 (2 ασθενείς χωρίς διευκρίνιση φύλου)	102:90	28:35 (1 ασθενής χωρίς διευκρίνιση φύου)	3:3	144:126

IV. Κλινικά χαρακτηριστικά

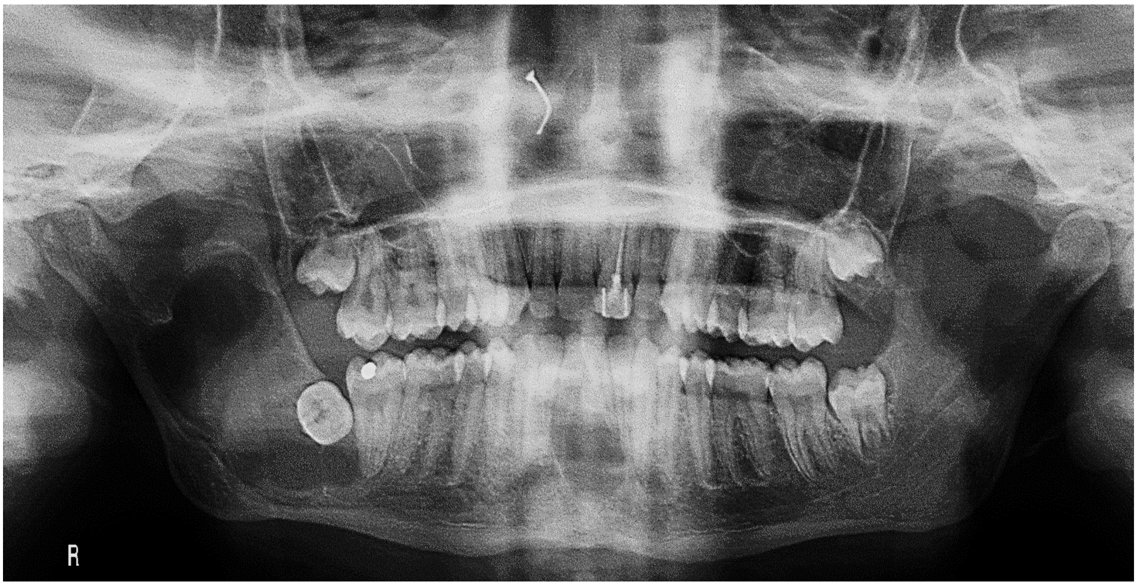
Στη συστηματική ανασκόπηση του MacDonald-Jankowski [22] αναφέρεται ότι η ΟΚΚ προσβάλλει με μεγαλύτερη συχνότητα την κάτω σε σχέση με την άνω γνάθο σε αναλογία 2,58:1. Στην κάτω γνάθο στο 88% των περιπτώσεων εντοπίζεται στις οπίσθιες περιοχές και συγκεκριμένα στην περιοχή γομφίων-γωνία-κλάδου, ενώ στην άνω γνάθο το αντίστοιχο ποσοστό είναι 69% [22]. Όπως και με την ηλικιακή κατανομή, υπάρχουν και στην εντόπιση διαφορές ανά εθνικότητα, οι οποίες όμως δε διαφοροποιούνται σημαντικά από τα προαναφερθέντα ποσοστά [22]. Στην αντίστοιχη μελέτη στον Ελληνικό πληθυσμό [33], παρατηρήθηκε ότι η κάτω γνάθος προσβάλλεται στο 72% των περιπτώσεων και η άνω στο 27%, ενώ στο 1% των περιπτώσεων παρατηρούνται ΟΚΚ και στις δύο γνάθους. Στις περιπτώσεις με πολλαπλές ΟΚΚ, δεν αναφερόταν στο παραπεμπτικό ιστολογικής εξέτασης ιστορικό ή άλλα ευρήματα συμβατά με Σύνδρομο Σπιλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων [33]. Στον ίδιο πληθυσμό, η ΟΚΚ εντοπίζεται στις οπίσθιες περιοχές της κάτω γνάθου στο 89% των περιπτώσεων, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για την άνω γνάθο είναι 67% [33].

Στο 58,3% των περιπτώσεων υπάρχει κλινικά εμφανής διόγκωση, στο 32,4% πόνος, στο 12,2% παρατηρείται εκροή πυώδους εξιδρώματος και στο 1,87% υπαισθησία [22]. Οι ΟΚΚ στον Ασιατικό πληθυσμό φαίνονται να σχετίζονται συχνότερα με οίδημα και πόνο σε σχέση με άλλες εθνικότητες [22]. Οι ΟΚΚ στην άνω γνάθο είναι πιθανότερο να μολυνθούν και να φλεγμαίνουν κάτι που έχει ως επακόλουθο την πιο έγκαιρη διάγνωσή τους [34]. Δεν υπάρχουν δεδομένα για κλινικά σημεία και συμπτώματα στον Ελληνικό πληθυσμό [33].

Έχουν επίσης αναφερθεί ολιγάριθμες (λόγω σπανιότητας) περιπτώσεις περιφερικών ΟΚΚ, κυρίως στα παρειακά ούλα της άνω γνάθου, ακολουθούμενα από τα παρειακά ούλα της κάτω γνάθου και μόνο μία δημοσιευμένη περίπτωση περιφερικής ΟΚΚ στα γλωσσικά ούλα της κάτω γνάθου [35], καθώς και μεμονωμένες περιπτώσεις ενδομυϊκών ΟΚΚ [36,37]. Τόσο οι περιφερικές ΟΚΚ, όσο και οι ενδομυϊκές, έχουν αποδειχθεί ότι προσομοιάζουν με τις ενδοοστικές ΟΚΚ τόσο ιστολογικά όσο και ανοσοϊστοχημικά [35,36,37].

V. Ακτινογραφικά χαρακτηριστικά

Η ΟΚΚ στην πλειοψηφία των περιπτώσεων (72,3%) εμφανίζεται ακτινογραφικά ως μονόχωρη ακτινοδιαυγαστική βλάβη, ενώ στο 27,7% των περιπτώσεων ως πολύχωρη [22]. Αν και ασύνηθες, έχει αναφερθεί ότι όταν ο αυλός της κυστικής κοιλότητας πληρούται με κερατίνη, τότε πιθανόν να παρατηρείται «θολερότητα» μέσα στην ακτινοδιαύγαση [38]. Επίσης είναι πιθανότερο ΟΚΚ με μεγαλη χρονική διάρκεια να εμφανίζονται ως πολύχωρες ακτινοδιαυγαστικές βλάβες με πιο εκτεταμένη την εγγύς-άπω διάστασή [39]. Επιπλέον οι πολύχωρες βλάβες είναι πιθανότερο να σχετίζονται με απορρόφηση ριζών ή διάτρηση του φλοιώδους οστού σε σύγκριση με τις μονόχωρες [40]. Τα όρια της ακτινοδιαυγαστικής βλάβης στο 64,5% των περιπτώσεων είναι καλά περιγεγραμμένα ενώ στο 60% των περιπτώσεων είναι ακτινοσκιερά [22]. Στο 23% των περιπτώσεων παρατηρείται απορρόφηση ριζών, ενώ στο 35,2% υπάρχει συσχέτιση με έγκλειστο δόντι [22] (Εικόνα 1).



Εικόνα 1 – Ακτινογραφική εικόνα ΟΚΚ. Παρατηρείται σαφώς περιγεγραμμένη διαυγαστική αλλοίωση στον κλάδο και τη γωνία της κάτω γνάθου δεξιά εντός της οποίας αναγνωρίζεται μύλη έγκλειστου τρίτου γομφίου.

Η απορρόφηση ριζών παρατηρείται σε μεγαλύτερης ηλικίας ασθενείς [39], ενώ η συσχέτιση με έγκλειστο δόντι σε νεαρούς ασθενείς [41]. Αναφέρεται πως είναι πιθανότερο να παρατηρηθεί απορρόφηση ριζών σε ασθενείς από την Ασία [20,22]. Όσον αφορά στις ΟΚΚ σε σχέση με έγκλειστο δόντι, ακτινογραφικά είναι συχνό εύρημα η ακτινοδιαυγαστική βλάβη να εισέρχεται μεταξύ των ακρορριζίων των δοντιών (scalloping) [41]. Άλλα πιθανά ακτινογραφικά ευρήματα είναι η παρεκτόπιση του πόρου του κάτω φατνιακού νεύρου, η διάτρηση του κάτω πετάλου της κάτω γνάθου και η παρεκτόπιση των δοντιών [22]. Λόγω της μη ειδικής ακτινογραφικής εικόνας της, η ΟΚΚ μιμείται άλλες βλάβες όπως: οδοντοφόρος κύστη, ακρορριζική κύστη, υπολειμματική κύστη, πλάγια περιοδοντική κύστη, ρινοϋπερώια κύστη, αδαμαντινοβλάστωμα, κεντρικό γιγαντοκυτταρικό κοκκίωμα κ.α. [34,42]. Είναι χαρακτηριστικό ότι στην μελέτη των Ταμιωλάκη και συν [33] η ΟΚΚ είχε τεθεί ως πιθανή διάγνωση στο 46% των περιπτώσεων, ακολουθούμενη από την οδοντοφόρο κύστη (20%), την υπολειμματική κύστη (13%), την ακρορριζική κύστη (11%), την πλάγια περιοδοντική κύστη (4%) και το αδαμαντινοβλάστωμα (2%), ενώ ποικίλες άλλες πιθανές διαγνώσεις είχαν τεθεί στο υπόλοιπο 4% του δείγματος. Αξίζει να τονιστεί, επίσης, ότι η ΟΚΚ συνιστά την πιο συνήθη ιστολογική διάγνωση περιακρορριζικών βλαβών μετά την ακρορριζική κύστη και το ακρορριζικό κοκκίωμα [43].

Παρόλο που η ΟΚΚ θεωρείται ότι δεν αναπτύσσεται στην παρειογλωσσική της διάσταση αλλά αντίθετα στην εγγύς-άπω [1], εντούτοις σε πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας παρατηρήθηκε παρειογλωσσική αύξηση στο 61,7% των περιπτώσεων [22]. Σύμφωνα με τους συγγραφείς όμως [22], το ποσοστό αυτό θα πρέπει να κριθεί επιφυλακτικά μιας και βασίζεται σε δύο μόνο μελέτες εκ των οποίων στη μια παρατηρήθηκε αυξημένο ποσοστό περιπτώσεων με παρειογλωσσική αύξηση (81,8%) [44], ενώ στην άλλη παρειογλωσσική αύξηση παρατηρήθηκε μόνο στο 14,3% των περιπτώσεων [45], και τονίζουν την ανάγκη για περισσότερες ακτινογραφικές μελέτες σχετιζόμενες με την ΟΚΚ. Όταν η ΟΚΚ, εντοπίζεται στην άνω γνάθο κοντά στο ιγμόρειο άντρο, τότε ακτινογραφικά μπορεί να πρατηρείται επέκταση της βλάβης εντός της κοιλότητας του ιγμορείου [39].

Στην αξονική τομογραφία (CT), μπορεί να παρατηρηθεί γλωσσική επέκταση της ΟΚΚ, χωρίς αντίστοιχη παρειακή επέκταση παρά μόνο λέπτυνση του παρειακού οστικού πετάλου [46]. Στην CT το 70% των ΟΚΚ φαίνεται να εισέρχονται μεταξύ των ριζών των δοντιών [46]. Το εύρημα αυτό όσον αφορά τις ΟΚΚ της κάτω γνάθου μπορεί να παρατηρηθεί και στην πανοραμική ακτινογραφία ενώ για τις βλάβες της άνω γνάθου ανακαλύπτεται μόνο στην CT [46]. Ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα της ΟΚΚ, είναι ότι στο 30% των περιπτώσεων, μπορεί να παρατηρηθούν περιοχές εξασθένησης (attenuation) της ακτινοβολίας, οι οποίες δεν ενισχύονται μετά την έγχυση σκιαγραφικού υλικού [46,47], εύρημα το οποίο έχει αποδοθεί στην κερατίνη που μπορεί να υπάρχει εντός της κοιλότητας [48]. Στην αξονική τομογραφία κωνικής δέσμης (CBCT) παρατηρούνται τα ίδια ευρήματα με την CT [49], αλλά πλεονεκτεί ως προς τη μικρότερη δόση ακτινοβολίας και την υψηλότερη ανάλυση [46,50]. Στη μελέτη των Kauke και συν [49], βρέθηκε ότι όσο μεγαλύτερες σε μέγεθος εμφανίζονται στη CBCT οι ΟΚΚ, τόσο πιο πιθανόν είναι να πολύχωρες, να έχουν προκαλέσει απορρόφηση ριζών, διάτρηση του οστικού πετάλου και εκτόπιση του πόρου του κάτω φατνιακού νεύρου, ενώ κλινικά είναι πιθανότερο να είναι συμπτωματικές.

Διαφοροδιαγνωστικό στοιχείο σε σχέση με το αδαμαντινοβλάστωμα είναι η ενίσχυση του ορίου της ΟΚΚ στην CT, ενώ αντίθετα στο αδαμαντινοβλάστωμα η ενίσχυση παρατηρείται στη μάζα της βλάβης [46,47,51]. Στην περίπτωση όμως μονοκυστικού αδαμαντινοβλαστώματος δεν είναι απαραίτητο ότι θα παρατηρηθεί η αντίστοιχη ενίσχυση λόγω απουσίας συμπαγούς τμήματος βλάβης ενώ αντίστοιχα επί φλεγμονής της ΟΚΚ μπορεί να παρατηρηθεί ενίσχυση εντός της βλάβης [46]. Ένα επιπλέον διαφοροδιαγνωστικό στοιχείο μεταξύ των δύο βλαβών στην CT είναι ότι το αδαμαντινοβλάστωμα έχει μεγαλύτερη επέκταση στην παρειογλωσσική διάσταση και προκαλεί συχνότερα απορρόφηση ριζών [46,47]. Σε σχέση με την οδοντοφόρο και την ακρορριζική κύστη, η ΟΚΚ, σύμφωνα με μελέτη των Kakimoto και συν [50], παρουσιάζει μικρότερο λόγο μικρότερης διαμέτρου/μεγαλύτερης διαμέτρου, όπως αυτές μετρούνται σε εγκάρσιες τομές στη CT. Μπορεί η CT και η CBCT να βοηθήσουν στον προεγχειρητικό έλεγχο και να παρέχουν κάποια στοιχεία για τη διαφορική διάγνωση, όπως και η πανοραμική ακτινογραφία, η τελική διάγνωση όμως πάντα πρέπει να τίθεται μετά από ιστολογική εξέταση [46,49,50].

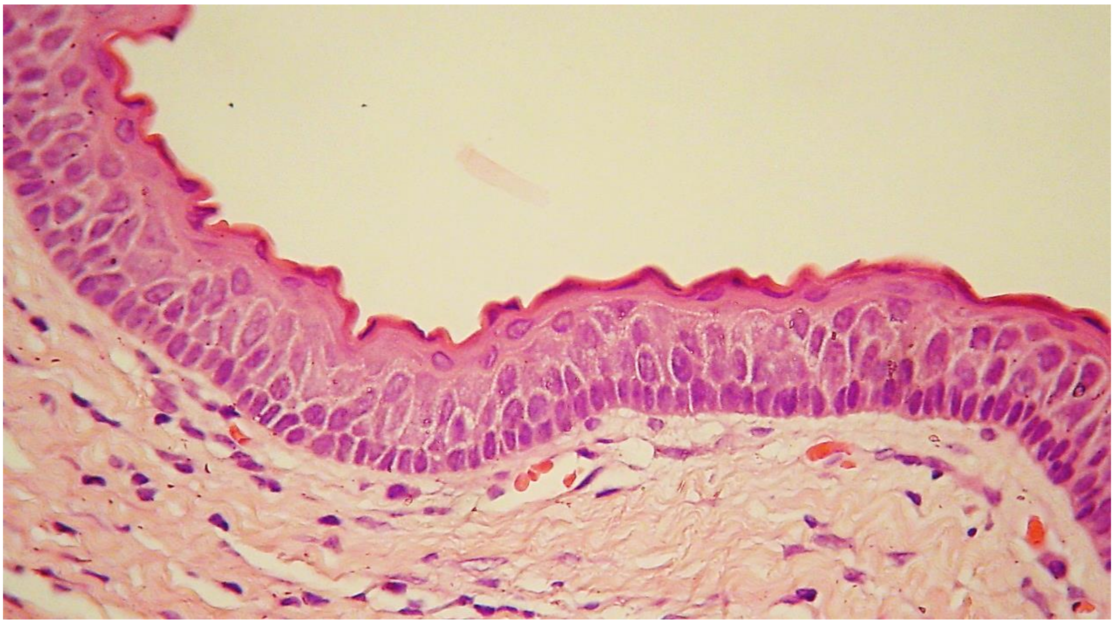
Όσον αφορά στη χρήση της μαγνητικής τομογραφίας (MRI) στον προεγχειρητικό έλεγχο και στη διαφορική διάγνωση της ΟΚΚ έχουν πραγματοποιηθεί λίγες μελέτες με μικρό αριθμό περιπτώσεων ΟΚΚ, οπότε δε μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα [52,53].

Δεν υπάρχουν διαφορές στα ακτινογραφικά ευρήματα μεταξύ υποτροπιαζουσών και μη ΟΚΚ ούτε στην πανοραμική ακτινογραφία [54] ούτε στην CT [46].

VI. Ιστολογικά χαρακτηριστικά

Σύμφωνα με την τελευταία ταξινόμηση του ΠΟΥ [1], η ΟΚΚ ιτολογικά χαρακτηρίζεται από «μη φλεγμαίνον τοίχωμα που επενδύεται από λεπτού πάχους, 5-8 στίχων κυττάρων, παρακερατινοποιημένο επιθήλιο χωρίς επιθηλιακές καταδύσεις. Η παρακερατίνη στιβάδα εμφανίζει κυματοειδή διαμόρφωση, ενώ η βασική στιβάδα είναι ευδιάκριτη με τα κύτταρά της να έχουν υπερχρωματικούς πυρήνες, να είναι συχνά σε πασσαλοειδή διάταξη ενώ εστιακά μπορεί να παρουσιάζουν ανάστροφη πόλωση» (Εικόνα 2). Τα κύτταρα της βασικής στιβάδας είναι κυβοειδή ή κυλινδρικά και επιμηκυσμένα [55-59]. Τα παραπάνω ιστολογικά χαρακτηριστικά είναι ενδεικτικά ΟΚΚ και η διάγνωση δε θα πρέπει να τίθεται μόνο επί παρουσία παρακερατίνης στιβάδας, καθώς και άλλες κύστεις μπορεί να εμφανίσουν κερατινοποίηση [59].

Ένα ακόμη συχνό χαρακτηριστικό της ΟΚΚ, που δεν παρατηρείται συχνά σε άλλες οδοντογενείς ή μη κύστεις, είναι η αποκόλληση του επιθηλίου από το υποκείμενο χόριο [55], χωρίς όμως να χάνονται τα τυπικά ιστολογικά χαρακτηριστικά της [59]. Μπορεί επίσης να παρατηρηθούν μιτώσεις, συχνότερα στις υπερβασικές στιβάδες του επιθηλίου, επιθηλιακές εκβλαστήσεις ή θυγατρικές κύστεις στο τοίχωμα της ΟΚΚ [55,56].



Εικόνα 2 - Ιστολογική εικόνα Οδοντογενούς Κερατινοκύστης. Παρατηρείται παρακερατίνη στιβάδα με κυματοειδή επιφάνεια και πασσαλοειδώς διατεταγμένα κύτταρα στη βασική στιβάδα του επιθηλίου με βαθυχρωματικούς πυρήνες (χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης x400)

Τα παραπάνω αναφέρεται ότι παρατηρούνται συχνότερα σε περιπτώσεις πολλαπλών ΟΚΚ ή σε περιπτώσεις που σχετίζονται με το Σύνδρομο Σπιλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων [55-57]. Επιπλέον, μπορεί να παρατηρηθούν υπολείμματα αδρανούς οδοντογενούς επιθηλίου στο τοίχωμα της κύστης, υποεπιθηλιακή υαλινοποίηση του κολλαγόνου, υπερπλασία της παρακερατίνης στιβάδας ή τμήματα του επιθηλίου που εμφανίζουν ορθοκερατίνη στιβάδα [55-57]. Η υποεπιθηλιακή υαλινοποίηση του κολλαγόνου, ιδιαίτερα σε νεαρούς ηλικιακά ασθενείς, καθώς και η αποκόλληση του επιθηλίου από το χόριο, είναι ιστολογικά ευρήματα που παρατηρούνται συχνότερα σε ΟΚΚ που υποτροπιάζουν [57]. Αντίθετα, ενώ κάποιες ερευνητικές εργασίες υποστηρίζουν ότι η παρουσία επιθηλιακών εκβλαστήσεων ή θυγατρικών κύστεων παρατηρούνται συχνότερα σε υποτροπιάζουσες ΟΚΚ [58], άλλες μελέτες δεν έχουν καταλήξει σε παρόμοια συμπεράσματα [58]. Παρόλο που η ΟΚΚ είναι μια αναπτυξιακή (μη φλεγμαίνουσα) οδοντογενής κύστη, εντούτοις δεν είναι ασύνηθες να παρατηρηθεί φλεγμονή στο τοίχωμά της, σε ποσοστό 58% [56] - 66% [55] των περιπτώσεων, αν και έχει αναφερθεί σειρά περιστατικών όπου το 90,9% των ΟΚΚ είχε φλεγμονή στο τοίχωμά τους [57]. Σε περιπτώσεις που παρατηρείται φλεγμονή, μπορεί να χάνονται τα τυπικά ιστολογικά χαρακτηριστικά της ΟΚΚ (υπερπλασία ή ατροφία του επιθηλίου, απώλεια παρακερατίνης στιβάδας, δημιουργία επιθηλιακών καταδύσεων), καθιστώντας πιο δύσκολη τη διάγνωση [55]. Σε κάθε περίπτωση όμως, ανεξαρτήτως της έκτασης της φλεγμονής, θα υπάρχουν περιοχές με την τυπική ιστολογική εικόνα της ΟΚΚ, προκειμένου να τεθεί η σωστή διάγνωση [59-61]. Σε δύσκολες διαγνωστικά περιπτώσεις, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί η ανοσοϊστοχημεία όπως έδειξαν οι Tsuneki και συν [60], αποδεικνύοντας ότι η έντονη έκφραση της κυτταροκερατίνης CK10 στις επιφανειακές στιβάδες σε συνδυασμό με έντονη έκφραση της κυττοκερατίνης CK17 σε όλες τις στιβάδες, είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα της ΟΚΚ και την διαφοροποιούν από άλλες οδοντογενείς κύστεις ή το μονοκυστικό αδαμαντινοβλάστωμα.

Στις περιπτώσεις που υπάρχει φλεγμονή, μπορεί επίσης να παρατηρηθούν ένα ή περισσότερα εκ των: εντυπώματα κρυστάλλων χοληστερόλης, σωμάτια Russel, δυστροφικές ενασβεστιώσεις και σωμάτια υαλίνης (σωμάτια Rushton) [55,57]. Σπάνια, τέλος, ιστολογικά ευρήματα που έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία, είναι η παρουσία στο τοίχωμα της κύστης χόνδρου [62] ή οδοντινοειδούς [63], μελανίνης και μελανοκυττάρων στη βασική στιβάδα του επιθηλίου [64], καθώς και κυττάρων με διαυγές κυτταρόπλασμα ή βλεννωδών κυττάρων εντός του επιθηλίου [55]. Έχουν αναφερθεί επίσης μεμονωμένες σπάνιες περιπτώσεις όπου η ΟΚΚ συνυπήρχε ιστολογικά με άλλες οντότητες, όπως η ενασβεστιούμενη οδοντογενής κύστη [65], η ορθοκερατινοποιημένη οδοντογενής κύστη [66], ο αδενοματοειδής οδοντογενής όγκος [67], ή και το αδαμαντινοβλάστωμα [68]. Τέλος, έχουν περιγράφει μεμονωμένες περιπτώσεις συμπαγούς ΟΚΚ [69,70], η οποία αποτελείται από πολλαπλούς ποικίλου μεγέθους και σχήματος κυστικούς χώρους σε υπόστρωμα πυκνού ινώδους συνδετικού ιστού, καθένας εκ των οποίων φέρει τα τυπικά ιστολογικά χαρακτηριστικά της ΟΚΚ. Στις περιπτώσεις αυτές, πρέπει να δίδεται ιδιαίτερη σημασία στη μικροσκοπική εξέταση προκειμένου να γίνει διαφορική διάγνωση από τον ακανθωτό τύπο αδαμαντινοβλαστώματος (είναι συμπαγές νεόπλασμα το οποίο δεν έχει πολλαπλούς κυστικούς χώρους, ενώ η πλακώδης μεταπλασία βρίσκεται στο κέντρο των επιθηλιακών νησιδίων [69,70]) και το κερατοαδαμαντινοβλάστωμα, ένα σπάνιο υπότυπο αδαμαντινοβλαστώματος, με παρόμοια ιστολογική εικόνα με τη συμπαγή ΟΚΚ, με τη διαφορά ότι παρατηρούνται κυτταροπλασματικά κενοτόπια και περιοχές που προσομοιάζουν με το αστεροειδές δίκτυο της αδαμαντίνης [69,71]. Τα στοιχεία από τις δημοσιευμένες περιπτώσεις σχετικά με τη βιολογική συμπεριφορά της συμπαγούς ΟΚΚ είναι αντικρουόμενα και παραμένει ασαφές αν θα πρέπει να θεωρείται ξεχωριστή οντότητα [69,70].

Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνεται προκειμένου να αποκλειστεί αδαμαντινοβλαστική εκτροπή ΟΚΚ, η οποία θα διαπιστωθεί όταν συνυπάρχει η ιστολογική τριάδα των Vickers και Gorlin [72]: βαθυχρωμασία, πασσαλοειδής διάταξη και ανάστροφη πόλωση των πυρήνων των κυττάρων της βασικής στιβάδας και παρουσία κυτταροπλασματικών κενοτοπίων, κυρίως στα κύτταρα της βασικής στιβάδας. Πέρα από την αδαμαντινοβλαστική εκτροπή, θα πρέπει να αποκλειστεί η ύπαρξη δυσπλασίας στο επιθήλιο της ΟΚΚ [57,73], ή η κακοήθης εξαλλαγή της σε ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα [74-76]. Έχει αναφερθεί ότι οι ΟΚΚ με δυσπλασία [73] ή αυτές που εξαλλάσσονται σε ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα [76], έχουν έντονα θετική ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης p53 στα κύτταρα της βασικής στιβάδας, σε αντίθεση με τις υπόλοιπες ΟΚΚ. Ακόμη, στις ΟΚΚ που εξαλλάσσονται σε ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα υπάρχει έντονη έκφραση των κυτταροκερατινών CK5 και CK14 σε όλες τις στιβάδες του επιθηλίου και ασθενής έκφραση της κυτταροκερατίνης CK19 στις παραβασικές και ανώτερες στιβάδες του επιθηλίου, σε αντίθεση με τις ΟΚΚ που δεν εξαλλάσσονται σε ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα, όπου η κυτταροκερατίνη CK5 εκφράζεται έντονα μόνο στη βασική και παραβασική στιβάδα, η κυταροκερατίνη CK14 έντονα μόνο στη βασική στιβάδα και η CK19 έντονα μόνο στις επιφανειακές στιβάδες του επιθηλίου [76].

VII. Σύνδρομο Σπιλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων

Το σύνδρομο σπιλοειδών βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων (ΣΣΒΚ) ή σύνδρομο Gorlin-Goltz (OMIM #109400) είναι ένα πολυσυστηματικό σύνδρομο που μεταβιβάζεται με τον αυτοσωμικό επικρατούντα τύπο κληρονομικότητας και χαρακτηρίζεται κυρίως από την εμφάνιση βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων στο δέρμα, ΟΚΚ στις γνάθους καθώς και ποικίλων σκελετικών ανωμαλιών [77,78]. Περιγράφηκε πρώτη φορά το 1894, αλλά αναγνωρίστηκε ως ξεχωριστή οντότητα στα μέσα του 20^{ου} αιώνα [77]. Άξιο αναφοράς είναι ότι έχουν βρεθεί οστικές αλλαγές συμβατές με το ΣΣΒΚ σε σκελετούς στην Αίγυπτο χρονολογούμενους από την περίοδο 3000 – 2575 π.Χ [78]. Προκαλείται από μεταλλάξεις στο γονίδιο Patched 1 (PTCH1) που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 9q22.3-9q31 [79]. Μέχρι στιγμής έχουν περιγραφεί γύρω στις 280 διαφορετικές γενετικές μεταλλάξεις (germline mutations – κληρονομούμενες μεταλλάξεις παρούσες σε όλα τα κύτταρα του σώματος) στο γονίδιο PTCH1 [79], ενώ έχουν περιγραφεί μεμονωμένες περιπτώσεις ΣΣΒΚ που οφείλονται σε μεταλλάξεις των γονιδίων PTCH2 [80,81] και SUFU (αναστολέας της ομόλογης της fused – suppressor of fused homolog) [82]. Το σύνδρομο δεν έχει προτίμηση φύλου [78-80], ενώ η επίπτωση του ποικίλει ανάλογα με την εθνικότητα με την μεγαλύτερη συχνότητα να έχει αναφερθεί στην Αγγλία (1 περίπτωση ανά 19.000 γεννήσεις) [83], και τη μικρότερη στην Ιταλία (1 περίπτωση ανά 256.000 γεννήσεις) [84]. Με βάση την πλειοψηφία των μελετών μπορεί να θεωρηθεί ότι η μέση επίπτωση του συνδρόμου είναι περίπου 1 περίπτωση ανά 60.000 γεννήσεις [79]. Η διάγνωση του ΣΣΒΚ γίνεται με βάση τα κριτήρια που θέσπισαν οι Kimonis και συν [85]. Τα κριτήρια αυτά επαναξιολογήθηκαν το 2005 στο πρώτο διεθνές συνέδριο για το ΣΣΒΚ, χωρίς οι συμμετέχοντες να συμφωνήσουν ομόφωνα (consensus) σε νέα κριτήρια [78]. Παρόλα αυτά, προτάθηκαν κάποιες τροποποιήσεις στα ήδη υπάρχοντα κριτήρια, με τα τροποποιημένα κριτήρια να παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Για να τεθεί η διάγνωση πρέπει να πληρούνται δύο μείζονα κριτήρια, ή ένα μείζον και δύο ελάσσονα κριτήρια ή ένα μείζον κριτήριο και ταυτόχρονη μοριακή επιβεβαίωση [78]. Λόγω του ακριβού κόστους του γενετικού ελέγχου αλλά και λόγω της μη ύπαρξης μετάλλαξης σε όλους τους ασθενείς, προτάθηκε να γίνεται επιβεβαίωση μετάλλαξης στο γονίδιο PTCH1: α) προγεννητικά επί γνωστής μετάλλαξης του γονιδίου στην οικογένεια, β) σε ασθενείς με κλινικά σημεία που δεν επαρκούν για τη διάγνωση του συνδρόμου και γ) σε ασθενείς που έχουν συγγενή με μετάλλαξη αλλά δεν πληροί τα κριτήρια διάγνωσης του συνδρόμου [78]. Η έγκαιρη διάγνωση του συνδρόμου είναι αναγκαία, ώστε ο ασθενής να λάβει κατάλληλη θεραπεία, η οποία παρέχεται από ιατρούς πολλαπλών ειδικοτήτων [78,86].

Πίνακας 2 - Διαγνωστικά Κριτήρια Συνδρόμου Σπιλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων [78]

Μείζονα Κριτήρια	
1.	Βασικοκυτταρικά καρκινώματα σε ασθενείς <20 ετών ή εκτεταμένος αριθμός βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων που δε μπορεί να αποδοθεί στη ηλιακή ακτινοβολία ή στον τύπο του δέρματος
2.	Οδοντογενείς Κερατινοκύστεις σε ασθενείς <20 ετών
3.	Βοθρία παλαμών ή πελμάτων
4.	Πεταλιώδης ενασβεστίωση του δρεπάνου του εγκεφάλου
5.	Μυελοβλάστωμα, τυπικά δεσμοπλαστικό
6.	Συγγενής 1ου βαθμού με Σύνδρομο Σπιλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων
Ελάσσονα Κριτήρια	
1.	Ανωμαλίες στα πλευρά
2.	Άλλες ειδικές σκελετικές δυσμορφίες και ακτινογραφικές αλλαγές (π.χ σπονδυλικές ανωμαλίες, κυφοσκολίωση, βραχύ τέταρτο μετακάρπιο, μεταξονική πολυδακτυλία)
3.	Μακροκεφαλία
4.	Χειλεοσχιστία ή υπερωιοσχιστία
5.	Ωοθηκικό ή καρδιακό ίνωμα
6.	Λεμφομεσεντερικές κύστεις
7.	Οφθαλμικές διαμαρτίες (π.χ στραβισμός, υπερτελορισμός, συγγενής καταρράκτης, γλαύκωμα, κολόβωμα)

Οι ασθενείς με ΣΣΒΚ εμφανίζουν ΟΚΚ σε μικρότερη ηλικία σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς το σύνδρομο [88]. Συγκεκριμένα οι ΟΚΚ, μπορεί να εμφανιστούν σε ασθενείς στην 1η αλλά κυρίως στην 2η – 3η δεκαετία ζωής ενώ η εντόπιση και τα ακτινογραφικά χαρακτηριστικά δε διαφέρουν από τις μη συνδρομικές ΟΚΚ [88]. Έχει αναφερθεί παρόλα αυτά, ότι οι ΟΚΚ που σχετίζονται με το σύνδρομο εμφανίζονται ως μικρότερου μεγέθους ακτινοδιαυγαστικές βλάβες [89], όπως επίσης ότι είναι με μεγαλύτερη συχνότητα μονόχωρες [90] σε σύγκριση με τις μη συνδρομικές ΟΚΚ. Οι συνδρομικές ΟΚΚ συνιστούν το 7% του συνόλου των ΟΚΚ [22]. Στον Ελληνικό πληθυσμό [33], στη μόνη μέχρι στιγμής καταγραφή δεδομένων για ΟΚΚ σε ασθενείς με ΣΣΒΚ από παθολογανατομικό υλικό, αυτές εντοπίζονταν και στις δύο γνάθους με προτίμηση στις οπίσθιες περιοχές της κάτω γνάθου, ενώ οι ασθενείς είχαν μέσο όρο ηλικίας τα 11,9 έτη. Έχει βρεθεί ότι υπάρχει αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ της ηλικίας πρώτης διάγνωσης ΟΚΚ σε ασθενή με ΣΣΒΚ και στον αριθμό των ΟΚΚ [88]. Ο αριθμός των ΟΚΚ σε ασθενείς με ΣΣΒΚ κυμαίνεται από μια έως 30 με μέσο όρο τις πέντε ΟΚΚ ανά ασθενή [91]. Ο αριθμός των ΟΚΚ ανά ασθενή, όπως και τα υπόλοιπα κλινικά σημεία του συνδρόμου, φαίνεται να σχετίζονται με την εθνικότητα [90]. Υπάρχουν όμως περιπτώσεις που μπορεί ασθενείς να έχουν πολλαπλές ΟΚΚ αλλά να μη στοιχειοθετείται διάγνωση του συνδρόμου, όπως και το αντίστροφο, ασθενείς να έχουν μόνο μια ΟΚΚ, παρόλα αυτά να πληρούνται τα κριτήρια διάγνωσής του [55]. Ακόμη μπορεί κάποιοι ασθενείς να εμφανίσουν μια ΟΚΚ και ταυτόχρονα να μη πληρούνται τη δεδομένη στιγμή τα κριτήρια διάγνωσης του συνδρόμου, θέτοντας αναγκαία την μακροχρόνια παρακολούθηση [90]. Θα πρέπει να τίθεται υποψία λανθάνοντος ΣΣΒΚ όταν γίνεται διάγνωση ΟΚΚ σε ασθενή μικρότερο των 20 ετών [78], ή σε περιπτώσεις με πολλαπλές ΟΚΚ [92], ενώ αξίζει να τονιστεί ότι η ΟΚΚ μπορεί να είναι η πρώτη κλινική εκδήλωση του συνδρόμου [88,92]. Άξιο αναφοράς είναι επίσης ότι η ΟΚΚ μπορεί να αποτελεί τη μόνη εκδήλωση του συνδρόμου, όπως συνέβη στα μέλη μιας οικογένειας από την Κίνα που έφεραν γενετική μετάλλαξη στο γονίδιο PTCH1 και ΟΚΚ [93]. Τέλος, έχουν αναφερθεί μεμονωμένες περιπτώσεις όπου πολλαπλές ΟΚΚ, δεν αποτελούν εκδήλωση του ΣΣΒΚ, αλλά άλλων συνδρόμων, όπως το στοματο –

προσωπικο – δακτυλικο σύνδρομο [94] και το σύνδρομο Simpson-Golabi-Behmel [95].

VIII. Θεραπεία

Η θεραπεία της ΟΚΚ είναι η χειρουργική εξαίρεση [96], αν και έχουν αναφερθεί ελπιδοφόρα αποτελέσματα με τη χρήση βισμοδεγίμπης εκ του στόματος [97], ενός αναστολέα του σηματοδοτικού μονοπατιού Sonic Hedgehog (SHH), ο οποίος σε αντίστοιχη μελέτη οδήγησε μείωση μεγέθους ή και πλήρη αποδρομή ΟΚΚ σε ασθενείς με ΣΣΒΚ. Τα αποτελέσματα αυτά βασίζονται σε μια μόνο ερευνητική εργασία [97], συνεπώς είναι επιβεβλημένο να επιβεβαιωθούν τα ευρήματα και από άλλες μελέτες ή/και να εφαρμοστούν άλλοι φαρμακευτικοί παράγοντες που να στοχεύουν στο μοριακό/γενετικό υπόβαθρο της ΟΚΚ.

Έχουν περιγραφεί και χρησιμοποιηθεί αρκετές διαφορετικές χειρουργικές τεχνικές για την αντιμετώπιση της ΟΚΚ: εκπυρήνιση με ή χωρίς συνοδό περιφερική απόξεση οστού, εκπυρήνιση σε συνδυασμό με ένα εκ των: περιφερική οστεοτομία, χρήση διαλύματος Carnoy (κλασσικού ή τροποποιημένου), κρυοθεραπεία ή ηλεκτροκαυτηριασμός, μαρσιποποίηση ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με μια εκ των προαναφερθέντων μεθόδων σε δευτερεύοντα χρόνο και τέλος ευρεία χειρουργική εκτομή [98,99].

Το κλασσικό διάλυμα Carnoy, αποτελείται από 3ml χλωροφόρμιο, 6ml απόλυτης αλκοόλης (95%), 1ml «παγόμορφο» (glacial – χημικά καθαρό) οξικό οξύ και 1g χλωριούχου σιδήρου, ενώ στο τροποποιημένο διάλυμα, το οποίο χρησιμοποιείται πλέον, δεν υπάρχει το χλωροφόρμιο λόγω του καρκινογόνου δυναμικού του [99]. Μετά την εκπυρήνιση της κύστης, τοποθετείται το διάλυμα Carnoy στα τοιχώματα της οστικής κοιλότητας, παραμένει εκεί για πέντε λεπτά αφού έχει δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στην προφύλαξη των γειτονικών νευρικών στελεχών (είναι νευροτοξικό αν έρθει σε επαφή μαζί τους για πάνω από δύο λεπτά) και στη συνέχεια απομακρύνεται. Μετά την απομάκρυνσή του, το οστό έχει αποκτήσει καφέ χρώμα και με κατάλληλη οστική εγγλυφίδα τροχίζεται μέχρι το σημείο που θα αποκτήσει φυσιολογικό χρώμα. Θεωρείται ότι με αυτόν τον τρόπο έχουν αφαιρεθεί 1-2χιλ οστούν [99].

Η κρυοθεραπεία επιτυγχάνεται με τη χρήση υγρού αζώτου [99], το οποίο μετά την εκπυρήνιση και αφού έχουν προστατευθεί καταλλήλως τα γειτονικά μαλακά μόρια, νευρικά στελέχη και δόντια, εφαρμόζεται στην κυστική κοιλότητα μέχρι το σημείο που δημιουργείται πάγος. Ο πάγος πρέπει να μείνει στα τοιχώματα της κοιλότητας για τουλάχιστον ένα λεπτό, στη συνέχεια αφήνεται να τήξει και πραγματοποιείται η ίδια διαδικασία για μια ή δύο φορές ακόμα [99]. Με αυτόν τον τρόπο, το υγρό άζωτο μπορεί να εισχωρήσει σε βάθος 1,5χιλ εντός του οστού και να προκαλέσει κυτταρικό θάνατο [99].

Ένας άλλος τρόπος επεξεργασίας των τοιχωμάτων που προκύπτουν μετά την εκπυρήνιση της κύστης είναι η χρήση 1% κυανού του μεθυλενίου [100], το οποίο μετά την εφαρμογή του στα τοιχώματα της κύστης απομακρύνεται με έκπλυση και με κατάλληλη οστική εγγλυφίδα τροχίζεται το οστούν μέχρι το σημείο που έχει απομακρυνθεί όλη η χρωστική [99,100]. Με αυτόν τον τρόπο, αφαιρούνται 2χιλ σπογγώδους οστούν και 1χιλ συμπαγούς οστούν [99]. Τα πρώτα αποτελέσματα αυτής της μεθόδου φαίνονται ενθαρρυντικά [101], αν και βασίζονται σε μικρό δείγμα ασθενών χωρίς επαρκή χρόνο παρακολούθησης.

Τέλος, μια νέα μέθοδος επεξεργασίας των οστικών τοιχωμάτων, είναι η εφαρμογή κρέμας 5-φθοριοουρακίλης, ενός αναστολέα της πυριμιδίνης που προκαλεί απόπτωση μέσω αναστολής του SHH, το οποίο σχετίστηκε με μικρότερη πιθανότητα μετεπεμβατικής παραισθησίας και υποτροπής [102].

Όλα τα προαναφερθέντα μέτρα χρησιμοποιούνται προκειμένου να αφαιρεθούν, στο μέτρο του δυνατού, όσο το δυνατόν περισσότερα υπολείμματα της αφαιρεθείσας ΟΚΚ ή/και θυγατρικές κύστεις αυτής προκειμένου να μειωθούν τα ποσοστά υποτροπής [99].

Σαφής απάντηση δε μπορεί να δοθεί στο ερώτημα «ποια είναι όμως η ενδεδειγμένη χειρουργική μέθοδος;» γιατί με βάση πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας φάνηκε ότι δεν έχουν πραγματοποιηθεί τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες σχετικά με την ενδεδειγμένη χειρουργική μέθοδο εξαίρεσης της ΟΚΚ [96]. Για αυτό, σκοπός είναι να εφαρμόζεται η χειρουργική μέθοδος εκείνη που συνδυάζει τις λιγότερες δυνατές μετεγχειρητικές επιπλοκές με τη μικρότερη δυνατή πιθανότητα υποτροπής [98].

Με βάση τη συστηματική ανασκόπηση του MacDonald-Jankowski [22], η ΟΚΚ υποτροπιάζει στο 28% των περιπτώσεων ανεξαρτήτως χειρουργικής τεχνικής. Σε πιο πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας [98], ωστόσο, το ποσοστό υποτροπής ανεξαρτήτως τεχνικής υπολογίστηκε ότι είναι 16,6%. Το ποσοστό υποτροπής μεταβάλλεται ανάλογα με την εφαρμοζόμενη χειρουργική τεχνική [98] και υπολογίστηκε σε 23,1% για την εκπυρήνιση, 17,4% για την εκπυρήνιση με συνοδό οστική απόξεση, 11,5% για την εκπυρήνιση με συνοδό χρήση διαλύματος Carnoy, 14,5% για την εκπυρήνιση με συνοδό χρήση υγρού αζώτου ως κρυοθεραπεία, 32,3% για τη μαρσιποποίηση, 14,6% για μαρσιποποίηση με εκπυρήνιση σε δεύτερο χρόνο και 8,4% για την χειρουργική εκτομή. Το ίδιο χρονικό διάστημα με την προαναφερθείσα συστηματική ανασκόπηση [98] δημοσιεύτηκαν δύο ακόμα με ίδιο ερευνητικό σκοπό στη διεθνή βιβλιογραφία [103,104]. Τα ποσοστά υποτροπής διέφεραν μεταξύ των τριών μελετών, όμως λόγω της μεθοδολογίας που ακολουθήθηκε, τα μόνα αξιόπιστα θεωρούνται αυτά των Al-Moraissi και συν [98]. Αξίζει να επισημανθεί, ότι στην προαναφερθείσα συστηματική ανασκόπηση είχαν συμπεριληφθεί οι μελέτες εκείνες με ελάχιστο χρόνο παρακολούθησης τον ένα χρόνο. Η πλειοψηφία των υποτροπών παρατηρούνται τα πέντε πρώτα χρόνια από την εξαίρεση της κύστης [105], με τον κίνδυνο υποτροπής να αυξάνεται τα πρώτα επτά χρόνια και μετά να μένει σταθερός [106], ενώ έχουν αναφερθεί περιπτώσεις όπου υποτροπή παρατηρήθηκε 10, 16, 18, 20, 22, 23, 25, 27 ή και 41 χρόνια μετά την εξαίρεση της ΟΚΚ [103,105,106]. Συνεπώς, αν τεθεί ο περιορισμός της ελάχιστης παρακολούθησης των 5 ετών, τότε η μόνη αξιόπιστη μελέτη είναι των Kaczmarzyk και συν [105], οι οποίοι πραγματοποίησαν συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και βρήκαν ότι το ποσοστό υποτροπής της ΟΚΚ ανεξαρτήτως χειρουργικής τεχνικής είναι 23,15%, ενώ το ποσοστό υποτροπής ανά χειρουργική τεχνική είναι 0% για την χειρουργική εκτομή, 0% για την εκπυρήνιση με συνοδό χρήση τροποποιημένου διαλύματος Carnoy και περιφερική οστεοτομία, 18,18% για την εκπυρήνιση με συνοδό περιφερική οστεοτομία, 26,09% για την εκπυρήνιση, 40% για τη μαρσιποποίηση και 50% για την εκπυρήνιση με συνοδό χρήση τροποποιημένου διαλύματος Carnoy. Οι ίδιοι συγγραφείς τονίζουν ότι τα αποτελέσματα της συστηματικής τους ανασκόπησης θα πρέπει να εξεταστούν υπό το πρίσμα ότι συμπεριλήφθηκαν μελέτες με ελάχιστο μέσο χρόνο μετεγχειρητικής παρακολούθησης τα πέντε χρόνια, οι οποίες δεν ήταν πλήρως τεκμηριωμένες και δεν συμπεριελάμβαναν συγκρίσιμο αριθμό ασθενών ανά χειρουργική τεχνική [105]. Από τη συστηματική ανασκόπηση των Kaczmarzyk και συν [105] έχει δημοσιευτεί μόνον μία επιπλέον εργασία [107] για τα ποσοστά υποτροπής με ελάχιστο μέσο χρόνο παρακολούθησης τα πέντε έτη, στην οποία βρέθηκε ότι το ποσοστό υποτροπής της ΟΚΚ, μετά την εκπυρήνιση και τη χρήση διαλύματος Carnoy, χωρίς περιφερική οστεοτομία, είναι 11,4%. Το χαμηλό σχετικά ποσοστό υποτροπής, συνοδευόταν με μόνιμη παραισθησία του κάτω φατνιακού νεύρου στο 16% των περιπτώσεων [107]. Τέλος αξίζει να τονιστεί ότι σε πρόσφατη ερευνητική εργασία βρέθηκε ότι το ποσοστό υποτροπής είναι μεγαλύτερο όταν χρησιμοποιείται το τροποποιημένο διάλυμα Carnoy αντί του «κλασσικού» διαλύματος [108,109]. Είναι επιβεβλημένη πάντως η διενέργεια περισσότερων μελετών, ειδικά τυχαιοποιημένων κλινικά μελετών, για να βρεθεί η ενδεδειγμένη για κάθε περίπτωση μέθοδος αντιμετώπισης της ΟΚΚ.

Στη βιβλιογραφία επικρατεί σύγχηση σχετικά με τους παράγοντες που σχετίζονται με την υποτροπή της ΟΚΚ. Έχει βρεθεί ότι το φύλο του ασθενούς και η εντόπιση της βλάβης δε σχετίζονται με την υποτροπή [54,110,111]. Αντίθετα, ενώ κάποιοι υποστηρίζουν ότι το μέγεθος της βλάβης και η ακτινογραφική εικόνα της δε σχετίζονται με την υποτροπή [54,110], νεότερα δεδομένα καταδεικνύουν το αντίθετο, με τις μεγαλύτερες και πολύχωρες βλάβες να έχουν αυξημένη πιθανότητα υποτροπής [111]. Οι ασθενείς στους οποίους η ΟΚΚ διαγιγνώσκεται μετά την 5^{η} δεκαετία έχει βρεθεί ότι έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπής [54,110], στοιχείο που δεν επιβεβαιώθηκε σε πρόσφατη ερευνητική εργασία [111]. Η παρουσία επιθηλιακών εκβλαστήσεων ή/και θυγατρικών κύστεων υποστηρίζεται ότι σχετίζεται με την υποτροπή [58,112], ένα εύρημα που δεν έχει επιβεβαιωθεί από άλλες μελέτες [57,111]. Η εμπλοκή δοντιών εντός της ΟΚΚ έχει επίσης συσχετιστεί με αυξημένη πιθανότητα υποτροπής [58,113], ενώ δεν υπάρχουν ανοσοϊστοχημικοί δείκτες που να μπορούν να προβλέψουν ποιες βλάβες θα υποτροπιάσουν [111,114]. Τέλος, βλάβες που αναπτύσσονται σε ασθενείς με ΣΣΒΚ, έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπής

[110,115], αν και λόγω της ευπάθειας των ασθενών με το σύνδρομο να αναπτύσσουν ΟΚΚ δεν είναι σίγουρο αν πρόκειται σε όλες τις περιπτώσεις για υποτροπές ή για εμφάνιση νέων βλαβών [105,115]. Το ίδιο μπορεί να ισχύει και για τις μη συνδρομικές κύστεις, να μην οφείλεται δηλαδή η υποτροπή τους σε ελλειπή αφαίρεσή τους ή ανάπτυξη από θυγατρικές κύστεις ή νησίδια οδοντογενούς επιθηλίου, αλλά να πρόκειται για de novo ανάπτυξη η οποία εσφαλμένα εκλαμβάνεται ως υποτροπή [34,105,116]. Το πιθανότερο αίτιο υποτροπής, με βάση σύγχρονα δεδομένα, φαίνεται να είναι η ατελής αρχική αφαίρεση της ΟΚΚ [98,105,117].

Προτείνεται [98,105,118] σε μικρού μεγέθους ΟΚΚ, να γίνεται εκπυρήνισή τους με συνοδό χρήση διαλύματος Carnoy και περιφερική οστεοτομία, ενώ σε μεγαλύτερης έκτασης βλάβης να πραγματοποιείται αρχικά μαρσιποποίηση και σε δεύτερο χρόνο το προαναφερθέν πρωτόκολλο. Αυτό μπορεί να γίνει ακόμα και τρεις μήνες από την έναρξη της μαρσιποποίησης [119]. Η χειρουργική εκτομή συστήνεται να πραγματοποιείται μόνο σε περιπτώσεις πολλαπλών υποτροπών [98,105,118]. Για τις ΟΚΚ σχετιζόμενες με το σύνδρομο δεν υπάρχουν οδηγίες και προτείνεται να ακολουθείται το ίδιο πρωτόκολλο με τις μη συνδρομικές ΟΚΚ [115,118]. Στις περιπτώσεις που εμπλέκονται δόντια συστήνεται αυτά να εξάγονται [58,119], ενώ προτείνεται να εξαιρείται ο υπερκείμενος καλυπτικός βλεννογόνος προκειμένου να απομακρυνθούν τα όποια νησίδια οδοντογενούς επιθηλίου πιθανώς υπάρχουν εκεί και δυνητικά μπορεί να οδηγήσουν στη δημιουργία νέας ΟΚΚ [116].

Σύμφωνα με τον Pogrel [99], οι ασθενείς θα πρέπει να παρακολουθούνται με τη χρήση πανοραμικής ακτινογραφίας κάθε έξι μήνες για τα πρώτα δύο χρόνια από την αφαίρεση της ΟΚΚ, κάθε χρόνο για τα επόμενα πέντε χρόνια και μετά κάθε δύο χρόνια για τα επόμενα δέκα χρόνια. Οι Finkelstein και συν [120] τονίζουν ότι το ελάχιστο χρονικό διάστημα παρακολούθησης πρέπει να είναι τα δέκα έτη, χωρίς να προτείνουν τον τρόπο που πρέπει να γίνεται η παρακολούθηση (είδος ακτινογραφίας, χρονικά διαστήματα επανάκλησης). Οι Cunha και συν [58], προτείνουν να γίνεται επανεξέταση, χωρίς να διευκρινίζεται με ποια μέθοδο, ανά εξάμηνο για τον πρώτο μετεγχειρητικό χρόνο, μετά ετήσια επανεξέταση μέχρι τη συμπλήρωση δέκα χρόνων από την εξαίρεση της ΟΚΚ, ενώ δύο έτη από την εξαίρεση να πραγματοποιείται CT.

IX. Αιτιοπαθογένεια

Προέλευση

Η επικρατέστερη θεωρία για την προέλευση της ΟΚΚ είναι ότι προέρχεται είτε από την οδοντική ταινία ή υπολείμματά της, ή από εκβλαστήσεις των βασικών κυττάρων από το υπερκείμενο στοματικό επιθήλιο [121]. Παλαιότερες μελέτες υποστήριζαν ότι η ΟΚΚ είναι ταυτόσημη με την αρχέγονη κύστη και ότι η προέλευση και των δυο είναι από το αρχέγονο επιθήλιο (εκφυλισμός του αστεροειδούς δικτύου του οργάνου της αδαμαντίνης, πριν από το σχηματισμό ενασβεστιούμενων δομών) [7], το οποίο μπορεί να προέρχεται είτε από φυσιολογικό είτε από υπεράριθμο δόντι [10]. Παρόλο που δεν υπάρχουν ισχυρά τεκμήρια για να απορρίψουν αυτή τη θεωρία, το πιθανότερο είναι να μην ευσταθεί, τουλάχιστον για τη συντριπτική πλειοψηφία των ΟΚΚ, αφού τα υπεράριθμα δοντιών είναι πιο συχνά από την ΟΚΚ και αναπτύσσονται σε διαφορετική θέση από αυτή [121]. Επιπλέον, μόνο 1,5% των ΟΚΚ αναπτύσσεται σε θέση που αντιστοιχεί σε ελλείπον φυσιολογικό δόντι [121].

Η οδοντική ταινία είναι μια ταινιοειδής πάχυνση του στοματικού επιθηλίου, η οποία αποτελείται από επιθηλιακά κύτταρα διαφοροποιημένα και εξειδικευμένα να σχηματίσουν άμεσα ή έμμεσα του επιθηλιακούς οδοντικούς ιστούς [122]. Η οδοντική ταινία ενεργοποιείται από το υποκείμενο μεσέγχυμα [123] σχηματίζοντας σφαιροειδείς σχηματισμούς που διηθούν το υποκείμενο μεσέγχυμα, τα οδοντοβλαστήματα (dental placodes), τα οποία παριστάνουν τις καταβολές των δέκα νεογιλών δοντιών [122, 123]. Οι μόνιμοι τομείς, κυνόδοντες και προγόμφιοι σχηματίζονται από επέκταση της γλωσσικής ταινίας γλωσσικά και πίσω στην κάτω γνάθο ή υπερώια και πίσω στην άνω γνάθο από τους νεογιλούς τομείς, κυνόδοντες και γομφίους αντίστοιχα [122]. Οι μόνιμοι γομφίοι προέρχονται από οπίσθια επέκταση της οδοντικής ταινίας, άπω του τόξου των νεογιλών δοντιών, η οποία δεν έχει επαφή με το υπερκείμενο επιθήλιο [122]. Κατά το στάδιο του κώδωνα, το οδοντικό σπέρμα συνδέεται με τη μητρική οδοντική ταινία με την εξαρτητική οδοντική ταινία, η οποία στο τέλος του σταδίου αυτού αποδιοργανώνεται και διασπάται, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται επιθηλιακά νησίδια μέσα στο μεσέγχυμα [122]. Τα επιθηλιακά αυτά νησίδια συνήθως εκφυλίζονται και απορροφούνται, αλλά είναι πιθανόν κάποια εξ αυτών να παραμείνουν είτε στο συνδετικό ιστό των ούλων (επιθηλιακά υπολείμματα του Serres), είτε εντός του οστού [121,122,124]. Τα ενδοοστικά αυτά υπολείμματα, που θεωρείται ότι είναι ανενεργά [125] εντοπίζονται ιδιαίτερα στην περιοχή των γομφίων [122], καθώς και στο συνδετικό ιστό των οδοντοθυλακίων εγκλείστων δοντιών [125,126]. Σε μελέτη σειριακών ιστολογικών τομών 52 δειγμάτων βλεννογόνου από το οπισθογόμφιο τρίγωνο που ελήφθησαν κατά τη διάρκεια εξαγωγής έγκλειστων τρίτων γομφίων, βρέθηκε ότι στα 39 εξ’ αυτών υπήρχαν εντός του συνδετικού ιστού νησίδια όμοια με οδοντογενές επιθήλιο [127]. Οι συγγραφείς όμως της μελέτης αυτής δεν κατέληξαν αν τα επιθηλιακά νησίδια αυτά προέρχονται από την οδοντική ταινία ή από προεκτάσεις των βασικών κυττάρων του υπερκείμενου στοματικού επιθηλίου [127]. Η θεωρία της προέλευσης της ΟΚΚ από προεκτάσεις των βασικών κυττάρων του υπερκείμενου στοματικού επιθηλίου, έχει υποστηριχθεί σχεδόν αποκλειστικά από την ερευνητική ομάδα των Stoelinga και συν [128-130]. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, ειδικά για τις ΟΚΚ που εμφανίζονται στον κλάδο της κάτω γνάθου, περιοχή που δεν έχει σχέση με οδοντοθυλάκια ή υπολείμματα οδοντικής ταινίας, οι ΟΚΚ προέρχονται από νησίδια επιθηλιακών κυττάρων, αναφερόμενα και ως επιθηλιακές διαμαρτίες, τα οποία προέρχονται από εκβλάστηση κυττάρων της βασικής στιβάδας του υπερκείμενου επιθηλίου [128-130]. Η θεωρία αυτή βασίστηκε στο γεγονός ότι παρατηρήθηκαν επιθηλιακά νησίδια κάτω από το επιθήλιο του βλεννογόνου περιφερικά αφαιρεθέντων ΟΚΚ, τα οποία κατά θέσεις έμοιαζαν να εξορμώνται από αυτό [128-130]. Θα πρέπει να τονιστεί, όμως, ότι σε πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση τέτοια νησίδια καθώς και μικροκύστεις βρέθηκαν μόνο στο 38,3% των περιπτώσεων που εξαιρέθηκε ο υπερκείμενος βλεννογόνος, ενώ στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, αυτό παρατηρούταν σε ΟΚΚ που είχαν διατρήσει το οστούν και βρίσκονταν σε επαφή με τον υπερκείμενο βλεννογόνο [116]. Γνωρίζοντας ότι η ΟΚΚ, μπορεί να δώσει επιθηλιακές εκβλαστήσεις ή θυγατρικές κύστεις [55-57], εύλογα θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι τα τελευταία «κατευθύνονται» στο επιθήλιο και δεν προέρχονται από αυτό. Ακόμα, η ΟΚΚ φαίνεται ότι έχει ίδιο πρότυπο έκφραση κυτταροκερατινών με την οδοντική ταινία [131,132] και παρόμοιο με τα επιθηλιακά υπολείμματα του Malassez [132]. Τα τελευταία, σε μελέτη σε ποντίκια, έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να δώσουν γέννηση σε κερατινοποιημένες κύστεις, οι οποίες όμως είναι ορθοκερατινοποιημένες οδοντογενείς κύστεις [133]. Οι τελευταίες έχουν ίδιο πρότυπο έκφρασης κυτταροκερατινών με το στοματικό επιθήλιο [134,135] και διαφορετικό από τις ΟΚΚ [132,134], οι οποίες εκτός από την οδοντική ταινία, έχουν ίδια έκφραση κυτταροκερατινών με την διόγκωση του θυλακίου της τρίχας (hair follicle bulge) [131]. Πρόκειται για μια πεπαχυσμένη περιοχή του τριχοθυλακίου που περιέχει τα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα της τρίχας και προέρχεται από το πλακόδιο (placode) [136,137], το οποίο αποτελεί επιθηλιακή πάχυνση αντίστοιχη της οδοντικής ταινίας, αφού τρίχες, δόντια και μαστικοί αδένες έχουν ίδιο αναπτυξιακό πρότυπο [138]. Ακόμα, σε ιστολογικές φωτογραφίες παλαιότερων [122,139] ή σύγχρονων μελετών [140,141] φαίνεται ότι τα κύτταρα της βασικής στιβάδας της οδοντικής ταινίας έχουν πασσαλοειδή διάταξη και βαθυχρωματικούς πυρήνες, ενώ κατά θέσεις το επιθήλιο της καλύπτεται από παρακερατίνη, κάτι που έχει επιβεβαιωθεί με την ιστολογική μελέτη σε πιθήκους του γένους «Macaca» [142]. Επιπροσθέτως, η δημιουργία των οδοντοβλαστημάτων [122] προσομοιάζει στις εκβλαστήσεις της ΟΚΚ. Υπολείμματα, επίσης, της οδοντικής ταινίας, μπορεί να βρεθούν άπω του τρίτου γομφίου, στη θέση που θεωρητικά θα βρισκόταν ο τέταρτος γομφίος, αιτιολογώντας, ως ένα βαθμό, την εμφάνιση ΟΚΚ σε περιοχές όπως ο κλάδος της κάτω γνάθου [141]. Έχουν αναφερθεί ποικίλα ποσοστά συχνότητας ύπαρξης τετάρτου γομφίου τα οποία διαφέρουν ανά εθνικότητα [143], με το μεγαλύτερο να είναι το 2,2% στην Ιαπωνία [144]. Στον Ελληνικό πληθυσμό τέταρτοι γομφίοι έχουν παρατηρηθεί στο 0,29% των ανδρών και στο 0,23% των γυναικών [143]. Σε όλες τις περιπτώσεις, τέταρτοι γομφίοι παρατηρούνται με μεγαλύτερη συχνότητα στην άνω σε σχέση με την κάτω γνάθο [143,144]. Οι τρίτοι και οι τέταρτοι γομφίοι χρειάζονται αρκετό καιρό να διαμορφωθούν, οπότε η οδοντική τους ταινία υπόκειται σε ποικίλα ερεθίσματα για μεγάλο χρονικό διάστημα τα οποία είναι πιθανόν να προκαλέσουν τη δημιουργία κύστεων [141]. Σε πρόσφατη εργασία των Heikinheimo και συν [145] βρέθηκε ότι το «γονιδιακό προφίλ» της ΟΚΚ, όπως μελετήθηκε με την τεχνική των μικροσυστοιχιών RNA σε 12 μη συνδρομικές ΟΚΚ, ήταν παρόμοιο με το αρχέγονο στοματικό επιθήλιο και την οδοντική ταινία και διαφορετικό από αυτό του οργάνου της αδαμαντίνης.

Συνοψίζοντας όλες τις προαναφερθείσες πληροφορίες, φαίνεται ότι η οδοντική ταινία είναι η πιθανότερη επιθηλιακή πηγή προέλευσης της ΟΚΚ. Εντούτοις φαίνεται ότι και ο υποκείμενος του επενδυτικού επιθηλίου της ΟΚΚ συνδετικός ιστός συμμετέχει στην παθογένεσή της, καθώς όταν ανθρώπινες ΟΚΚ μεταμοσχεύτηκαν σε αθυμικά ποντίκια, διατήρησαν τα ιστολογικά τους χαρακτηριστικά μόνο όταν υποστηρίζονταν από το δικό τους συνδετικό ιστό [146]. Αντίθετα, όταν ο υποκείμενος του επιθηλίου της ΟΚΚ συνδετικός ιστός ήταν αυτός των ποντικιών, τότε διατηρούταν η παρακερατίνη στιβάδα, αλλά το πάχος του επιθηλίου γινόταν λεπτότερο και τα κύτταρα της βασικής στιβάδας έχαναν τα τυπικά ιστολογικά χαρακτηριστικά της ΟΚΚ, ήτοι ήταν επιμηκυσμένα χωρίς βαθυχρωματικούς πυρήνες και πασσαλοειδή διάταξη [146].

Ενώ η οδοντική ταινία και τα υπολείμματά της φαίνεται ότι είναι αυτά που δίνουν γένεση στην ΟΚΚ, εντούτοις, είναι άγνωστο ποιο είναι το αίτιο που τα ενεργοποιεί και γιατί αυτές δεν εμφανίζονται σε όλους τους ασθενείς. Για το πρώτο ερώτημα, δεν έχει δοθεί απάντηση και θεωρείται ότι κάποιο από τα ποικίλα ερεθίσματα εντός της στοματικής κοιλότητας (μηχανικά ή/και χημικά) ιδιαίτερα στις οπίσθιες περιοχές της κάτω γνάθου, όπως στο οπισθογόμφιο προσκεφάλαιο, πιθανώς ενεργοποιεί τα υπολείμματα με άγνωστο μέχρι στιγμής μηχανισμό [123]. Για το δεύτερο ερώτημα, φαίνεται ότι οι λόγοι είναι γονιδιακοί [147].

Σηματοδοτικό μονοπάτι SHH και ΟΚΚ

Το 1996 αναφέρθηκε για πρώτη φορά ότι αιτία του ΣΣΒΚ αποτελλούν μεταλλάξεις στο γονίδιο PTCH1 [148,149]. Ακολούθως, δημοσιεύτηκαν οι πρώτες αναφορές για απώλεια ετεροζυγωτίας (LOH) [150,151] και παρουσίας σωματικών μεταλλάξεων (μη κληρονομούμενες μεταλλάξεις) [152] στο γονίδιο PTCH1, σε ΟΚΚ τόσο σε ασθενείς με ΣΣΒΚ, όσο και σε ασθενείς χωρίς το σύνδρομο. Σε εργασίες των Gu και συν [153], Sun και συν [154], Kadlub και συν [155], και Guo και συν [156], βρέθηκε ότι οι μεταλλάξεις στις μη συνδρομικές ΟΚΚ είναι πάντα σωματικές, ενώ στις σχετιζόμενες με το σύνδρομο μπορεί να είναι και γενετικές. Σε αντίστοιχο συμπέρασμα σχετικά με τις μη συνδρομικές ΟΚΚ κατέληξαν πρόσφατα οι Qu και συν [157], οι οποίοι βρήκαν σωματικές μεταλλάξεις στο 84% των κύστεων που μελέτησαν. Οι Diniz και συν [158] βρήκαν ότι από όλες τις διαφορετικές ισόμορφες πρωτεΐνες που μπορούν να παραχθούν από το γονίδιο της PTCH1, η PTCH1b είναι αυτή που συμμετέχει στην παθογένεση τόσο των συνδρομικών όσο και των μη συνδρομικών ΟΚΚ. Οι ίδιοι συγγραφείς, έδειξαν ότι υπάρχει υπερέκφραση του σηματοδοτικού μονοπατιού SHH στο βλεννογόνο άνωθεν μιας ΟΚΚ, εύρημα που δε παρατηρήθηκε σε φυσιολογικό βλεννογόνο [158]. Οι Shimada και συν [159], κατέληξαν και αυτοί στο συμπέρασμα ότι γενετικές μεταλλάξεις παρατηρούνται μόνο στις ΟΚΚ σε έδαφος ΣΣΒΚ, ενώ με βάση τον τύπο της μετάλλαξης χώρισαν τις ΟΚΚ σε τρεις τύπους:

- **Τύπος 1: ΟΚΚ με γενετική μετάλλαξη στο γονίδιο PTCH1.** Ιστολογικά παρατηρούνται στο 75% των περιπτώσεων επιθηλιακές εκβλαστήσεις, στο 56% επιθηλιακά νησίδια, στο 31% θυγατρικές κύστεις, ενώ στο 33% παρατηρείται υποτροπή
- **Τύπος 2: ΟΚΚ με LOH συχνότερα στο γονίδιο PTCH1 και σπανιότερα στα γονίδια SUFU και PATCH2.** Στο 38% των ΟΚΚ αυτών παρατηρούνται ιστολογικά επιθηλιακές εκβλαστήσεις, στο 13% επιθηλιακά νησίδια, στο 25% θυγατρικές κύστεις και στο 14% παρατηρείται υποτροπή.
- **Τύπος 3: ΟΚΚ χωρίς γενετική μετάλλαξη ή LOH**. Χωρίζεται σε δύο υπότυπους ανάλογα με την ανοσοϊστοχημική έκφραση του μεταγραφικού

παράγοντα Gli2. Όταν αυτή είναι πυρηνική τότε επιθηλιακές εκβλαστήσεις παρατηρούνται ιστολογικά στο 17% των περιπτώσεων, θυγατρικές κύστεις στο 17% και υποτροπή στο 20% των περιπτώσεων. Όταν η ανοσοϊστοχημική έκφραση του Gli2 είναι κυτταροπλασματική, τότε δεν παρατηρείται κανένα από τα προαναφερθέντα ιστολογικά ευρήματα και οι ΟΚΚ δεν υποτροπιάζουν.

Η ταξινόμηση αυτή δεν έχει βρει ακόμη εφαρμογή στην κλινική πράξη.

Σε αντίστοιχα συμπεράσματα είχαν καταλήξει και οι Kadlub και συν [155], οι οποίοι παρατήρησαν μεγαλύτερη συχνότητα ιστολογικών χαρακτηριστικών που σχετίζονται με μεγαλύτερη «επιθετικότητα» (επιθηλιακές εκβλαστήσεις, θυγατρικές κύστεις και επιθηλιακά νησίδια) επί παρουσία γενετικών μεταλλάξεων στο γονίδιο PTCH1, χωρίς να προβούν όμως σε διαχωρισμό τύπων ΟΚΚ όπως οι Shimada και συν [159]. Οι Guo και συν [156] χώρισαν αντίστοιχα τις συνδρομικές και μη συνδρομικές ΟΚΚ σε δύο ομάδες, ανάλογα με το αν έφεραν μετάλλαξη στο γονίδιο PTCH1. Δεν έκαναν αναφορά σε ιστολογικά χαρακτηριστικά και η μόνη στατιστικά σημαντική διαφορά που βρήκαν ήταν στους ασθενείς με ΣΣΒΚ και μετάλλαξη, στους οποίους οι ΟΚΚ εμφανίζονταν σε μικρότερη ηλικία σε σχέση με τους ασθενείς με το σύνδρομο χωρίς μετάλλαξη στο γονίδιο PTCH1 [156]. Από τα παραπάνω μπορεί να θεωρηθεί ότι ο λόγος που οι ΟΚΚ σε ασθενείς με ΣΣΒΚ θεωρούνται πιο επιθετικές από τις μη συνδρομικές ΟΚΚ, τουλάχιστον ιστολογικά, είναι η πιθανότερη ύπαρξη γενετικής μετάλλαξης στο γονίδιο PTCH1.

Τέλος, σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια στα οποία είχε αφαιρεθεί το ένα από τα δύο γονίδια PTCH1 δημιουργήθηκαν κύστεις τις οποίες οι ερευνητές ονόμασαν ΟΚΚ [160]. Αξίζει να τονιστεί βέβαια ότι για την ιστολογική διάγνωση έλαβαν υπόψη μόνο την παρακερατίνη στιβάδα, χωρίς να γίνεται καμία αναφορά στη βασική στιβάδα των κύστεων αυτών, ενώ και οι φωτογραφίες που παρατίθενται στη δημοσίευση δεν είναι ενδεικτικές για να τεκμηριωθεί η διάγνωση ΟΚΚ [160].

Το γονίδιο PTCH1 κωδικοποιεί την πρωτεΐνη PTCH1, μια γλυκοπρωτεΐνη 1447 αμινοξέων που έχει 12 διαμεμβρανικές περιοχές, δύο μεγάλες εξωκυττάριες θέσεις που προσδένεται η πρωτεΐνη SHH, και μια μικρότερη ενδοκυττάρια [161]. Η PTCH2 είναι μια γλυκοπρωτεΐνη με 56% ομολογία νουκλεϊκών οξέων με την PTCH1 και παράγεται από το γονίδιο PTCH2 στο χρωμόσωμα 1p32.1-32.3 [162]. Δεν έχει ακόμα πλήρως διευκρινιστεί η δράση της PTCH2, αλλά με τα μέχρι στιγμής δεδομένα φαίνεται να δρα δευτερευόντως της PTCH1 στο σηματοδοτικό μονοπάτι SHH [163,164]. Στη συνέχεια, θα αναλυθεί μόνο ο ρόλος της PTCH1 στο σηματοδοτικό μονοπάτι SHH, επειδή είναι η μόνη που συμμετέχει στην οδοντογένεση [165]. Τα τελευταία χρόνια, ο πρωτογενής κροσσός (primary cilia), έχει αναγνωριστεί ως μια σημαντική περιοχή του κυττάρου στα σπονδυλωτά που συντονίζει έναν ικανό αριθμό σηματοδοτικών μονοπατιών, ένα από τα οποία είναι το μονοπάτι της SHH [166,167]. Στη φάση ηρεμίας, η PTCH1 συσσωρεύεται στον πρωτογενή κροσσό και αναστέλλει τη μεταγωγή του σήματος της SHH μέσω έμμεσης καταστολής της πρωτεΐνης Smoothend (SMO) [166,167]. Πέρα από την PTCH1, στον πρωτογενή κροσσό υπάρχει και η διαμεμβρανική πρωτεΐνη Gpr161, τελικός στόχος της οποίας είναι η πρωτεΐνη PKA που φωσφορυλιώνει τον μεταγραφικό παράγοντα Gli3. Έτσι δημιουργείται ο αναστολέας του μεταγραφικού παράγοντα Gli3, ο οποίος εισέρχεται στον πυρήνα και αναστέλλει τη μεταγραφή των γονιδίων στόχων του μονοπατιού SHH [166,167]. Κατά την ενεργοποίηση του μονοπατιού, η SHH πρωτεΐνη προσδένεται στην PTCH1 η οποία απομακρύνεται από τον πρωτογενή κροσσό όπως και η πρωτεΐνη Gpr161, ενώ αντίστοιχα τη θέση τους στον πρωτογενή κροσσό καταλαμβάνει η SMO με τη βοήθεια των πρωτεϊνών EVC (πρωτεϊνες του συνδρόμου Ellis–van Creveld syndrome). Η SMO κατευθύνεται στην κορυφή του πρωτογενή κροσσού όπου συνδέεται με το σύμπλοκο Gli2/SUFU (συνδέεται με τις Gli1/2/3 και αναστέλλει τη δράση τους)/ Kif7 και απελευθερώνει τους μεταγραφικούς παράγοντες Gli1/2 που κατευθύνονται στον πυρήνα και ενεργοποιούν τα γονίδια στόχους του SHH μονοπατιού [166,167]. Πέρα από την οδοντογένεση, το μονοπάτι της SHH, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην ανάπτυξη διαφόρων οργάνων, όσο και στη γένεση διαφόρων τύπων καρκίνου [165,166].

Η ΟΚΚ, λόγω μετάλλαξης του γονιδίου PTCH1, έχει θεωρηθεί ότι μπορεί να προκύψει με τους παρακάτω τρεις μηχανισμούς [168,169]. Ο πρώτος μηχανισμός είναι μέσω **«δύο χτυπημάτων»** και σχετίζεται με τις ΟΚΚ σε έδαφος ΣΣΒΚ: κύτταρα έχουν ήδη «ένα χτύπημα», δηλαδή γενετική μετάλλαξη, και αρκεί μια σωματική μετάλλαξη ή μια LOH ως «δεύτερο χτύπημα» στο έτερο γονίδιο για να απενεργοποιηθεί το γονίδιο PTCH1 [168,169]. Αυτή η θεωρία μπορεί να ευσταθεί και για τις μη συνδρομικές ΟΚΚ, σε περίπτωση που υπάρχουν δύο σωματικές μεταλλάξεις στο γονίδιο PTCH1 ή μια σωματική μετάλλαξη και LOH [168,169]. Η άλλη θεωρία είναι της **απλο-ανεπάρκειας (haploinsufficiency)**: υπάρχει μόνο ένα αλληλόμορφο, το οποίο δεν επαρκεί για να παραγάγει την απαιτούμενη ποσότητα πρωτεΐνης [168]. Η θεωρία αυτή φαίνεται να βρίσκει εφαρμογή περισσότερο στις μη συνδρομικές ΟΚΚ [154]. Η τρίτη θεωρία αναφέρει ότι μετάλλαξη του PTCH1 στο ένα από τα δύο αλληλόμορφα μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή PTCH1 πρωτεΐνης με **«ανάστροφο δράση»**, εμποδίζει δηλαδή τη φυσιολογική πρωτεΐνη PTCH1 είτε άμεσα είτε προσδενόμενη εκείνη στη SMO [169]. Χαρακτηριστική είναι παρόλα αυτά η περίπτωση που δημοσίευσαν οι Sasaki και συν [170] στην οποία σε ασθενή με διαγνωσμένο ΣΣΒΚ διαγνώστηκαν δύο ΟΚΚ, όπου και οι δύο έφεραν γενετική μετάλλαξη, αλλά μόνο η μία έφερε ταυτόχρονα και σωματική μετάλλαξη. Επομένως, στην ΟΚΚ με τις δύο μεταλλάξεις (γενετική και σωματική) μπορεί να θεωρηθεί ότι βρίσκει εφαρμογή η θεωρία των «δύο χτυπημάτων», ενώ στην ΟΚΚ με τη γενετική μετάλλαξη βρίσκει εφαρμογή είτε η θεωρία της απλο-ανεπάρκειας ή της «αναστρόφου δράσεως» παραγόμενης πρωτεΐνης.

Παρόλο που μεταλλάξεις του PTCH1 γονιδίου έχουν βρεθεί τόσο σε συνδρομικές όσο και σε μη συνδρομικές ΟΚΚ, εντούτοις δεν έχουν ανευρεθεί σε όλες, οπότε πιθανώς μεταλλάξεις σε άλλα γονίδια να σχετίζονται με αυτές τις ΟΚΚ [157]. Όσον αφορά στο γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη SMO, ενώ σε κάποιες μελέτες δε βρέθηκε να υπάρχουν σωματικές μεταλλάξεις [154,171], σε άλλες βρέθηκαν και μάλιστα τόσο σε συνδρομικές όσο και σε μη συνδρομικές ΟΚΚ [172,173]. Δεν έχουν αναφερθεί γενετικές μεταλλάξεις στα γονίδια PTCH2 και SUFU [159,171]. Αντίθετα έχει αναφερθεί LOH στα γονίδια PTCH2 και SUFU [159], ενώ υπάρχουν ενδείξεις για συμμετοχή του μεταγραφικού παράγοντα Gli2 στην παθογένεια της ΟΚΚ [159,174]. Αξίζει να αναφερθεί ότι LOH έχει ανευρεθεί και σε ορθοκερατινοποιημένες οδοντογενείς κύστεις [12], ενώ μεταλλάξεις στο γονίδιο PTCH1 έχουν βρεθεί και στον ενασβεστιούμενο επιθηλιακό οδοντογενή όγκο [175].

Αναφέρονται επίσης ποικίλα ποσοστά LOH στα ογκοκατασταλτικά γονίδια p16, p53, MCC, TSLC1, LTAS2 και FHIT σε ΟΚΚ, αν και ο ρόλος τους στην παθογένεση της κύστης είναι το πιθανότερο δευτερεύον [117,147]. Το ίδιο φαίνεται να ισχύει και με τους επιγενετικούς μηχανισμούς [147,176]. Έχει βρεθεί ότι στο 53,16% των ΟΚΚ υπάρχει μεθυλίωση στο γονίδιο LINE-1, στο 50% στο γονίδιο p16, στο 30% στο γονίδιο p21 [176], στο 66,31% στο γονίδιο BCL2L11 και στο 86,10% στο γονίδιο TNFRSF25 [177]. Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (single nucleotide polymorphisms – SNP) στα γονίδια TNF-α(-308G>A) και TNF-R1(-36A>G) [178], στο γονίδιο IL-α (-889 C/T) [179] και στον υποκοκινητή του γονιδίου της Σουρβιβίνης (-31G/C) [180], βρέθηκε ότι σχετίζονται με αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης ΟΚΚ. Ακόμη, σε ΟΚΚ έχει βρεθεί χαμηλότερη έκφραση των microRNAs miR-15a και miR-16-1 τα οποία είναι αρνητικοί ρυθμιστές του αντί-αποπτωτικού γονιδίου Bcl2 [181], η οποία δεν οφείλεται σε LOH στα γονίδια από τα οποία κωδικοποιούνται [182]. Αντίθετα με το αδαμαντινοβλάστωμα, φαίνεται ότι το γονίδιο BRAF δε συμμετέχει στην παθογένεση της ΟΚΚ [173]. Σε εργασία των Jiang και συν [183], βρέθηκε αυξημένη έκφραση των γονιδίων LOXL4, TCTA και LARP6 από τα κύτταρα του συνδετικού ιστού ΟΚΚ, τα οποία συμμετέχουν στην αγγειογένεση, την αναδιαμόρφωση των ινών κολλαγόνου και την οστεοκλαστογένεση, δείχνοντας τη σημασία του στρώματος στην παθογένεια και συμπεριφορά της κύστης.

Δυο μελέτες μεταγραφώματος που αφορούν την ΟΚΚ [145,184] περιγράφουν αύξηση και μείωση έκφρασης γονιδίων, τα αποτελέσματά τους όμως δεν είναι συγκρίσιμα, καθώς χρησιμοποιούν διαφορετικό δείγμα σύγκρισης (φυσιολογικός βλεννογόνος στόματος [145] και μεταγράφωμα δοντιού [184]). Αξίζει να τονιστεί ότι ενώ οι Heikinheimo και συν [145] βρήκαν ότι οι ΟΚΚ ως σύνολο δε διαφέρουν μεταξύ τους, αντίθετα οι Hu και συν [184], με βάση το μεταγράφωμα, χώρισαν τις ΟΚΚ σε 2 τύπους, αυτές που το μεταγράφωμα μοιάζει με αυτό των εκκριτικών αδαμαντινοβλαστών και αυτές που το μεταγράφωμα τους μοιάζει με το αντίστοιχο των οδοντινοβλαστών. Κύρια διαφορά μεταξύ των δύο τύπων είναι ότι στο πρώτο ενεργοποιείται το σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K/AKT ενώ στο δεύτερο το σηματοδοτικό μονοπάτι της MAP κινάσης [184]. Το τελευταίο μονοπάτι φαίνεται ότι είναι ενεργοποιημένο στις ΟΚΚ όπως φάνηκε σε πρόσφατη ερευνητική εργασία των Malčić και συν [185].

Ανοσοϊστοχημικές μελέτες

Τα προαναφερθέντα δεδομένα προκύπτουν από ερευνητικές μελέτες που ερευνούν γονιδιακά την παθογένεση της ΟΚΚ. Υπάρχει πληθώρα ανοσοϊστοχημικών μελετών που πραγματεύονται το ίδιο θέμα, από τις οποίες προκύπτουν χρήσιμα συμπεράσματα και ενδείξεις για την παθογένεια της ΟΚΚ. Τα πιο πρόσφατα και τεκμηριωμένα ευρήματα από τέτοιες μελέτες είναι τα παρακάτω:

- Στην ερευνητική εργασία των Vered και συν [186] βρέθηκε ότι σε ΟΚΚ ασθενών με ΣΣΒΚ, σε μη συνδρομικές ΟΚΚ και σε υποτροπιάζουσες μη συνδρομικές ΟΚΚ, οι πρωτεΐνες PTCH1 και GLI-1 εκφράζονται ανοσοϊστοχημικά σε όλες τις στιβάδες του επιθηλίου, ενώ η πρωτεΐνη SMO εκφράζεται ασθενώς. Εντούτοις δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ανοσοϊστοχημική έκφραση των τριών αυτών πρωτεϊνών μεταξύ των διαφόρων τύπων ΟΚΚ [186]. Σε αντίθετα αποτελέσματα κατέληξαν οι Cadavid και συν [187], οι οποίοι βρήκαν ότι σε συνδρομικές ΟΚΚ σε σύγκριση με μη συνδρομικές υπάρχει σε στατιστικά σημαντικό βαθμό εντονότερη ανοσοϊστοχημική έκφραση της SHH πρωτεϊνης στα κύτταρα της βασικής στιβάδας, της πρωτεϊνης SMO στα κύτταρα της βασικής (πυρηνική και κυτταροπλασματική έκφραση) και των υπολοίπων στιβάδων (πυρηνική χρώση) και της πρωτεϊνης GLI-1 (κυτταροπλασματική έκφραση) στα κύτταρα άνωθεν της βασικής στιβάδας. Αναφέρουν, επίσης, ότι οι πρωτεϊνες GLI-2 και GLI-3 εκφράζονται με μεγαλύτερη ένταση στις συνδρομικές ΟΚΚ όχι όμως σε στατιστικά σημαντικό βαθμό σε σύγκριση με τις μη συνδρομικές ΟΚΚ [187].

- Στην έρευνα των Vered και συν [186] εξετάστηκε η ανοσοϊστοχημική έκφραση των πρωτεϊνών PTCH1, SMO και GLI-1 τόσο σε αδαμαντινοβλαστώματα (μονοκυστικά και συμπαγή), όσο και σε ορθοκερατινοποιημένες οδοντογενείς κύστεις, οδοντοφόρες και ακρορριζικές κύστεις και δε βρέθηκε καμιά διαφορά στην έκφραση τόσο μεταξύ τους όσο και συγκριτικά με τις ΟΚΚ. Αντίθετα, όταν έγινε ανοσοϊστοχημικός έλεγχος της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2 (στόχος του σηματοδοτικού μονοπατιού SHH), αυτή βρέθηκε μόνο στις ΟΚΚ και στα αδαμαντινοβλαστώματα [186]. Οι Vered και συν [186] τονίζουν ότι το όμοιο ανοσοϊστοχημικό πρότυπο της ΟΚΚ και του αδαμαντινοβλαστώματος σε σχέση με τις άλλες κύστεις αποτελεί ένδειξη ότι η ΟΚΚ είναι νεόπλασμα και όχι κύστη.
- Οι Kichi και συν [188], έδειξαν ότι η ανοσοϊστοχημική έκφραση της Bcl-2 στις ΟΚΚ εντοπίζεται μόνο στη βασική στιβάδα του επιθηλίου, ενώ με τη μέθοδο TUNEL βρήκαν αποπτωτικά κύτταρα μόνο στις επιφανειακές στιβάδες του. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, αυτή η αναστολή της απόπτωσης στη βασική στιβάδα, επιτρέπει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ενώ η απόπτωση των κυττάρων των επιφανειακών στιβάδων επιτρέπει τη διατήρηση του πάχους του επιθηλίου της ΟΚΚ και τη σύνθεση μεγάλων ποσοτήτων κερατίνης [188]. Οι Kolár και συν [189], βρήκαν ότι η ανοσοϊστοχημική έκφραση της Bcl-2 στα κύτταρα της βασικής στιβάδας είναι εντονότερη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στις συνδρομικές σε σχέση με τις μη συνδρομικές ΟΚΚ, εύρημα που έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των Kaczmarzyk και συν [111], οι οποίοι δε βρήκαν καμία διαφορά στην ανοσοϊστοχημική έκφραση της Bcl-2 μεταξύ των δύο τύπων ΟΚΚ.

- Ο δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki-67 των ΟΚΚ είναι αυξημένος και μεγαλύτερος, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, σε σύγκριση με αυτόν σε οδοντοφόρες και ακρορριζικές κύστεις [190,191]. Στις οδοντογενείς ΟΚΚ ο Ki-67 έχει εντονότερη ανοσοϊστοχημική έκφραση στις παραβασικές και ενδιάμεσες στιβάδες του επιθηλίου [188,191]. Οι Kolár και συν [189] βρήκαν ότι η ανοσοϊστοχημική έκφραση του Ki-67 είναι χαμηλότερη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στις συνδρομικές σε σχέση με τις μη συνδρομικές ΟΚΚ, εύρημα το οποίο δεν επιβεβαιώθηκε στην εργασία των Mendes και συν [192].
- Η πρωτεΐνη p53, η οποία αναστέλλει τον κυτταρικό κύκλο στη φάση G1 και αποτρέπει την απόπτωση, έχει εντονότερη ανοσοϊστοχημική έκφραση στις παραβασικές και ενδιάμεσες στιβάδες και ακολούθως στη βασική στιβάδα του επιθηλίου της ΟΚΚ [188, 191]. Η p53 έχει σε στατιστικά σημαντικό βαθμό εντονότερη ανοσοϊστοχημική έκφραση στις ΟΚΚ σε σύγκριση με τις ακρορριζικές και οδοντοφόρες κύστεις [191]. Οι Kolár και συν [189] βρήκαν ότι δε διαφέρει η ανοσοϊστοχημική έκφραση της p53 μεταξύ συνδρομικών και μη συνδρομικών ΟΚΚ, εύρημα που επιβεβαιώθηκε και από άλλους συγγραφείς [111,192,193]. Έχει αναφερθεί ότι στις υποτροπιάζουσες ΟΚΚ, η p63 (η οποία ανήκει στην οικογένεια της p53) εκφράζεται σε όλες τις στιβάδες του επιθηλίου, ενώ στις μη υποτροπιάζουσες ΟΚΚ η έκφραση περιορίζεται στις βασικές και παραβασικές στιβάδες [193].
- Η κυκλοοξυγενάση-2 (COX-2) έχει βρεθεί αυξημένη σε διάφορους τύπους καρκίνων και συνδέεται με την αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, την επαγωγή αγγειογένεσης και την αποφυγή της ανοσολογικής επιτήρησης του οργανισμού μέσω της σύνθεσης προσταγλανδινών [192,194]. Στις ΟΚΚ υπάρχει αυξημένη ανοσοϊστοχημική έκφραση της COX-2 σε όλες τις στιβάδες

του επιθηλίου, ενώ δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ συνδρομικών και μη συνδρομικών ΟΚΚ [111,192,194].

- Οι de Andrade Santos και συν [195] βρήκαν ότι στις ΟΚΚ υπάρχει εντονότερη ανοσοϊστοχημική έκφραση, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB (πυρηνικός παράγοντας-κB, nuclear factor-κB) σε σύγκριση με τις οδοντοφόρες και τις ακρορριζικές κύστεις. Ο NF-κB, κατά την ενεργοποίησή του, μεταφέρεται στον πυρήνα όπου ενεργοποιεί γονίδια - στόχους τα κυριότερα από τα οποία σχετίζονται με την κυτταρική διαφοροποίηση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την απόπτωση [195].
- Οι Kim και συν [196], βρήκαν ότι υπάρχει σε στατιστικά σημαντικό βαθμό εντονότερη ανοσοϊστοχημική έκφραση της μορφογενετικής πρωτεΐνης του οστού - 4 (Bone Morphogenic Protein-4, BMP-4) στο επιθήλιο και στο συνδετικό ιστό ΟΚΚ σε σχέση με το επενδυτικό επιθήλιο και το τοίχωμα της οδοντοφόρου κύστης, καθώς και στο επιθήλιο των ΟΚΚ που εμφάνισαν υποτροπή. Η BMP-4 είναι μια πρωτεΐνη που συμμετέχει στην οδοντογένεση και το γονίδιο από το οποίο κωδικοποιείται είναι στόχος του σηματοδοτικού μονοπατιού SHH [196].
- Οι Vasconcelos και συν [197], βρήκαν ότι στις ΟΚΚ υπάρχει έντονη ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης GLUT-1 (μεταφορέας γλυκόζης -1, glucose transporter -1), η οποία σχετίζεται με αυξημένη πρόσληψη γλυκόζης από τα κύτταρα, μια πηγή ενέργειας που βοηθά στις μεταβολικές τους δραστηριότητες. Παρόλα αυτά, δε βρήκαν στατιστικά σημαντική διαφορά στην έκφρασή της μεταξύ ΟΚΚ, οδοντοφόρου κύστης και αδαμαντινοβλαστώματος [197], ενώ και οι τρεις οδοντογενείς βλάβες, παρουσίαζαν σε μικρά ποσοστά ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης

GLUT-3. Σε μεταγενέστερη εργασία, οι Vera-Siera και συν [198] βρήκαν ότι η ανοσοϊστοχημική έκφραση της GLUT-1 είναι εντονότερη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό σε ΟΚΚ σε σχέση με ορθοκερατινοποιημένες οδοντογενείς κύστεις, ενώ δε βρήκαν διαφορά μεταξύ συνδρομικών και μη συνδρομικών ΟΚΚ.

- Οι Vasconcelos και συν [197] βρήκαν ότι στο 50% των ΟΚΚ, εκφράζεται ανοσοϊστοχημικά η πρωτείνη CA IX (καρβονική ανυδράση IX, carbonic anhydrase), η οποία παράγεται σε συνθήκες υποξίας και προάγει την επιβίωση των κυττάρων. Δε βρέθηκε όμως διαφορά στην έκφραση της CA IX μεταξύ ΟΚΚ, οδοντοφόρου κύστης και αδαμαντινοβλαστώματος.
- Οι Wu και συν [199], βρήκαν έντονη ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεϊνης AEG-1 (αυξημένο γονίδιο-1 αστροκυττάρων, astrocyte elevated gene-1) σε όλες εκτός της επιφανειακής στιβάδας του επιθηλίου στην ΟΚΚ, η οποία δε διέφερε από την έκφραση της πρωτεϊνης αυτής σε αδαμαντινοβλαστώματα, ενώ και στις δύο οντότητες ήταν εντονότερη και σε στατιστικά σημαντικό βαθμό συγκριτικά με την οδοντοφόρο κύστη. Η AEG-1 έχει ως γονίδια στόχους τους NF-kB και το σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K/AKT/mTOR, και σχετίζεται με αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και αναστολή της απόπτωσης, ενώ έχει βρεθεί αυξημένη σε διάφορους καρκίνους, κυρίως στο ρετινοβλάστωμα και στον καρκίνο του νεφρού [199].
- Οι Siar και συν [200] παρατήρησαν ότι η πρωτεΐνη Claudin-3 η οποία ανήκει σε μια οικογένεια 24 διαμεμβρανικών πρωτεϊνών απαραίτητων για τη δομική ακεραιότητα και τη λειτουργία του επιθηλίου ως φραγμού, δεν εκφράζεται στη βασική στιβάδα του επιθηλίου του 90% των ΟΚΚ, ενώ αντίθετα

εκφράζεται στο 90% των οδοντοφόρων και στο 50% των ακρορριζικών κύστεων, με τη διαφορά αυτή να είναι στατιστικά σημαντική. Οι συγγραφείς πιστεύουν ότι αυτή η απώλεια έκφρασης πιθανώς σχετίζεται με διαταραχή της ακεραιότητας του επιθηλίου η οποία επιτρέπει την διακυτταρική επικοινωνία και την διαπερατότητα σε αυξητικούς παράγοντες [200].

- Η ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης NCAM (CD56), η οποία έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με τη κυτταρική μετανάστευση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση, έχει βρεθεί αυξημένη σε αδαμαντινοβλαστώματα, ενώ στις ΟΚΚ έχει βρεθεί ότι ή δεν εκφράζεται [201] ή εκφράζεται σε μικρό ποσοστό [202,203] με τις συνδρομικές ΟΚΚ να την εκφράζουν συχνότερα και σε στατιστικά σημαντικό βαθμό σε σχέση με τις μη συνδρομικές [203].
- Σε εργασία των Suyama και συν [204], αναφέρεται ότι στις ΟΚΚ, εκφράζεται ανοσοϊστοχημικά η πρωτεΐνη KGF (αυξητικό παράγοντας κερατινοκυττάρων, keratinocyte growth factor) όπως και ο υποδοχέας της KGFR, και η έκφραση σε σύγκριση με τις οδοντοφόρες κύστεις είναι εντονότερη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Το μονοπάτι KGF/KGFR συμμετέχει στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και στη διαφοροποίηση τόσο σε φυσιολογικές διαδικασίες όπως η επούλωση όσο και σε κακοήθειες όπως ο καρκίνος του προστάτη [204].
- Οι Ribeiro και συν [205] βρήκαν ότι η ΟΚΚ εκφράζει ανοσοϊστοχημικά πρωτεΐνες που σχετίζονται με τα «πόδια διήθησης» (invadopodia), οι οποίες σχετίζονται με την τοπική διήθηση των καρκινικών κυττάρων. Η ανοσοσοϊστοχημική έκφραση των πρωτεϊνών αυτών (MT1-MMPP, TKs4, TKs5 και cortactin) ήταν εντονότερη σε στατιστικά σημαντικά βαθμό στη

βασική στιβάδα των ΟΚΚ σε σύγκριση με τις άλλες στιβάδες, καθώς και στο σύνολο του επιθηλίου των ΟΚΚ, έναντι του αντίστοιχου των ενασβεστιούμενων οδοντογενών κύστεων [205].

- Η ανοσοϊστοχημική έκφραση της FAK (κινάση εστιακής προσκόλλησης, focal adhesion kinase), είναι θετική στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου και συμβάλλει στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό μέσω της ενεργοποίησης του σηματοδοτικού μονοπατιού MARP/ERK, στην κυτταρική σύνδεση και στην αγγειογένεση [206]. Στις ΟΚΚ η ανοσοϊστοχημική της έκφραση στο επιθήλιο παρατηρείται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό υψηλότερη σε σύγκριση με την ορθοκερατινοποιημένη οδοντογενή κύστη, την οδοντοφόρο κύστη, την ακρορριζική κύστη και το οδοντοθυλάκιο [206].
- Οι Mendes και συν [207], ανέφεραν ότι η Γλυπικάνη-3, μια πρωτεογλυκάνη που έχει ανευρεθεί στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, έχει σε στατιστικά σημαντικό βαθμό εντονότερη ανοσοϊστοχημική έκφραση στις ΟΚΚ σε σύγκριση με συμπαγή και μονοκυστικά αδαμαντινοβλαστώματα, αδενοματοειδείς οδοντογενείς όγκους και ενασβεστιούμενες οδοντογενείς κύστεις [207]. Η έκφρασή της εντοπίζεται στις παραβασικές και ενδιάμεσες στιβάδες των ΟΚΚ, ενώ δεν υπάρχει διαφορά στην έκφραση μεταξύ συνδρομικών και μη ΟΚΚ [207]. Αξίζει να αναφερθεί ότι στην εισαγωγή της συγκεκριμένης ερευνητικής εργασίας, οι συγγραφείς αναφέρουν ότι η Γλυπικάνη-3 επάγει τη δράση του σηματοδοτικού μονοπατιού SHH, αλλά στη συνέχεια δε γίνεται καμιά αναφορά παρά την παρατήρηση έντονης ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της συγκεκριμένες πρωτεογλυκάνης [207].

- Η ανοσοϊστοχημική έκφραση της ποδοπλανίνης, μιας διαμεμβρανικής πρωτεϊνης των λεμφαγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων, η οποία έχει συσχετισθεί με τη διήθηση διαφόρων τύπων καρκίνου, βρέθηκε ότι είναι εντονότερη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, στις ΟΚΚ σε σχέση με τις οδοντοφόρες και τις ορθοκερατινοποιημένες οδοντογενείς κύστεις [208]. Στις ΟΚΚ η ποδοπλανίνη εκφράζεται στη βασική και παραβασική στιβάδα [208]. Αντίστοιχα ευρήματα αναφέρθηκαν και σε πρόσφατη ερευνητική εργασία των Kechic και συν [209].
- Η μεταλλοθιονίνη, μια πρωτεΐνη που σχετίζεται με την κυτταρική διαφοροποίηση και με την αναστολή της απόπτωσης, δε φαίνεται να συμμετέχει στην παθογένεια της ΟΚΚ, καθ' όσον η ανοσοϊστοχημική της έκφραση είναι μικρότερη σε σύγκριση με οδοντοφόρες και ακρορριζικές κύστεις [210], ενώ μεταξύ των ΟΚΚ είναι εντονότερη στις μη συνδρομικές σε σύγκριση με τις συνδρομικές [211].
- Οι Ribeiro και συν [212] βρήκαν ότι εκφράζονται ανοσοϊστοχημικά στο επιθήλιο των ΟΚΚ οι πρωτεΐνες MMP-9 (μεταλλοπρωτεϊνάση-9, metalloproteinase-9), TIMP-2 (αναστολέας ιστών μεταλλοπρωτεϊνασών -2, tissue inhibitors metalloproteinases-2), EGFR (υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα – epidermal growth factor receptor), EGF, TGF-a (αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού-a, transformin growth factor-a), ERK και pERK (φωσφορυλιωμένη ERK). Με βάση αυτά τα ευρήματα, προτείνουν την υπόθεση ότι η MMP-9, απελευθερώνεται από τα επιθηλιακά κύτταρα της ΟΚΚ στο χόριο, προκαλώντας αναδιαμόρφωση του οστού και απελευθέρωση EGF και TGF-a, μόρια τα οποία προσδένονται στον EGFR ενεργοποιώντας το μονοπάτι του ERK. Το ERK εισέρχεται στον πυρήνα και

κατευθύνεται στα γονίδια στόχους που συνδέονται με την κυτταρική αύξηση και μετανάστευση [212].

- Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) είναι πρωτεολυτικά ένζυμα, που παράγονται τόσο από επιθηλιακά όσο και από μεσεγχυματικά κύτταρα και συμμετέχουν στην αποδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας [213]. Ανοσοϊστοχημικά, έχει βρεθεί ότι οι MMPs 1,2 και 9 εκφράζονται τόσο στο επιθήλιο όσο και στο συνδετικό ιστό ΟΚΚ [213], ενώ οι MMPs 7 και 26 εκφράζονται στο επιθήλιο [214], χωρίς να είναι γνωστό αν εκφράζονται και στο συνδετικό ιστό. Η επιθηλιακή έκφραση της MMP-1 είναι εντονότερη σε βαθμό στατιστικά σημαντικό στις συνδρομικές σε σύγκριση με τις μη συνδρομικές ΟΚΚ [214].
- Σε πρόσφατη ερευνητική μελέτη των de Brito Monteiro και συν [215], βρέθηκε ότι η πρωτεΐνη hMLH1 που ανήκει στο σύστημα επιδιόρθωσης βλαβών του DNA (DNA Mismatch Repair System) έχει έντονη ανοσοϊστοχημική έκφραση στο επιθήλιο ΟΚΚ, ενώ η έκφραση δε διαφέρει μεταξύ συνδρομικών ΟΚΚ, μη συνδρομικών ΟΚΚ και υποτροπιαζουσών ΟΚΚ.
- Η μιντκίνη (midkine), σε εργασία των Fujita και συν [216], βρέθηκε ότι εκφράζεται ανοσοϊστοχημικά στο επιθήλιο των ΟΚΚ σε ποσοστο 40%. Η μιντκίνη, εκφράζεται στην EMT (επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάπτωση, epithelial-mesenchymal transition) στο οδοντικό σπέρμα αλλά η θετικότητά της στις ΟΚΚ σύμφωνα με τους συγγραφείς, σχετίζεται κυρίως με τη θετική έκφραση της πρωτεϊνης αυτής σε κερατινοποιημένα επιθηλιακά κύτταρα [216].

- Η σουρβιβίνη η οποία είναι αναστολέας της απόπτωσης, εκφράζεται έντονα ανοσοϊστοχημικά στο επιθήλιο των ΟΚΚ, κυρίως στις βασικές και παραβασικές στιβάδες [217].
- Σε μελέτη των Chaisuparat και συν [218], βρέθηκε ότι στο επιθήλιο ΟΚΚ εκφράζονται ανοσοϊστοχημικά οι πρωτεϊνες pAkt (Ser473), pAkt (Thr308) και pRPS6 και ότι η έκφραση αυτή δε διέφερε από την αντίστοιχη σε αδαμαντινοβαστώματα και οδοντοφόρες κύστεις, προσεγγίζοντας όμως περισσότερο τα αδαμαντινοβλαστώματα. Και οι τρεις αυτές πρωτεΐνες είναι μόρια του σηματοδοτικού μονοπατιού Akt/mTOR το οποίο φαίνεται ότι συμμετέχει στην παθογένεια και των τριών αυτών οντοτήτων, ενώ αλληλεπιδρά με το σηματοδοτικό μονοπάτι SHH [218].
- Η πρωτεϊνη β-κατενίνη που ανήκει στο σηματοδοτικό μονοπάτι WNT/β-κατενίνη, δεν εκφράζεται ανοσοϊστοχημικά παρά σε πολύ μικρό ποσοστό ΟΚΚ σε αντίθεση με την οδοντοφόρο κύστη στην οποία εκφράζεται σε όλες τις στιβάδες του επιθηλίου [219]. Αντίθετα, στο επιθήλιο των ΟΚΚ εκφράζονται εντονότερα από το επιθήλιο των οδοντοφόρων κύστεων οι πρωτεΐνες WNT-1, WNT-10A [219] και WNT-5A [220]. Οι πρωτεΐνες WNT-10A και WNT-5A συμμετέχουν στην οδοντογένεση [219, 220], ενώ η WNT-1 έχει βρεθεί αυξημένη σε διάφορους τύπους κακοήθων νεοπλασμάτων [219].
- Οι πρωτεΐνες κονεξίνη 43 και κονεξίνη 32 έχουν μικρότερη ανοσοϊστοχημική έκφραση στις ΟΚΚ σε σύγκριση με το φυσιολογικό βλεννογόνο [221]. Οι πρωτεϊνες αυτές συμμετέχουν στην διακυτταρική επικοινωνία και η απώλειά τους έχει συσχετισθεί με αυξημένο πολλαπλασιασμό και αυξημένο αντι-αποπτωτικό δυναμικό [221].

- Η ανοσοϊστοχημική έκφραση της συνδεκάνης-1 (CD138) βρέθηκε ότι είναι μικρότερη σε βαθμό στατιστικά σημαντικό στο επιθήλιο αδαμαντινοβλαστωμάτων σε σύγκριση με το επιθήλιο ΟΚΚ και οδοντοφόρων κύστεων, ενώ δε βρέθηκε διαφορά στην έκφρασή της στο συνδετικό ιστό των τριών αυτών βλαβών [222]. Απώλεια της έκφρασης της συνδεκάνης-1 έχει βρεθεί ότι μειώνεται σε κακοήθεις νεοπλασματικές βλάβες [222]. Τέλος, αξίζει να τονισθεί ότι ενώ η συνδεκάνη-1 εκφράζεται στο επιθήλιο των ΟΚΚ, αυτή η έκφραση της είναι λιγότερο έντονη ή χάνεται πλήρως στη βασική στιβάδα στη θέση των επιθηλιακών εκβλαστήσεων [222].
- Οι καντερίνες Ε και Ν δε φαίνεται να σχετίζονται με την παθογένεση της ΟΚΚ, καθώς δε βρέθηκε διαφορά στην ανοσοϊστοχημική τους έκφραση σε σύγκριση με ακρορριζικές κύστεις και οδοντοθυλάκια [223]. Πρόκειται για μόρια προσκόλλησης και η απώλειά τους έχει παρατηρηθεί στην ΕΜΤ [223].
- Οι Tekkesin και συν [224] βρήκαν εντονότερη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεϊνης RANK (ενεργοποιητής του υποδοχέα του πυρηνικού παράγοντα-κB, receptor activator nuclear factor- κB) στο επιθήλιο ΟΚΚ σε σχέση με το αδαμαντινοβλάστωμα και την ακρορριζική κύστη. Αντίθετα δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην έκφραση της πρωτεϊνης αυτής στο συνδετικό ιστό και των τριών οδοντογενών βλαβών, ή στην έκφραση του RANKL (συνδέτης RANK, RANK ligand) και της OPG (οστεοπροτεγερίνη, osteoprotegerin) τόσο στο επιθήλιο όσο και στο συνδετικό ιστό των βλαβών αυτών. Παρόλα αυτά, η έκφραση της OPG ήταν λιγότερο έντονη στις ΟΚΚ σε σύγκριση με τις άλλες δύο βλάβες, ενώ του RANKL ήταν μεγαλύτερη του αδαμαντινοβλαστώματος και μικρότερη της ακρορριζικής κύστης [224]. Η σύνδεση του RANK με το RANKL μετατρέπει

τους προοστεοκλάστες σε οστεοκλάστες, ενώ η OPG αναστέλλει αυτή τη σύνδεση. Τα αυξημένα ποσοστά RANK και RANKL και τα χαμηλά ποσοστά της OPG, τουλάχιστον σε ανοσοϊστοχημικό επίπεδο, δείχνουν εντονότερη οστεοκλαστική δραστηριότητα στις ΟΚΚ, σε σύγκριση με το αδαμαντινοβλάστωμα και την ακρορριζική κύστη [224]. Αντίθετα οι da Silva και συν [225] βρήκαν ότι η οστεοκλαστική δραστηριότητα στην ΟΚΚ είναι μικρότερη αυτής του αδαμαντινοβλαστώματος καθώς βρέθηκε εντονότερη ανοσοϊστοχημική έκφραση της OPG στην πρώτη σε σχέση με το RANKL, αλλά και οι δύο βλάβες είχαν μεγαλύτερη οστεοκλαστική δραστηριότητα σε σύγκριση με την οδοντοφόρο κύστη.

- Δεν έχει βρεθεί διαφορά στην ανοσοϊστοχημική έκφραση των πρωτεϊνών λαμινίνη 1 και 5, κολλαγόνο τύπου IV και φιμπρονεκτίνης, πρωτεϊνών συστατικών της βασικής μεμβράνης, μεταξύ ΟΚΚ, οδοντοφόρων κύστεων και ακρορριζικών κύστεων, εύρημα που δείχνει ότι η δομή αυτή δεν είναι διαταραγμένη στις ΟΚΚ [226]. Αντίθετα, η έκφραση της τενασίνης της φιμπρονεκτίνης, του κολλαγόνου τύπου IV και της λαμινίνης στη βασική μεμβράνη διέφερε μεταξύ συνδρομικών και μη ΟΚΚ εύρημα το οποίο συσχετίσθηκε με πιο επιθετική συμπεριφορά των πρώτων [227].
- Οι ινοβλάστες στο τοίχωμα των ΟΚΚ έχουν υψηλότερο βαθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε σύγκριση με τους ινοβλάστες των ούλων, ενώ έχουν μεγαλύτερη οστεοκλαστική ικανότητα, η οποία ενισχύεται από την αυξημένη έκφραση COX-2 και VEGF [228]. Η αυξημένη αυτή οστεοκλαστική δραστηριότητα επιτυγχάνεται μόνο μέσω αλληλεπίδρασης με τα επιθηλιακά κύτταρα [229].

- Έχει αναφερθεί αυξημένος αριθμός λεμφαγγείων (θετικότητα στον ανοσοϊστοχημικό δείκτη D2-40) και μυοϊνοβλαστών (θετικότητα στον ανοσοϊστοχημικό δείκτη aSMA) στο συνδετικό ιστό των ΟΚΚ σε σύγκριση με τις ακρορριζικές κύστεις και τα οδοντοθυλάκια, με τη διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική και την παρουσία των μυοϊνοβλαστών να αποδίδεται στην επιθετικότερη συμπεριφορά της ΟΚΚ [230].
- Έχουν βρεθεί περισσότερα αγγεία, όπως αναγνωρίζονται με την ανοσοϊστοχημική θετικότητα στο δείκτη CD-105, σε ΟΚΚ σε σύγκριση με οδοντοφόρες κύστεις και φυσιολογικό βλεννογόνο εύρημα που έχει αποδοθεί στην επιθετική φύση της ΟΚΚ [231]. Η αυξημένη αγγειοβρίθεια έχει αποδοθεί στα Μ2-μακροφάγα, τα οποία έχουν ανευρεθεί σε διάφορα κακοήθη νεοπλάσματα [232]
- Τέλος, ανοσολογικοί μηχανισμοί πιθανώς διαδραματίζουν κάποιον άγνωστο μέχρι στιγμής ρόλο στην παθογένεση της ΟΚΚ. Έχει βρεθεί αυξημένος αριθμός δενδριτικών κυττάρων στο επιθήλιο ΟΚΚ σε σύγκριση με ακρορριζικές και οδοντοφόρες κύστεις [233], αυξημένη έκφραση του τύπου Toll υποδοχέα 4(Toll- like receptor 4) κυρίως σε συνδρομικές και υποτροπιάζουσες ΟΚΚ [234], και αυξημένος αριθμός μαστοκυττάρων [235,236].

B. Εξωδυσπλασίνη

I. Εισαγωγή

Η εξωδερμική δυσπλασία συνιστά μια μεγάλη οικογένεια συγγενών αναπτυξιακών διαταραχών σε τουλάχιστον δύο από τα παρακάτω: ιδρωτοποιοί αδένες, μαλλιά, δόντια, νύχια και άλλες εξωδερμικές δομές (όπως μαστικοί αδένες, θυροειδής αδένας, θύμος αδένας, επιπεφυκότας, δακρυϊκός αδένας) [237,238]. Μέχρι στιγμής έχουν περιγραφεί πάνω από 170 διαφορετικοί τύποι εξωδερμικής δυσπλασίας [237,238]. Ο πιο συχνός τύπος είναι η υποϊδρωτική εξωδερμική δυσπλασία (Hypohidrotic Ectodermal Dysplasia, HED) (OMIM #305100), τα κύρια κλινικά σημεία της οποίας είναι η μειωμένη ικανότητα εφίδρωσης, η έλλειψη ενός ή περισσοτέρων δοντιών και η υποτρίχωση [237,238]. Η επίπτωσή της είναι 1 νέα περίπτωση ανά 100.00 γεννήσεις και κληρονομείται κυρίως με το φυλοσύνδετο τύπο κληρονομικότητας, οπότε είναι συχνότερη στους άντρες, αν και μπορεί επίσης να κληρονομηθεί είτε με αυτοσωμικό επικρατές ή υπολειπόμενο τρόπο [239,240].

Όσον αφορά στη στοματική κοιλότητα, τα συχνότερα ευρήματα είναι συγγενής έλλειψη δοντιών, ποικιλία στο μέγεθος και στο σχήμα των δοντιών, ταυροδοντισμός κυρίως στους δεύτερους γομφίους της κάτω γνάθου, αυξημένο μέγεθος πολφικής κοιλότητας και μειωμένη ροή σιάλου [239,241].

Τα συμπτώματα της νόσου αυτής είχαν περιγραφεί από τον Δαρβίνο ήδη από το 1875 [242], αλλά το 1996 εντοπίστηκε για πρώτη φορά, στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος Χ (Xq13.1) το γονίδιο που σχετιζόταν με την εμφάνιση HED, το οποίο ονομάστηκε εξωδυσπλασίνη (EDA) [243]. Το 1997 βρέθηκε ότι στα ποντίκια Tabby, τα οποία έχουν παρόμοιο φαινότυπο με αυτόν της HED, αυτό οφείλεται σε μεταλλάξεις γονιδίου που ονομάστηκε γονίδιο Tabby και είναι ομόλογο του ανθρώπινου EDA [244,245]. Μελετώντας τα ποντίκια Tabby, βρέθηκε ότι το EDA γονίδιο είναι η αρχή ενός σηματοδοτικού μονοπατιού [242], ενώ μελετώντας γενετικά τροποποιημένα Tabby ποντίκια τα οποία ονομάστηκαν downless, βρέθηκε ο υποδοχέας της πρωτεΐνης EDA, ο οποίος ονομάστηκε EDAR [246,247] μεταλλάξεις του οποίου, προκαλούσαν φαινότυπο όμοιο με της HED στα ποντίκια downless [247]. Τέλος, στα γενετικά τροποποιημένα ποντίκια crinkled, τα οποία είναι σχετικά παρόμοια με τα γενετικά τροποποιημένα ποντίκια tabby και downless, βρέθηκε ο υποδοχέας του EDAR, ο οποίος ονομάστηκε EDARADD, μεταλλάξεις στον οποίο, προκαλούσαν φαινότυπο όμοιο με της HED στα ποντίκια crinkled [248]. Έχουν αναφερθεί πάνω από 200 μεταλλάξεις στο γονίδιο EDA που σχετίζονται με την πρόκληση HED, ενώ πολύ λιγότερες μεταλλάξεις έχουν, αναφερθεί για τα γονίδια EDAR και EDARADD [249-251]. Μεταλλάξεις στο γονίδιο EDA σχετίζονται κυρίως με φυλοσύνδετο τύπο κληρονομικότητας, ενώ στα EDAR και EDARADD κυρίως με αυτοσωμικό επικρατές ή υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας [237,252]. Τέλος, στο 90% των ασθενών με φυλοσύνδετη κληρονομούμενη HED παρατηρείται υπερμεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου EDA [253].

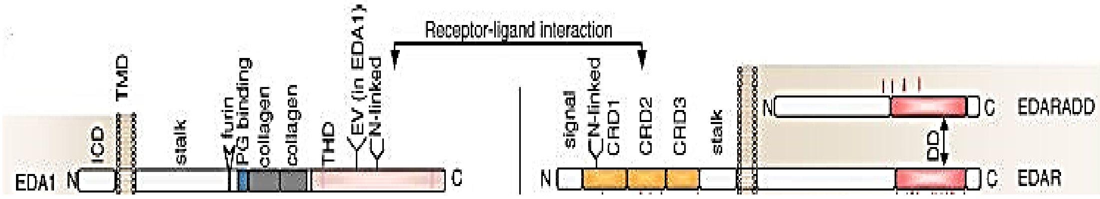
Το σηματοδοτικό μονοπάτι της EDA, εκτός της συσχέτισης με τη HED, έχει ενεργό ρόλο στη μορφογένεση εξαρτημάτων που προέρχονται από το εξώδερμα, όπως οι τρίχες, τα δόντια, οι μαστικοί αδένες, οι ιδρωτοποιοί και σιαλογόνοι αδένες [138]. Σε αντίθεση με όλα τα υπόλοιπα σηματοδοτικά μονοπάτια που συμμετέχουν στη μορφογένεση αυτή, απουσία ή δυσλειτουργία ενός ή περισσοτέρων παραγόντων του σηματοδοτικού μονοπατιού της EDA δε δημιουργεί αναπτυξιακές ατέλειες στα εξαρτήματα αυτά ή σε άλλα όργανα, παρά μόνο παραλλαγές όσον αφορά τον αριθμό, στο σχήμα, στο μέγεθος και στη θέση των εξαρτημάτων [242]. Αξίζει να αναφερθεί ότι το σηματοδοτικό μονοπάτι της EDA συμμετέχει στη διαδικασία σχηματισμού εξωδερμικών εξαρτημάτων όχι μόνο στα θηλαστικά αλλά σε όλα τα σπονδυλόζωα [242]. Στη παρούσα διπλωματική εργασία εντούτοις, θα αναλυθεί ο ρόλος του σηματοδοτικού μονοπατιού της EDA μόνο στην οδοντογένεση.

Μεταλλάξεις κυρίως του γονιδίου EDA, αλλά και των EDAR και EDARADD ανευρίσκονται σε ασθενείς με μη-συνδρομική ολιγοδοντία [254-257]. Το γονίδιο EDA είναι το δεύτερο σε συχνότητα γονίδιο που σχετίζεται με μη-συνδρομική ολιγοδοντία μετά το PAX9 [254], ενώ μεταλλάξεις του έχουν σχετιστεί και με υποδοντία [258]. Ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι οι ασθενείς με μη-συνδρομική ολιγοδοντία και μεταλλάξεις στο γονίδιο EDA έχουν στην πραγματικότητα HED, χωρίς όμως τα άλλα συμπτώματα της νόσου [259]. Αυτό έχει αποδειχθεί ότι όμως δεν ισχύει γιατί στην περίπτωση της μη-συνδρομικής ολιγοδοντίας, υπάρχει σύνδεση της EDA με τον EDAR, έστω και μειωμένη, ενώ στους ασθενείς με HED αυτή η σύνδεση χάνεται, με αποτέλεσμα να μη λειτουργεί το σηματοδοτικό μονοπάτι της EDA [260,261]. Γι αυτό και στους ασθενείς με HED οι βλάβες στα δόντια είναι εντονότερες σε σύγκριση με τους φέροντες μετάλλαξη στο γονίδιο EDA στη μη-συνδρομική ολιγοδοντία [242]. Στη μη-συνδρομική ολιγοδοντία οφειλόμενη σε μεταλλάξεις της EDA υπάρχει συχνότερα έλλειψη την προσθίων δοντιών και αυτό έχει αποδοθεί στην ανάγκη για πιο έντονο σήμα που πρέπει να δεχθούν από την EDA τα πρόσθια δόντια σε σχέση με τα οπίσθια, σήμα που λόγω της μετάλλαξης, είναι μειωμένο [260,261].

II. Σηματοδοτικό μονοπάτι EDA

Τόσο η EDA πρωτεΐνη, όσο και οι EDAR και EDARADD ανήκουν στην υπεροικογένεια των TNF (Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων/ Tumor Necrosis Factor/) κυτοκινών [262,263].

Η EDA, είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη 391 αμινοξέων η οποία αποτελείται από ένα μικρό ενδοκυττάριο τμήμα, ένα διαμεμβρανικό τμήμα, ένα μίσχο αγνώστου λειτουργίας, τη θέση αποκοπής (αλληλουχίας furin), μια θετικά φορτισμένη αλληλουχία για αλληλεπίδραση με πρωτεογλυκάνες θειϊκής ηπαρίνης, ένα διμερή τομέα ανάλογο του κολλαγόνου και μια αλληλουχία 150 αμινοξέων στο C-αμινοτελικό άκρο ανάλογη του TNF, την THD (Εικόνα 3) [264].



Εικόνα 3 – Δομή EDA, EDAR και EDARADD [264]

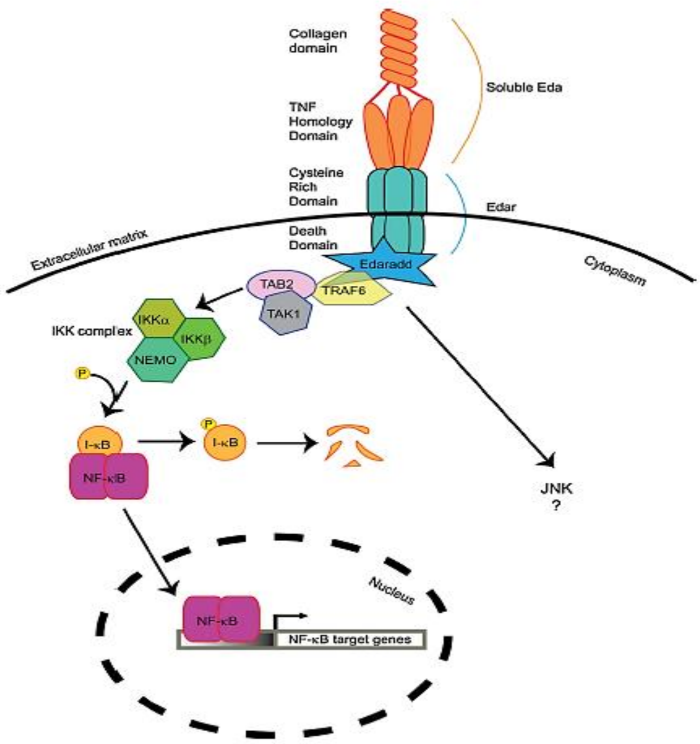
Εννιά διαφορετικές ισόμορφες πρωτεΐνες μπορούν να παραχθούν μέσω εναλλακτικού ματίσματος των 12 εξονίων του γονιδίου, με μόνο δύο από αυτές να είναι βιολογικά ενεργές, δηλαδή να αλληλεπιδρούν με υποδοχείς αφού περιέχουν την αλληλουχία THD, η EDA1 και η EDA2 [265,266]. Η EDA1 και EDA2 έχουν διαφορά δύο αμινοξέων στην αλληλουχία THD και η κάθε μία συνδέεται με τον υποδοχέα της, τον EDAR και EDA2R (αρχική ονομασία XEDAR), αντίστοιχα [267]. Η κάθε ισόμορφη της EDA συνδέεται μόνο με τον υποδοχέα της [268]. Ο EDA2R, δεν έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με ενεργοποίηση του κανονικού σηματοδοτικού μονοπατιού του NF-κB και με την μορφογένεση εξαρτημάτων προερχόμενων από το εξώδερμα, όπως τα δόντια [262,269], αλλά αντίθετα ενεργοποιεί το μη-κανονικό μονοπάτι του NF-kB [270] διαδραματίζωντας ρόλο στην ομοιόσταση των σκελετικών μυών [271], δρώντας σαν ογκοκατασταλτικό γονίδιο στον ορθοκολικό καρκίνο, ως στόχος του γονιδίου p53 [272], ενώ η έκφρασή του έχει βρεθεί ότι είναι μειωμένη στον καρκίνο του μαστού λόγω υπερμεθυλίωσης του υποκινητή του [273]. Για τους παραπάνω λόγουςδεν θα αναλυθούν περαιτέρω ο EDA2R, όπως και η EDA2.

Ο EDAR αποτελείται από ένα σηματοδοτικό (signal) πεπτίδιο στο N-αμινοτελικό άκρο, τρεις περιοχές πλούσιες σε κυστεΐνη (CRDs), ένα διαμεμβρανικό τμήμα και μια ενδοκυττάρια περιοχή που ονομάζεται «περιοχή θανάτου» (death domain) (Εικόνα 3) [264]. Ο EDARADD περιέχει και αυτός «περιοχή θανάτου» ομόλογη του EDAR μέσω της οποίας συνδέεται με αυτόν [264].

Η έκφραση της EDA επάγεται από το σηματοδοτικό μονοπάτι της Wnt/β-κατενίνης μέσω της ενεργοποίησης του LEF-1 [274]. Η έκφραση του EDAR επάγεται από το σηματοδοτικό μονοπάτι της Wnt/β-κατενίνης, από παρακρινή σήματα από το υποκείμενο μεσέγχυμα και από αυτό-ρύθμιση, ενώ αναστέλλεται από την BMP-4 [274,275]. Είναι χαρακτηριστικό ότι η έκφραση της EDAR δε διατηρείται όταν εμβρυικοί ιστοί καλλιεργούνται απουσία του υποκείμενου μεσεγχύματος, δείχνοντας τη σημασία του τελευταίου στο μονοπάτι της EDA [274,276]. Η Ακτιβίνη-βΑ που συμμετέχει στη δημιουργία των δοντιών και των τριχών φαίνεται ότι ενεργοποιεί την EDAR, αν και μπορεί η τελευταία να μην είναι άμεσος στόχος της Ακτιβίνης-βΑ [277]. Ο EDAR εκφράζεται μόνο από επιθηλιακά κύτταρα, ενώ η EDA μόνο από επιθηλιακά στα αναπτυσσόμενα τριχοθυλάκια και στα δόντια, ενώ στους μαστικούς και σιαλογόνους αδένες εκφράζεται και σε μεσεγχυματικά και σε επιθηλιακά κύτταρα [278].

Με την ενεργοποίησή της η EDA διαρείται σε διαλυτό και μη διαλυτό μέρος στη θέση αποκοπής [279] από ειδική μεταλλοπρωτεϊνάση [280]. Το μονομερές διαλυτό μέρος που είναι αυτό που περιέχει την αλληλουχία THD, ενώνεται με άλλα αντίστοιχα και σχηματίζουν τριμερή τα οποία ενώνονται με τριμερή EDAR. Η ένωση αυτή προσελκύει το τριμερές EDARADD, το οποίο ενώνεται μέσω των «περιοχών θανάτου» με το τριμερές EDAR. Κατόπιν σχηματίζεται ένα σύμπλοκο αποτελούμενο από το τριμερές EDARADD και τις κυτοκίνες Traf6,Tak1 και Tab2, το οποίο ενεργοποιεί το σύμπλοκο κυτοκινών IKK1,IKK2 και NEMO. Το τελευταίο φωσφορυλιώνει την κινάση I-kB, απελευθερώνοντας έτσι τον μεταγραφικό παράγοντα NF-κB, ο οποίος κατευθύνεται προς τον πυρήνα για να ενεργοποιήσει τα μόρια στόχους [242,262] (Εικόνα 4).

Μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεϊνη NEMO μπορούν να προκαλέσουν HED με συνοδό ανοσοανεπάρκεια και πιθανώς οστεοπέτρωση [281], ενώ το ίδιο παρατηρείται σε μη φωσφορυλίωση της κινάσης I-kB [282]. Από τα παραπάνω φαίνεται ότι ο NF-kB είναι ο μοναδικός στόχος του σηματοδοτικού μονοπατιού EDA, χωρίς να υπάρχουν μέχρι στιγμής τεκμήρια που να αποκλέιουν ότι δεν είναι στόχοι και τα σηματοδοτικά μονοπάτια JNK και MAPK τα οποια ενεργοποιούνται από TNF [262].



Εικόνα 4 – Σηματοδοτικό μονοπάτι EDA [262]

Το σηματοδοτικό μονοπάτι EDA έχει σα μεταγραφικούς στόχους αρκετά γονίδια όπως βρέθηκε σε πρόσφατες ερευνητικές εργασίες των Lefebvre και συν [284] και Voutilainen και συν [285]. Τα κυριότερα, όμως, μόρια στόχοι που επάγει είναι ο EDAR [283], οι συνδέτες Wnt10a [275] και Wnt10b [286] που ενεργοποιούν το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt/β-κατενίνη, η DKK4 που αναστέλλει το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt/β-κατενίνη [287], το σηματοδοτικό μονοπάτι SHH [288], ο CCN2 (αυξητικός παράγοντας συνδετικού ιστού-connective tissue growth factor) [289], η φολιστατίνη [289] και ο Fgf20 (αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών 20-fibroblast growth factor20) [290] ενώ αναστέλλει τη δράση της BMP-4 [289].

III. Συμμετοχή στην οδοντογένεση

Σε μελέτες σε ποντίκια, μέσω in situ υβριδισμού, βρέθηκε ότι κατά την οδοντογένεση η EDA εκφράζεται στο στοματικό επιθήλιο και στην οδοντική ταινία, αλλά μειωμένη σε σχέση με το στοματικό επιθήλιο, ενώ στο στάδιο του οδοντοβλαστήματος η έκφραση της EDA χάνεται, αλλά παραμένει στο στοματικό επιθήλιο [274]. Στο πλήρες στάδιο του οδοντοβλαστήματος η EDA εκφράζεται στα βασικά κύτταρά του, αλλά δεν εκφράζεται στο σχηματιζόμενο αδαμαντινικό κόμβο (enamel knot) [274]. Στο στάδιο του κυπέλλου η EDA εκφράζεται στο έξω αδαμαντινικό επιθήλιο και παραμένει εκεί τόσο στο στάδιο του κώδωνα όσο και κατά την ανατολή των οδόντων [274]. Ο EDAR αντίστοιχα, δεν εκφράζεται στο στοματικό επιθήλιο, ενώ εκφράζεται στην οδοντική ταινία, στο στάδιο του οδοντοβλαστήματος στις περιοχές που αντιστοιχούν στον αδαμαντινικό κόμβο, όπου και παραμένει η έκφρασή του μέχρι και το στάδιο του κυπέλλου, ενώ στο στάδιο του κώδωνα παρατηρείται έκφραση στο έσω αδαμαντινικό επιθήλιο και ελάχιστη στο έξω αδαμαντινικό επιθήλιο [274]. Σε αντίστοιχα ευρήματα κατέληξαν και οι Tucker και συν [291] που μελέτησαν τα ίδια ζώα, Tabby και donwless, όπως και οι Laurikkala και συν [274]. Αντίθετα στα κουνάβια η έκφραση του EDAR περιορίζεται μόνο στον αδαμαντινικό κόμβο [292].

Μετάλλαξη του EDA έχει ως συνέπεια τη δημιουργία οδοντοβλαστήματος μικρότερου μεγέθους [293], ενώ σε μετάλλαξη του EDAR δε δημιουργείται αδαμαντινικός κόμβος, αλλά αδαμαντινικό «σκοινί» (enamel rope) [291]. Σε υπερκέκφραση της EDA παρατηρείται αύξηση του αριθμού των δοντιών και οι γομφίοι έχουν ανώμαλο σχήμα, ενώ διαταράσσεται ο σχηματισμός της αδαμαντίνης στους τομείς [294]. Σε υπερέκφραση του EDAR παρατηρείται αύξηση του αριθμού των δοντιών και αύξηση του αριθμού των φυμάτων με βαθιές αύλακες και αιχμηρές κοπτικές ακμές [295].

Τέλος το σηματοδοτικό μονοπάτι της EDA, βρέθηκε σε πρόσφατη ερευνητική εργασία των Fons Romero και συν [296], ότι συμμετέχει στο σχηματισμό της ρίζας του δοντιού ενώ μεταλλάξεις στο γονίδιο της EDA σχετίζονται με αυξημένη συχνότητα ταυροδοντισμού, μεγάλους πολφικούς θαλάμους και απώλεια ή καθυστερημένη εμφάνιση διχασμού ή τριχασμού των ριζών.

3. <u>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</u>

Α. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής μελέτης είναι η ανοσοϊστοχημική διερεύνηση και συγκριτική αξιολόγηση της έκφρασης και της μικροανατομικής κατανομής των μορίων EDA1 και EDAR σε οδοντογενείς κερατινοκύστεις.

B. Μέθοδος και υλικά

Η μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας και Έρευνας της Οδοντιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (Αριθμός Πρωτοκόλλου: 352_ 29/03/2018)

I. Υλικό μελέτης

Το υλικό της παρούσας μελέτης προέρχεται από το Ιστοπαθολογικό Αρχείο του Εργαστηρίου της Στοματολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η αναδρομική μελέτη του αρχείου τη χρονική περίοδο 2005-2016 ανέδειξε την ύπαρξη 164 συνολικά περιπτώσεων με διάγνωση οδοντογενούς κερατινοκύστης (ΟΚΚ) σε σύνολο 12.268 βιοψιών (1,3% επί του συνόλου). Δεν αποκλείσθηκαν ιστοτεμάχια από συμμετέχοντες στην έρευνα λόγω ηλικίας, φύλου ή εθνικής προέλευσης.

Η τελική επιλογή του υλικού μελέτης έγινε μετά από αξιολόγηση των στοιχείων που αναγράφονταν στα παραπεμπτικά των ιστολογικών εκθέσεων και ιστοπαθολογική επανεκτίμηση από δύο ανεξάρτητους ερευνητές (Τ.Π., Τ.Κ) αντιπροσωπευτικών τομών από κάθε περίπτωση πάχους 5μm με χρώση ρουτίνας αιματοξυλίνης-ηωσίνης, σύμφωνα με τα ακόλουθα κριτήρια:

- Απουσία από το ατομικό αναμνηστικό ιστορικού Συνδρόμου Σπιλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων ή/και υποτροπιάζουσας βλάβης.
- Απουσία φλεγμονής από το τοίχωμα της κύστης.
- Επάρκεια του υλικού.
- Επιβεβαίωση της ιστοπαθολογικής διάγνωσης σύμφωνα με την τελευταία ταξινόμηση των όγκων Κεφαλής και Τραχήλου του Παγκόσμιου Οργανισμού

Υγείας [1], σύμφωνα με την οποία τα βασικά ιστολογικά χαρακτηριστικά που πρέπει να πληρούνται είναι η ύπαρξη παρακερατίνης στιβάδας με κυματοειδή επιφάνεια, επιθήλιο πάχους 5 έως 8 στίχων κυττάρων, και κύτταρα βασικής στιβάδας πασσαλοειδώς διατεταγμένα και με βαθυχρωματικούς πυρήνες.

Το τελικό δείγμα της μελέτης συμπεριελάμβανε 30 ιστοτεμάχια με ιστοπαθολογική διάγνωση ΟΚΚ.

Για τη συγκριτική μελέτη επιλέχθησαν 10 ιστοτεμάχια με διάγνωση «οδοντοφόρος κύστη» (ΟΔΚ), τα οποία αφορούσαν στο χρονικό διάστημα 2013 – 2016. Η διάγνωση ΟΔΚ σε αυτά τα ιστοτεμάχια επιβεβαιώθηκε μετά από ιστοπαθολογική επανεκτίμηση από δύο ανεξάρτητους ερευνητές (Τ.Π., Τ.Κ) αντιπροσωπευτικών τομών από κάθε περίπτωση πάχους 5μm με χρώση ρουτίνας αιματοξυλίνης-ηωσίνης, με βάση την τελευταία ταξινόμηση των όγκων Κεφαλής και Τραχήλου του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας [1]. Επιλέγησαν οι περιπτώσεις εκείνες στις οποίες υπήρχε ταυτόχρνα επάρκεια υλικού και απουσία φλεγμονής από το τοίχωμα.

II. Κλινικά χαρακτηριστικά

Οι απαραίτητες κλινικές πληροφορίες λήφθησαν από τα παραπεμπτικά των ιστολογικών εκθέσεων, τα οποία συνόδευαν τα χειρουργικά παρασκευάσματα. Σύμφωνα με αυτά, 16/30 (53,3%) περιπτώσεις ΟΚΚ αφορούσαν σε άνδρες και 14/30 (46,7%) σε γυναίκες. Η ηλικία δεν αναγραφόταν στο παραπεμπτικό ιστολογικής εξέτασης δύο ασθενών, ενός άνδρα και μιας γυναίκας. Στις υπόλοιπες 28 περιπτώσεις, η μέση ηλικία των ασθενών ήταν 46,5±18,1 έτη (ηλικιακό εύρος: 15 – 81 έτη, διάμεση ηλικία: 46,5 έτη). Η μέση ηλικία των ανδρών ήταν 43,9±20,5 έτη (ηλικιακό εύρος: 15-81 έτη, διάμεση ηλικία: 45 έτη), ενώ η μέση ηλικία των γυναικών ήταν 49,4±14,3 έτη (ηλικιακό εύρος 20-70 έτη, διάμεση ηλικία:49 έτη). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέση ηλικία των δύο φύλων όπως προέκυψε από τον στατιστικό έλεγχο με τη δοκιμασία t-test ($p>0,05$)

Η εντόπιση δεν αναγραφόταν στο παραπεμπτικό ιστολογικής εξέτασης ενός ασθενούς. Στις υπόλοιπες 29 περιπτώσεις, η ΟΚΚ εντοπιζόταν στην κάτω γνάθο στο 82,8% των περιπτώσεων (24/29) και στην άνω γνάθο στο 17,2% των περιπτώσεων (5/29). Στους άνδρες ασθενείς οι ΟΚΚ εντοπίζονταν στο 75% των περιπτώσεων στην κάτω γνάθο (12/16) και στο 25% των περιπτώσεων (4/16) στην άνω γνάθο, ενώ στις γυναίκες οι ΟΚΚ εντοπίζονταν στην κάτω γνάθο στο 92,3% των περιπτώσεων (12/13) και στην άνω στο 7,7% των περιπτώσεων (1/13). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη γνάθο εντόπισης μεταξύ των δύο φύλων όπως προέκυψε από τον στατιστικό έλεγχο με τη δοκιμασία x^2 ($p>0,05$)

Οι 10 περιπτώσεις ΟΔΚ αντιστοιχούσαν σε 8 άνδρες (80%) και 2 γυναίκες (20%) ασθενείς. Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν τα 44,6±10,4 έτη (ηλικιακό εύρος: 21-60 έτη, διάμεση ηλικία: 48,5 έτη), ενώ η μέση ηλικία των ανδρών ήταν 44,9±11,5 έτη (ηλικιακό εύρος: 21-60 έτη, διάμεση ηλικία: 50 έτη) και η μέση ηλικία των γυναικών 43,5±3,5 έτη (ηλικιακό εύρος: 40 – 47 έτη, διάμεση ηλικία: 43,5 έτη). Λόγω του μικρού αριθμού γυναικών ασθενών, δεν ελέγχθηκε στατιστικά η διαφορά μεταξύ της μέσης ηλικίας των δύο φύλων. Η εντόπιση δεν αναγραφόταν στο παραπεμπτικό ιστολογικής εξέτασης ενός ασθενούς, ενώ όλες οι υπόλοιπες περιπτώσεις εντοπίζονταν στην κάτω γνάθο.

III. Μέθοδος ανοσοϊστοχημικής χρώσης

Προετοιμασία τομών μικροσκοπίου

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη πραγματοποιήθηκε σε ιστοτεμάχια μονιμοποιημένα σε υδατικό διάλυμα ουδέτερης φορμόλης 10% (4% φορμαλδεΰδη) και εγκλεισμένα σε κύβους παραφίνης (Diawax, Diapath, Martinengo, Italy), κατά τη συνήθη ιστολογική τεχνική [297]. Από κάθε περίπτωση κόπηκαν με μικροτόμο (Leica RM2145) 2 τομές πάχους 4μm, οι οποίες απλώθηκαν σε υδατόλουτρο (Tissue Bath, P/S, NBIT Y2K, Chicago 47, USA) ρυθμισμένο στους 62^{o}C για 1 λεπτό και στη συνέχεια επιστρώθηκαν σε ηλεκτροθετικά φορτισμένες αντικειμενοφόρες πλάκες (SuperFrost®Plus, Menzel-Glaser, D-38116 Braunschweig, 25*75*1.0 mm, Art No.J1800AMNZ), για την αποφυγή αποκόλλησης των τομών κατά την κατεργασία. Ακολούθως, οι τομές τοποθετήθηκαν σε κλίβανο ξηράς θερμότητας (Heratherm, Thermo Scientific, USA) για 1 ώρα στους 64^{o}C για τη σταθεροποίηση των ιστών στις αντικειμενοφόρες πλάκες και μετά αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου.

Αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν

Τα χαρακτηριστικά των αντισωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την πραγματοποίηση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης, παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3 - Χαρακτηριστικά των αντισωμάτων της παρούσας μελέτης

Αντίσωμα	**EDA1**	**EDAR**
Τύπος αντισωματος	Πολύκλωνο	Πολύκλωνο
Ξενιστής	Κουνέλι	Κουνέλι
Αραίωση	1:1000	1:100
Θετικός Μάρτυρας	Φυσιολογικός νεφρικός ανθρώπινος ιστός	Καρκίνος ωοθηκών
Εταιρεία	OriGene Technologies, Inc.	OriGene Technologies, Inc.
Αριθμός Καταλόγου	TA349124	TA321894

Πρωτόκολλο ανοσοϊστοχημείας

- Η αποπαραφίνωση και ενυδάτωση των τομών έγινε ως εξής: Οι τομές τοποθετήθηκαν σε κλίβανο ξηράς θερμότητας για 15 λεπτά στους 60°C και στη συνέχεια αποπαραφινώθηκαν μέσω ξυλόλης (εμβάπτιση 2 φορές, διάρκειας 10 λεπτά η φορά), ενώ η ενυδάτωση πραγματοποιήθηκε με διαδοχικές εμβαπτίσεις σε αιθανόλη 100% (2 φορές, 10 λεπτά η κάθε φορά) και αιθανόλη 95% (2 φορές, 10 λεπτά η κάθε φορά). Στη συνέχεια, ακολούθησαν εκπλύσεις με ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας Tris των 40ml που περιείχε Tween 20 (EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x concentrated), DAKO, K8007, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά και με απεσταγμένο νερό για άλλα 10 λεπτά.
- Η δέσμευση της δραστηριότητας της ενδογενούς υπεροξειδάσης έγινε με τοποθέτηση των τομών σε διάλυμα 3% H_2O_2 (5ml H_2O_2 σε 100 ml

απεσταγμένο νερό (Hydrogen Peroxide Block 30%, Merck, Darmstadt, Germany) σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά και ακολούθησε έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας Tris που περιείχε Tween 20 (EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x concentrated), DAKO, K8007, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.

- Η ανάκτηση της αντιγονικότητας έγινε με τοποθέτηση των τομών σε πλαστικά δοχεία που περιείχαν 20ml ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού με pH 9, (EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution (50x concentrated), DAKO, K8005, Agilent Technologies, USA) και επώαση σε φούρνο μικροκυμάτων για 20 λεπτά. Στη συνέχεια ακολούθησε ψύξη των τομών σε θερμοκρασία δωματίου για 20 λεπτά και ακολούθησε έκπλυσή τους με ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας Tris που περιείχε Tween 20 (EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x concentrated), DAKO, K8007, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.
- Για την ανοσοϊστοχημική χρώση, κάθε πρωτογενές αντίσωμα εμβαπτίστηκε στο συγκεκριμένο για το αντίσωμα διάλυμα (EnVision™ FLEX Antibody Diluent, DAKO, K8006, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 1 λεπτό. Στη συνέχεια οι τομές χρώστηκαν με τα πρωτογενή αντισώματα σε κατάλληλη αραίωση (EDA1 1:1000, EDAR 1:100) και επωάσθηκαν όλη τη νύχτα σε θερμοκρασία 4°C. Την επόμενη μέρα έγινε έκπλυση των τομών με ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας Tris που περιείχε Tween 20 (EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x concentrated), DAKO, K8007, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Ακολούθως, έγινε επώαση των ιστών με το έτοιμο για χρήση δευτερογενές ρυθμιστικό διάλυμα που περιείχε σταθεροποιητική πρωτεΐνη και

αντιμικροβιακό παράγοντα (EnVision™ FLEX+ Rabbit (LINKER), DAKO, K8019, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά και στη συνέχεια έκπλυση με το ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας Tris που περιείχε Tween 20 (EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x concentrated), DAKO, K8007, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.

- Στη συνέχεια, έγινε επώαση των τομών με το EnVision Flex+ (DAKO, K8002, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 25-30 λεπτά και ακολούθησε έκπλυση των τομών με το ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας Tris που περιείχε Tween 20 (EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x concentrated), DAKO, K8007, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.
- Κατόπιν οι τομές επωάστηκαν με 1-2 σταγόνες διαλύματος χρωμογόνου 3,3′, τετραϋδροχλωρικής διαμινοβενζιδίνης (DAB) (EnVision™ FLEX DAB+ Chromogen (DM827) σε 100ml EnVision™ FLEX Substrate Buffer (DM823), DAKO, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά και ακολούθησε έκπλυση των τομών με το ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας Tris που περιείχε Tween 20 (EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x concentrated), DAKO, K8007, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά και κατόπιν με τρεχούμενο νερό βρύσης για 10 λεπτά. Στη συνέχεια, οι τομές τοποθετήθηκαν για αντίχρωση σε πρόσφατο διάλυμα αιματοξυλίνης GIll (vo2) σε θερμοκρασία δωματίου για 1 λεπτό.
- Η αφυδάτωση των τομών έγινε με διαδοχικές εμβαπτίσεις σε διαλύματα αιθανόλης 70%, 80%, 95% και 100% από 1 λεπτό για την κάθε περιεκτικότητα και ακολούθως σε ξυλόλη θερμοκρασίας δωματίου για 2

λεπτά. Η τεχνική ολοκληρώθηκε με την κάλυψη των τομών με το ειδικό υλικό επικάλυψης mounting solution και την τοποθέτηση καλυπτρίδας.

Αξιολόγηση ανοσοϊστοχημικής χρώσης

Η αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης έγινε ανεξάρτητα από δύο ερευνητές (Τ.Π, Τ.Κ). Στις περιπτώσεις που υπήρχε διαφωνία ακολουθούσε συζήτηση της περίπτωσης και από τους δύο ερευνητές, με τελική κοινή συμφωνία.

Ο θετικός μάρτυρας για το EDA1 ήταν φυσιολογικός νεφρικός ιστός ανθρώπου, ενώ για το EDAR ιστός καρκίνου ωοθηκών. Οι θετικοί αυτοί μάρτυρες είναι αυτοί που προτείνονται από την εταιρεία που προμήθευσε τα αντισώματα (OriGene Technologies, Inc). Δε βρέθηκε καμία μελέτη στη βιβλιογραφία να εξετάζει ανοσοϊστοχημικά την έκφραση των EDA1 και EDAR στους θετικούς αυτούς μάρτυρες. Σημειώνεται πως ο καρκίνος των ωοθηκών δε σχετίζεται με μεταλλάξεις στο γονίδιο της EDA [298].

Η αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης και για τα δύο αντισώματα πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το προτεινόμενο από τους Vered και συν [186] σύστημα αξιολόγησης, με βάση το οποίο αξιολογείται η έκταση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης ως εξής:

- 0 - καθόλου χρώση
- 1 - χαμηλή (1% -10% των κυττάρων)
- 2 -ενδιάμεση (11% -50% των κυττάρων)
- 3 - υψηλή (>50% των κυττάρων)

Η αξιολόγηση έγινε χωριστά για τη βασική στιβάδα, την παραβασική στιβάδα (1-2 στίχοι κυττάρων άνωθεν της βασικής στιβάδας) και τέλος για τις υπόλοιπες στιβάδες του επιθηλίου. Το τελικό «σκορ» για την κάθε κύστη προέκυψε από το άθροισμα των προαναφερθέντων τριών επιμέρους «σκορ».

Με βάση τη μοναδική δημοσιευμένη εργασία στην οποία αξιολογήθηκε η ανοσοϊσοχημική έκφραση των EDA1 και EDAR [299] και γνωρίζοντας ότι οι EDA1 και EDAR εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων [242], αξιολογήθηκε ως θετική μόνο η κυτταροπλασματική έκφραση των παραπάνω πρωτεϊνών. Τα αντισώματα στη μελέτη των Sisto και συν [299] αναγνωρίζουν επίτοπο που αντιστοιχεί στο C- αμινοτελικό άκρο των EDA1 και EDAR, ενώ τα αντισώματα της παρούσας μελέτης αναγνωρίζουν το μεν EDA1 περιοχή 19 αμινοξέων κοντά στο κέντρο της πρωτεΐνης ενώ το EDAR μια αλληλουχία 148-161 αμινοξέων, χωρίς να διευκρινίζεται σε ποιο σημείο του υποδοχέα. Τα αντισώματα της εργασίας των Sisto και συν [299] δεν ήταν εμπορικά διαθέσιμα τη χρονική περιόδο πραγματοποίησης της ερευνητικής αυτής εργασίας.

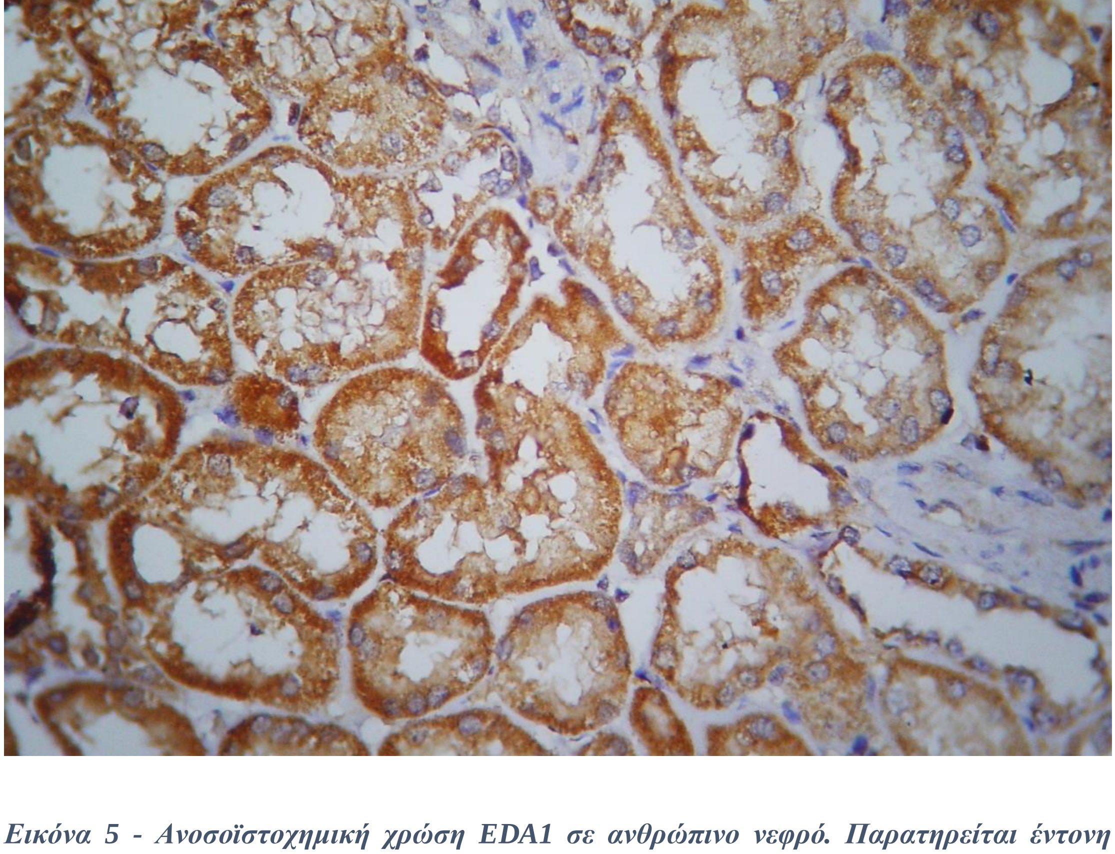
Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS V23.0.0 (SPSS Inc., Chicago) για Windows 10. Για τον έλεγχο κανονικότητας των συνεχών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο κανονικότητας Shapiro – Wilk. Για την στατιστική ανάλυση των συνεχών μεταβλητών σε δύο υποομάδες που ακολουθούν την κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία t-test, η δοκιμασία Mann – Whitney U – test (2-tailed) όταν η κατανομή δεν ήταν κανονική, ενώ η δοκιμασία Kruskal – Wallis test χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση ποσοτικών μεταβλητών σε 3 υποομάδες με μη κανονική κατανομή. Για τον έλεγχο ύπαρξης συσχέτισης των ποιοτικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία X^2. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίσθηκε στο $p<0.05$.

Γ.Αποτελέσματα

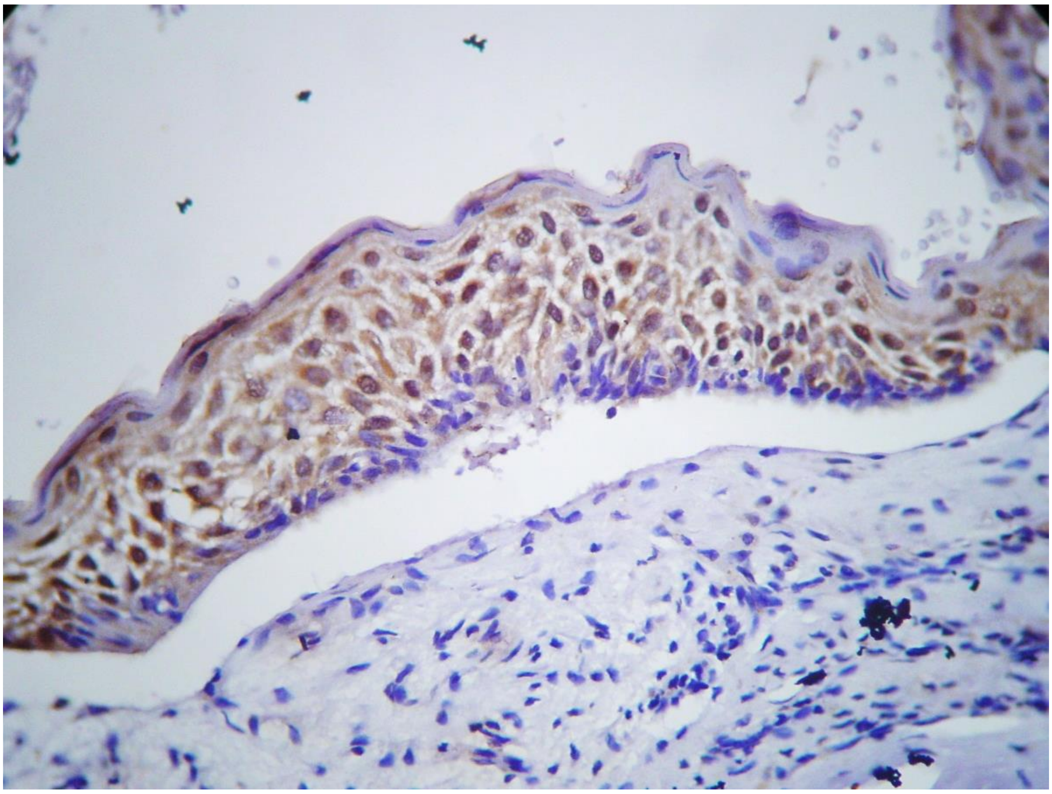
I. Ανοσοϊστοχημική έκφραση EDA1

Η έκφραση της EDA1 στον θετικό μάρτυρα (Εικόνα 5) ήταν έντονη, κυτταροπλασματική και περιοριζόταν στα επιθηλιακά κύτταρα των σωληναρίων. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε κύτταρα ή στη μεσοκυττάρια ουσία του συνδετικού ιστού, ή στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

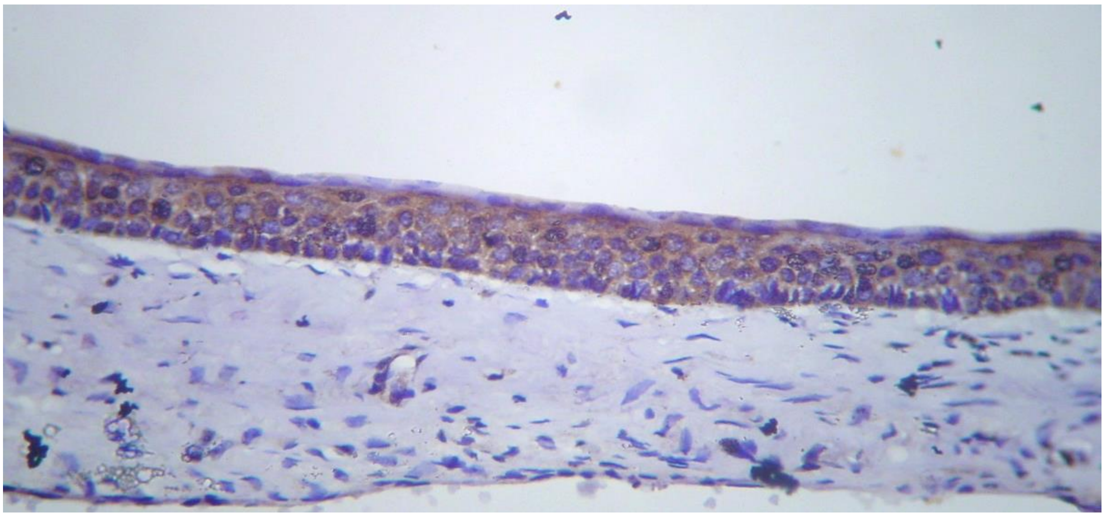


Εικόνα 5 - Ανοσοϊστοχημική χρώση EDA1 σε ανθρώπινο νεφρό. Παρατηρείται έντονη κυτταροπλασματική χρώση που περιορίζεται στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων (ανοσοϊστοχημική χρώση EDA1, αρχική μεγένθυνση x400)

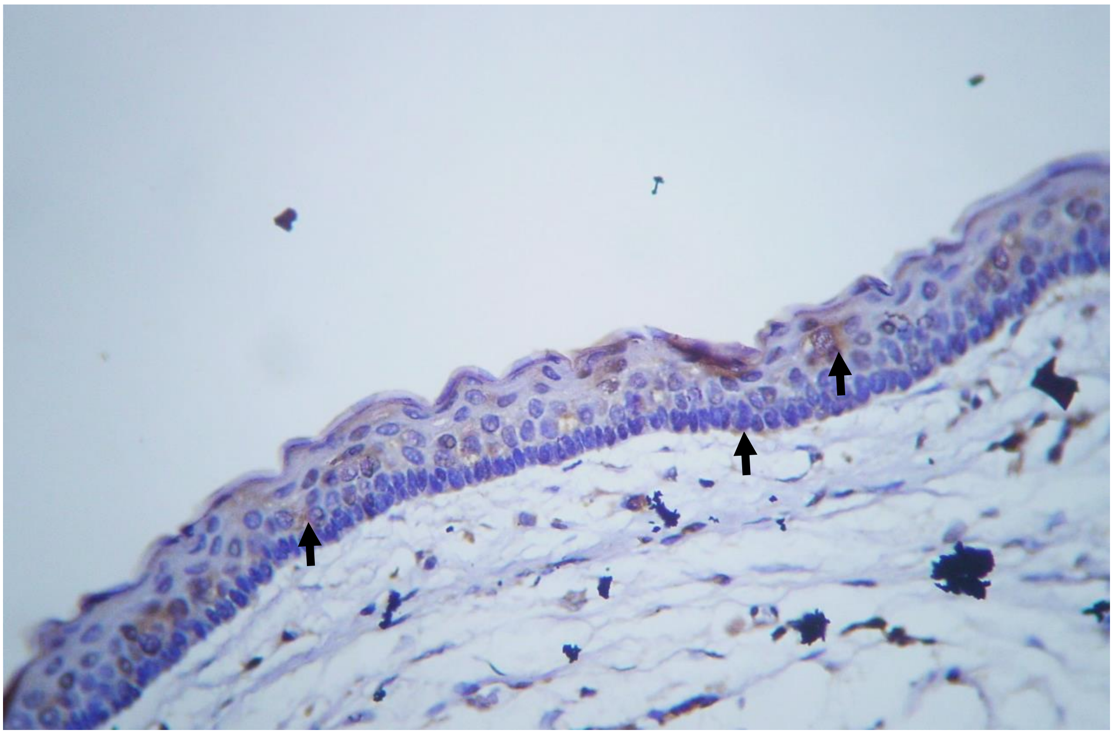
Η EDA1 εκφραζόταν σε 30/30 ΟΚΚ (Εικόνες 6 -8) και σε 10/10 ΟΔΚ (Εικόνα 9). Η EDA1 εκφραζόταν μόνο στο επιθήλιο, ενώ δεν παρατηρήθηκε χρώση στο συνδετικό ιστό, στα ενδοθηλιακά κύτταρα και σε διάσπαρτα φλεγμονώδη κύτταρα. Στις ΟΚΚ, 1/30 περιπτώσεις είχε μόνο κυτταροπλασματική χρώση, ενώ 29/30 περιπτώσεις είχαν κυτταροπλασματική και εστιακά πυρηνική χρώση. Στις ΟΔΚ, σε 5/10 περιπτώσεις η χρώση ήταν μόνο κυτταροπλασματική και σε 5/10 κυτταροπλασματική και εστιακά πυρηνική. Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της αξιολόγησης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης της κάθε περίπτωσης ενώ η μέση τιμή της EDA1 ανά στιβάδα και ανά είδος κύστης παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.



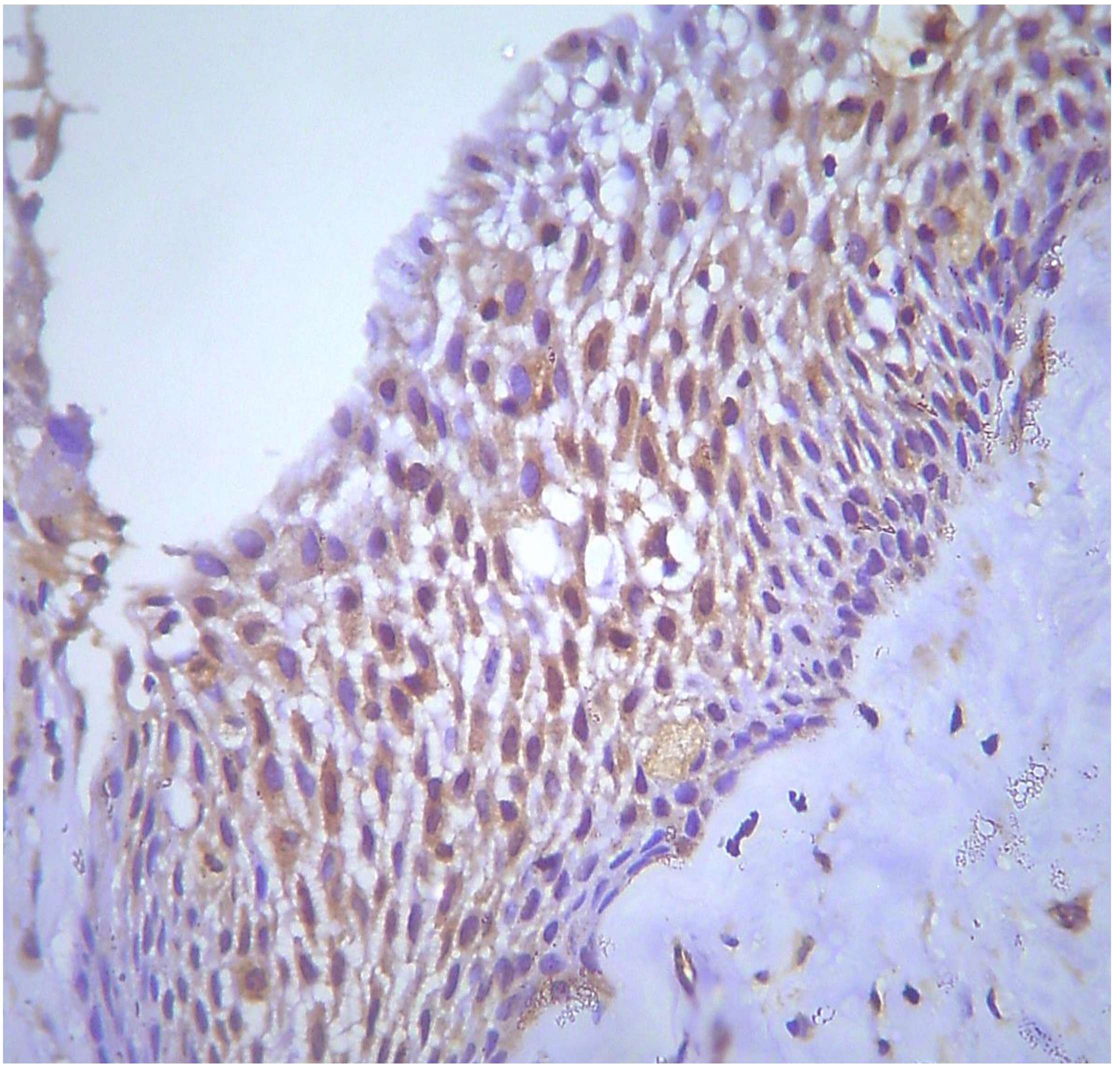
Εικόνα 6- Ανοσοϊστοχημική χρώση EDA1 σε ΟΚΚ. Στη συγκεκριμένη φωτογραφία παρατηρείται έντονη κυτταροπλασματική χρώση σε περισσότερα του 50% των κυττάρων (σκορ 3) στη παραβασική και στις ανώτερες στιβάδες και απουσία χρώσης στα κύτταρα της βασικής στιβάδας (σκορ 0) (ανοσοϊστοχημική χρώση EDA1, αρχική μεγένθυνση x400)



Εικόνα 7 - Ανοσοϊστοχημική χρώση EDA1 σε ΟΚΚ. Στη συγκεκριμένη φωτογραφία παρατηρείται έντονη κυτταροπλασματική χρώση σε περισσότερα του 50% των κυττάρων (σκορ 3) σε όλες τις επιθηλιακές στιβάδες (ανοσοϊστοχημική χρώση EDA1, αρχική μεγένθυνση x400)



Εικόνα 8 - Ανοσοϊστοχημική χρώση EDA1 σε ΟΚΚ. Στη συγκεκριμένη φωτογραφία παρατηρείται κυτταροπλασματική χρώση σε λιγότερο του 10% των κυττάρων (σκορ 1) (επισημαίνονται με μαύρα βέλη ενδεικτικά κύτταρα με κυτταροπλασματική χρώση) σε όλες τις στιβάδες του επιθηλίου (ανοσοϊστοχημική χρώση EDA1, αρχική μεγένθυνση x400)



Εικόνα 9 - Ανοσοϊστοχημική χρώση EDA1 σε ΟΔΚ. Στη συγκεκριμένη φωτογραφία παρατηρείται κυτταροπλασματική χρώση σε λιγότερο του 10% των κυττάρων (σκορ 1) στα κύτταρα της βασικής στιβάδας, χρώση σε λιγότερο του 50% των κυττάρων της παραβασικής τιβάδας (σκορ 2) και περισσότερο του 50% (σκορ 3) στα κύτταρα των υπόλοιπων στιβάδων (ανοσοϊστοχημική χρώση EDA1, αρχική μεγένθυνση x400)

Πίνακας 4 - Αναλυτικά δεδομένα αξιολόγησης ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της EDA1 σε Οδοντογενείς Κερατινοκύστεις (ΟΚΚ) και Οδοντοφόρες Κύστεις (ΟΔΚ) σύμφωνα με το προτεινόμενο από τους Vered και συν [186] σύστημα αξιολόγησης

Είδος βλάβης	**Βασική Στιβάδα**	**Παραβασική Στιβάδα**	**Υπόλοιπες Στιβάδες**	**Συνολικό Σκορ**	**Εντόπιση ανοσοϊστοχημικής χρώσης**
ΟΚΚ νο1	1	2	2	5	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 2	1	2	2	5	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 3	1	2	2	5	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 4	2	2	2	6	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 5	0	1	1	2	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 6	3	3	3	9	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 7	1	2	2	5	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 8	2	2	3	7	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 9	1	2	2	5	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 10	3	3	3	9	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 11	2	3	3	8	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 12	1	2	3	6	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 13	2	3	3	8	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 14	2	2	3	7	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 15	1	1	1	3	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 16	1	2	2	5	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 17	1	2	2	5	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική

ΟΚΚ νο 18	3	3	3	6	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 19	3	3	3	9	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 20	1	2	2	5	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 21	3	3	3	9	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 22	2	3	3	8	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 23	1	2	2	5	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 24	2	3	3	8	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 25	2	3	3	8	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 26	2	2	2	6	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 27	1	2	2	5	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 28	2	3	3	8	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 29	2	3	3	8	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 30	2	3	3	8	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 1	3	3	3	9	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 2	3	3	3	9	Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 3	3	3	3	9	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 4	1	1	1	3	Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 5	2	2	2	6	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 6	1	1	1	3	Κυτταροπλασματική

ΟΔΚ νο 7	2	2	2	6	Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 8	2	2	2	6	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 9	3	3	3	9	Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 10	2	2	2	6	Πυρηνική-Κυτταροπλασματική

Πίνακας 5 – Συγκεντρωτικά αποτελέσματα ανοσοϊστοχημικής αξιολόγησης της EDA1 σε ΟΚΚ και ΟΔΚ

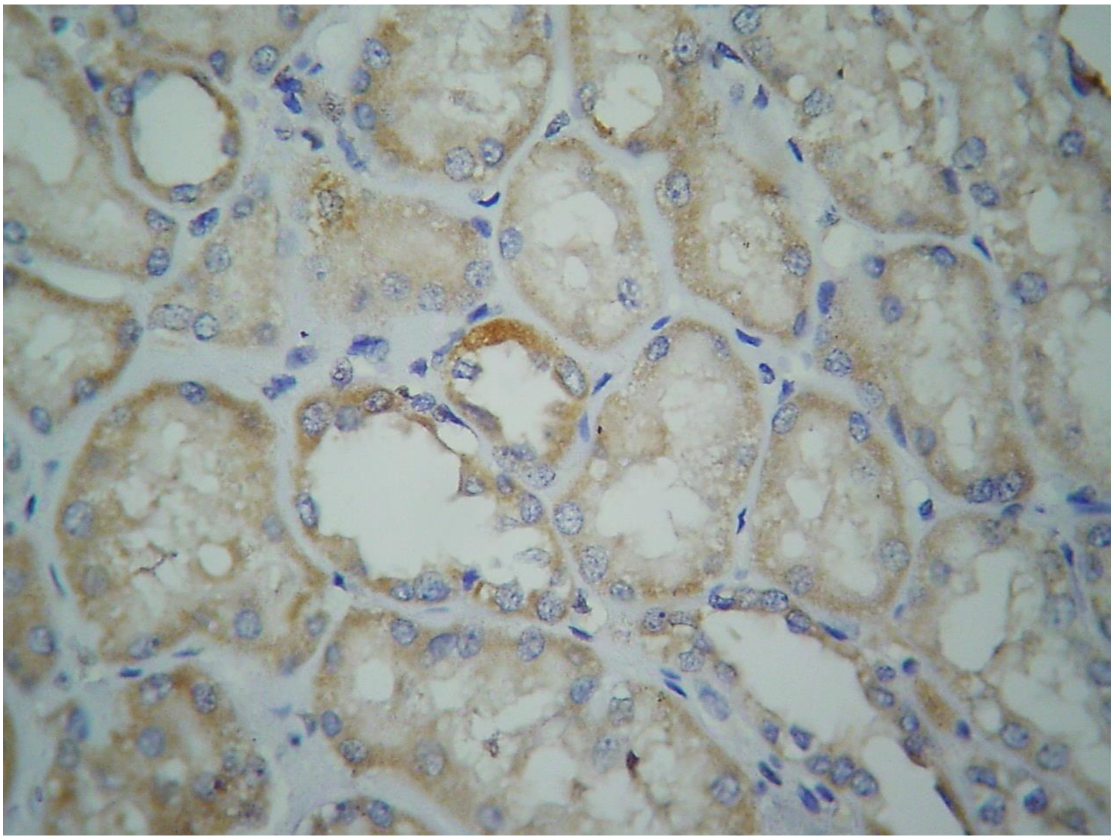
Είδος βλάβης	**Βασική στιβάδα**	**Παραβασική στιβάδα**	**Λοιπές στιβάδες**	**Συνολικό Σκορ**
ΟΚΚ	1,7±0,8	2,3±0,6	2,4±0,6	6,4±1,9
ΟΔΚ	2,2±0,7	2,2±0,7	2,2±0,7	6,6±2,2

Η μέση έκφραση της EDA1 στη βασική στιβάδα του επιθηλίου των ΟΚΚ ήταν μικρότερη από την έκφραση στην παραβασική και στις υπόλοιπες στιβάδες, με τη διαφορά αυτή να είναι στατιστικά σημαντική ($p<0,05$). Δε βρέθηκε διαφορά στην έκφραση της EDA1 μεταξύ των στιβάδων του επιθηλίου των ΟΔΚ, καθώς και μεταξύ του συνόλου στιβάδων των δύο κύστεων.

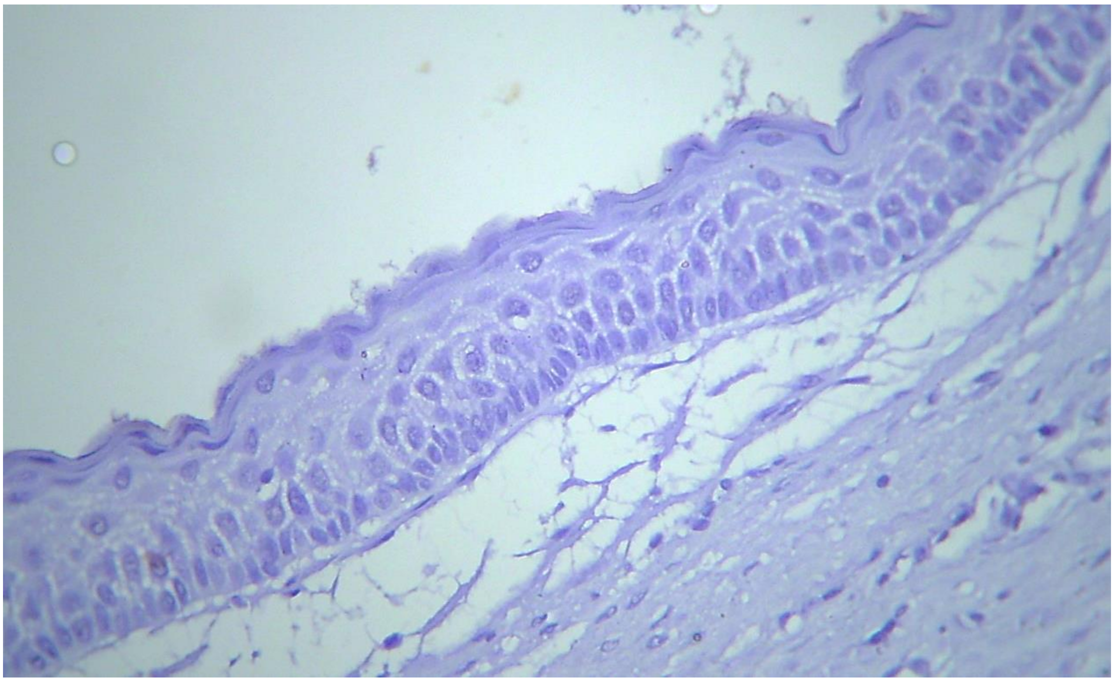
II. Ανοσοϊστοχημική έκφραση EDAR

Η έκφραση του EDAR στον θετικό μάρτυρα (Εικόνα 10) ήταν έντονη, κυτταροπλασματική και περιοριζόταν στα επιθηλιακά κύτταρα των αδενικών κυττάρων. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε κύτταρα ή στην εξωκυττάρια ουσία του συνδετικού ιστού, καθώς και στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

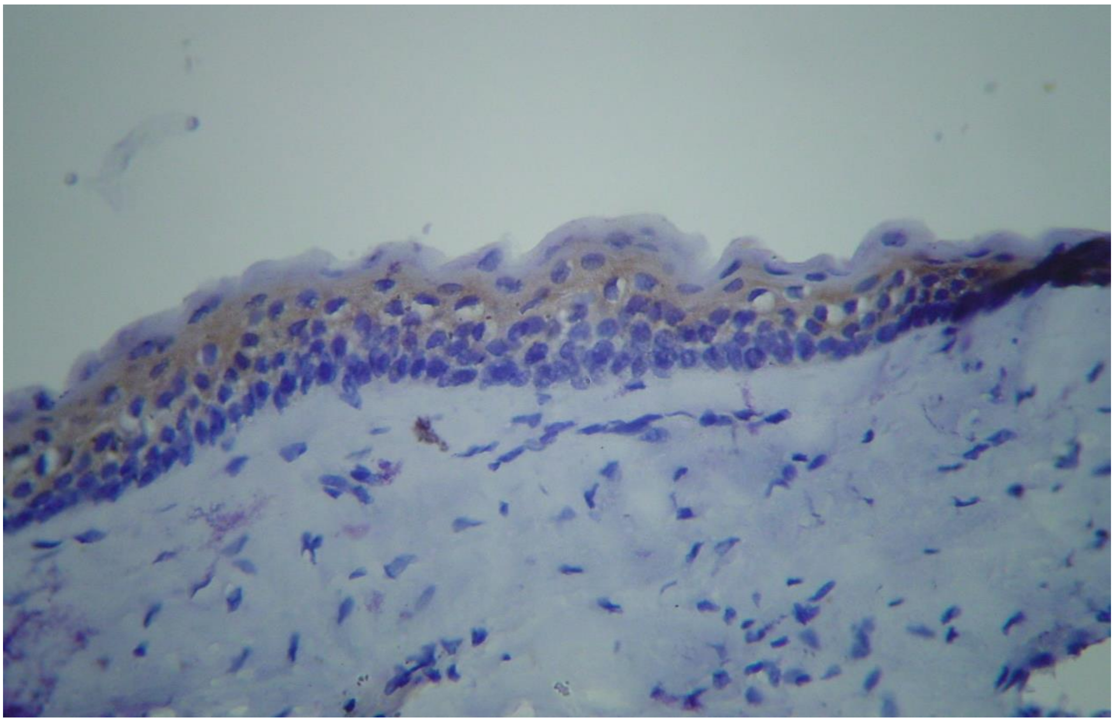
Ο EDAR αξιολογήθηκε σε 21 ΟΚΚ (Εικόνες 11,12) και σε 5 ΟΔΚ (Εικόνα 13), καθώς λόγω περιορισμών στη χρήση του αντισώματος επιλέχθησαν οι ΟΚΚ και ΟΔΚ με την εντονότερη έκφραση EDA1. Σε όλες τις περιπτώσεις, ο EDAR είχε μόνο κυτταροπλασματική έκφραση. Σε 7/21 ΟΚΚ παρατηρήθηκε μη-ειδική χρώση της κερατίνης εντός της κυστικής κοιλότητας, πιθανώς από διασταυρούμενη αντίδραση. Δεν παρατηρήθηκε χρώση στο συνδετικό ιστό, στα ενδοθηλιακά κύτταρα και σε διάσπαρτα φλεγμονώδη κύτταρα Τα αποτελέσματα της ανοσοϊστοχημικής αξιολόγησης παρουσιάζονται στον Πίνακα 6, ενώ η μέση τιμή της EDAR ανά στιβάδα και ανά είδος κύστης παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.



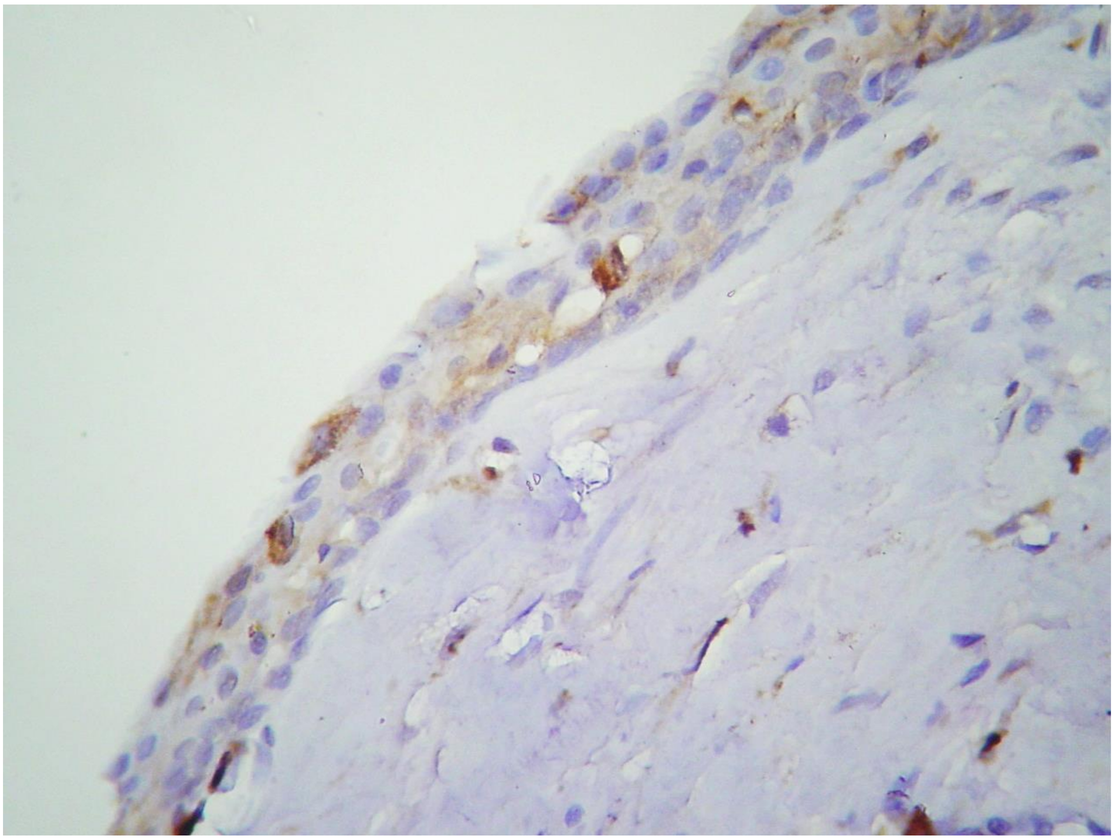
Εικόνα 10 - Ανοσοϊστοχημική χρώση EDAR σε καρκίνο ωοθηκών. Παρατηρείται έντονη κυτταροπλασματική χρώση που περιορίζεται στα επιθηλιακά κύτταρα των αδενίων (ανοσοϊστοχημική χρώση EDAR, αρχική μεγένθυνση x400)



Εικόνα 11 - Ανοσοϊστοχημική χρώση EDAR σε ΟΚΚ. Παρατηρείται απουσία ανοσοϊστοχημικής έκφρασης (σκορ 0) του EDAR σε όλες τις στιβάδες του επιθηλίου ΟΚΚ (ανοσοϊστοχημική χρώση EDAR, αρχική μεγένθυνση x400)



Εικόνα 12- Ανοσοϊστοχημική χρώση EDAR σε ΟΚΚ. Παρατηρείται απουσία ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του EDAR (σκορ 0) στην βασική και παραβασική στιβάδα του επιθηλίου ΟΚΚ και κυτταροπλασματική έκφραση σε περισσότερο του 50% των κυττάρων (σκορ 3) στις υπόλοιπες στιβάδες (ανοσοϊστοχημική χρώση EDAR, αρχική μεγένθυνση x400)



Εικόνα 13- Ανοσοϊστοχημική χρώση EDAR σε ΟΔΚ. Παρατηρείται κυτταροπλασματική έκφραση σε λιγότερο του 10% των κυττάρων (σκορ 1) σε όλες τις επιθηλιακές στιβάδες, ελαφρώς εντονότερη στις ανώτερες στιβάδες του επιθηλίου (ανοσοϊστοχημική χρώση EDAR, αρχική μεγένθυνση x400)

Πίνακας 6 - Αναλυτικά δεδομένα αξιολόγησης ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του EDAR σε Οδοντογενείς Κερατινοκύστεις (ΟΚΚ) και Οδοντοφόρες Κύστεις (ΟΔΚ) σύμφωνα με το προτεινόμενο από τους Vered και συν [186] σύστημα αξιολόγησης

Είδος βλάβης	**Βασική Στιβάδα**	**Παραβασική Στιβάδα**	**Υπόλοιπες Στιβάδες**	**Συνολικό Σκορ**	**Εντόπιση ανοσοϊστοχημικής χρώσης/ Λοιπές πληροφορίες**
ΟΚΚ νο1	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 2	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 3	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 4	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 5	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 6	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική / Χρώση κερατίνης
ΟΚΚ νο 7	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική / Χρώση κερατίνης
ΟΚΚ νο 8	0	2	2	**4**	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 9	0	1	1	**1**	Κυτταροπλασματική / Χρώση κερατίνης
ΟΚΚ νο 10	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική / Χρώση κερατίνης
ΟΚΚ νο 11	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 12	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 13	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 14	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική

ΟΚΚ νο 15	0	2	2	**4**	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 16	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική / Χρώση κερατίνης
ΟΚΚ νο 17	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 18	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική / Χρώση κερατίνης
ΟΚΚ νο 19	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική
ΟΚΚ νο 20	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική / Χρώση κερατίνης
ΟΚΚ νο 21	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 1	0	1	1	**2**	Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 2	0	1	1	**2**	Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 3	1	2	2	**5**	Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 4	1	2	2	**5**	Κυτταροπλασματική
ΟΔΚ νο 5	0	0	0	**0**	Κυτταροπλασματική

Πίνακας 7 - Συγκεντρωτικά αποτελέσματα ανοσοϊστοχημικής αξιολόγησης του EDAR σε ΟΚΚ και ΟΔΚ

Είδος βλάβης	**Βασική στιβάδα**	**Παραβασική στιβάδα**	**Λοιπές στιβάδες**	**Συνολικό Σκορ**
ΟΚΚ	0	0,2±0,6	0,2±0,6	0,5±1,2
ΟΔΚ	0,4±0,5	1,2±0,7	1,2±0,7	2,8±1,9

Η μέση έκφραση του EDAR δε διέφερε σε στατιστικά σηματικό βαθμό μεταξύ των στιβάδων του επιθηλίου των ΟΚΚ και μεταξύ των στιβάδων του επιθηλίου των ΟΔΚ. Επίσης, η μέση έκφραση του EDAR στη βασική στιβάδα του επιθηλίου των ΟΚΚ δε διέφερε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό από εκείνη στη βασική στιβάδα του επιθηλίου των ΟΔΚ. Αντίθετα, η μέση έκφραση του EDAR τόσο στην παραβασική όσο και στις λοιπές στιβάδες αλλά και στο σύνολο των στιβάδων του επιθηλίου (συνολικό σκορ), διέφερε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ($p<0,05$) μεταξύ ΟΚΚ και ΟΔΚ.

Δ.Συζήτηση

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας ήταν η ανοσοϊστοχημική διερεύνηση και συγκριτική αξιολόγηση της έκφρασης και της μικροανατομικής κατανομής των μορίων EDA1 και EDAR σε οδοντογενείς κερατινοκύστεις.

Το σηματοδοτικό μονοπάτι της EDA διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην οδοντογένεση [242,262,274] και μεταλλάξεις τόσο στην EDA όσο και στον υποδοχέα της τον EDAR έχουν συσχετιστεί τόσο με ανωμαλίες ως προς το σχήμα, το μέγεθος των δοντιών και τη μορφολογία των φυμάτων [242,262,294,295], όσο και με πρόκληση μη συνδρομικής ολιγοδοντίας [254-257]. Τόσο η EDA όσο και ο EDAR σε πειράματα σε ποντίκια βρέθηκε με χρήση in situ υβριδισμού ότι εκφράζονται στην οδοντική ταινία [274,291], επιθήλιο από το οποίο θεωρείται ότι προέρχεται η ΟΚΚ [1]. Ακόμη, στόχος του σηματοδοτικού μονοπατιού της EDA είναι το σηματοδοτικό μονοπάτι SHH [288], το οποίο φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της ΟΚΚ [147,157,159]. Με βάση τις παραπάνω παρατηρήσεις, θεωρήθηκε σκόπιμο να αξιολογηθεί η έκφραση της EDA και του υποδοχέα της σε ΟΚΚ μέσω της μεθόδου της ανοσοϊστοχημείας, μιας καλά δοκιμασμένης μεθόδου που δίνει πληροφορίες όχι μόνο για την παρουσία ή όχι του υπό μελέτη αντισώματος, αλλά και για την μικροανατομική κατανομή του [300].

Το δείγμα της παρούσας μελέτης αποτελείτο από ιστολογικά τεκμηριωμένες ΟΚΚ [1] ενώ με βάση τα παραπεμπτικά ιστολογικής εξέτασης όλες οι περιπτώσεις ήταν πρωτοπαθείς μη υποτροπιάζουσες βλάβες και δεν αφορούσαν σε ασθενείς με ΣΣΒΚ. Ο λόγος του αποκλεισμού αυτών των περιπτώσεων από την παρούσα μελέτη είναι το γεγονός ότι οι πρωτοπαθείς ΟΚΚ παρουσιάζουν διαφορές τόσο σε ιστολογικό [55-58] όσο και σε γονιδιακό επίπεδο [159] σε σύγκριση με υποτροπιάζουσες και τις συνδρομικές ΟΚΚ και λόγω του πρωτοτύπου της μελέτης, επιλέχθηκε να αξιολογηθεί η έκφραση της EDA1 και του EDAR μόνο σε αυτές τις περιπτώσεις. Κατά την επιλογή του δείγματος, επελέγησαν επίσης μόνο ΟΚΚ που δεν εμφάνιζαν φλεγμονή στο τοίχωμα, προκειμένου να αποφευχθούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα κατά την αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης [301]. Το 53,3% του δείγματος προερχόταν από άνδρες ασθενείς και το 46,7% από γυναίκες, ποσοστό το οποίο συμφωνεί με την αναλογία της ΟΚΚ σε άνδρες (54%) και γυναίκες (46%) στον Ελληνικό πληθυσμό [33]. Η μέση ηλικία του συνόλου των ασθενών του δείγματος ήταν 46,5±18,1 έτη, παραπλήσια με τη μέση ηλικία των ασθενών με ΟΚΚ στον Ελληνικό πληθυσμό (42,8±18,7 έτη), ενώ το ίδιο ίσχυε για τη μέση ηλικία των ανδρών (43,9±20,5 έτη) και γυναικών (49,4±14,3 έτη) του δείγματος με τις αντίστοιχες μέσες ηλικίες ανδρών (45±18,3 έτη) και γυναικών (40,2±18,9 έτη) με ΟΚΚ στο σύνολο του Ελληνικού πληθυσμού [33]. Στο παρόν δείγμα η πλειοψηφία των ΟΚΚ (82,8%) εντοπίζονταν στην κάτω γνάθο, ποσοστό ελαφρώς αυξημένο αλλά παραπλήσιο του ποσοστού των ΟΚΚ στην κάτω γνάθο (72%) στον Ελληνικό πληθυσμό [33]. Τα σχεδόν ταυτόσημα επιδημιολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά του δείγματος με τα αντίστοιχα που έχουν βρεθεί στον Ελληνικό πληθυσμό [33] πιστοποιούν ότι το δείγμα της παρούσας μελέτης είναι αντιπροσωπευτικό.

Ο λόγος της επιλογής της ΟΔΚ ως μάρτυρα στην παρούσα μελέτη έγινε επειδή ανήκει στην κατηγορία των αναπτυξιακών οδοντογενών κύστεων, όπως και η ΟΚΚ και λόγω της αυξημένης συχνότητάς της στο σύνολο των κύστεων (αποτελώντας τη δεύτερη σε συχνότητα οδοντογενή κύστη μετά την ακρορριζική κύστη) [21] που καθιστούσε εύκολη την επιλογή περιπτώσεων.

Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν αντισώματα για την πρωτεΐνη EDA1 και τον υποδοχέα της, τον EDAR, η μελέτη των οποίων δεν έχει αναφερθεί σε προηγούμενη ερευνητική εργασία στη διεθνή βιβλιογραφία. Η επιβεβαίωση της λειτουργικότητας των αντισωμάτων έγινε μέσω της θετικής έκφρασής τους μόνο στο κυτταρόπλασμα των επιθηλιακών κυττάρων των θετικών μαρτύρων [242,299] που πρότεινε η εταιρεία από την οποία προμηθεύτηκαν τα αντισώματα (Πίνακας 3).

Η παρουσία ανοσοϊστοχημικής χρώσης της EDA1 στον πυρήνα των κυττάρων ήταν ένα μη αναμενόμενο εύρημα εξαιτίας της κυτταροπλασματικής εντόπισης [242] και έκφρασης [299] της πρωτεϊνης EDA1. Δεν υπάρχουν άλλες μελέτες στη βιβλιογραφία που να έχουν χρησιμοποιήσει το ίδιο αντίσωμα, οπότε είναι πιθανόν να υπάρχουν και άλλοι επίτοποι οι οποίοι εβρίσκονται εντός του πυρήνα και αναγνωρίζονται από το αντίσωμα αυτό (cross – reaction) [302]. Δεν υπάρχουν αναφορές στη βιβλιογραφία για εντόπιση της EDA στον πυρήνα του κυττάρου.

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, συνηγορούν υπέρ της μη συμμετοχής του σηματοδοτικού μονοπατιού της EDA στην παθογένεση της ΟΚΚ, με βάση την απουσία έκφρασης του υποδοχέα της EDA, του EDAR καθ’όσον δεν υπάρχει εναλλακτική οδός μετάδοσης του σήματος της EDA1 πέρα από τη σύνδεση με τον υποδοχέα της [242,252,262,264]. Με βάση τα μέχρι στιγμής δεδομένα από τη διεθνή βιβλιογραφία και τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, φαίνεται ότι η έκφραση της EDA και η απουσία έκφρασης του EDAR υποδεικνύουν την προέλευση της ΟΚΚ από την οδοντική ταινία. Σε μελέτες σε ποντίκια [274,291] βρέθηκε μέσω in-situ υβριδισμού ότι η EDA εκφράζεται στο επιθήλιο της οδοντικής ταινίας. Το ίδιο ισχύει και για τον EDAR [274,291], εύρημα όμως που έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης. Εντούτοις, στις προαναφερθείσες μελέτες, επί απουσίας Ακτιβίνης-βΑ η οποία προέρχεται από κύτταρα του μεσεγχύματος δεν υπήρχε έκφραση του EDAR [274,291]. Από τα παραπάνω ευρήματα συμπεραίνεται ότι η έκφραση του EDAR στο επιθήλιο της οδοντικής ταινίας, σχετίζεται πιθανότατα με ενεργοποίηση του από τα κύτταρα του μεσεγχύματος, ενώ απουσία έκφρασης EDAR και έκφραση EDA ισοδυναμεί με το επιθήλιο της οδοντικής ταινίας πριν ενεργοποιηθεί από το μεσέγχυμα [274,291]. Αν στα προαναφερθέντα προστεθούν τα ευρήματα μελετών που αξιολόγησαν έκφραση κυτταροκερατινών [131,132], καθώς και τα αποτελέσματα της μελέτης των Heikinheimo και συν [145], όπου το «γονιδιακό προφίλ» της ΟΚΚ όπως μελετήθηκε με την τεχνική των μικροσυστοιχιών RNA σε 12 μη συνδρομικές ΟΚΚ ήταν παρόμοιο με το αρχέγονο στοματικό επιθήλιο και την οδοντική ταινία, τότε υπάρχουν αρκετές ενδείξεις που να βεβαιώνουν ότι η ΟΚΚ προέρχεται από την οδοντική ταινία.

Αντίστοιχα, η παρουσία θετικής ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των EDA1 και EDAR στο επιθήλιο των ΟΔΚ, συνηγορεί υπέρ της προέλευσής τους από το έξω αδαμαντινικό επιθήλιο που αποτελεί τμήμα του λεπτυθέντος επιθηλίου της αδαμαντίνης από όπου θεωρείται ότι προέρχονται οι ΟΔΚ [1].

Αξίζει να επισημανθεί ότι η απουσία της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του EDAR στο επιθήλιο ΟΚΚ ενδεχομένως δικαιολογείται από τα αποτελέσματα της ανοσοϊστοχημικής μελέτης των Kim και συν [196], οι οποίοι βρήκαν αυξημένη εκφραση της πρωτεΐνης BMP-4 στο επιθήλιο ΟΚΚ, η οποία αναστέλλει την ενεργοποίηση του EDAR [274,275]. Στην εργασία των Kim και συν [196], βρέθηκε επίσης, ότι η BMP-4 είχε πιο έντονη ανοσοϊστοχημική έκφραση, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, στις υποτροποιάζουσες σε σχέση με τη μη υποτροπιάζουσες ΟΚΚ, ενώ δεν αξιολογήθηκε η έκφρασή της σε συνδρομικές ΟΚΚ. Η αυξημένη ανοσοϊστοχημική έκφραση της BMP-4 στο επιθήλιο των ΟΚΚ, υποτροπιαζουσών και μη, καθώς και η απουσία έκφρασης του EDAR στο επιθήλιο μη υποτροπιάζουσών ΟΚΚ, υποδηλώνει ότι ο EDAR πιθανόν δε θα εκφράζεται ούτε στο επιθήλιο υποτροπιάζουσων ΟΚΚ. Εντούτοις, η συσχέτιση μεταξύ BMP-4 και EDAR απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση.

Η επιβεβαίωση τέλος της προέλευσης της ΟΚΚ από την οδοντική ταινία καθώς και η γνώση ότι η πλειοψηφία της ομάδας αυτής των κύστεων εντοπίζεται στα οπίσθια τμήματα της κάτω γνάθου [22], δίνουν ισχυρές ενδείξεις ότι σε αυτές τις θέσεις υπάρχουν υπολείμματα οδοντικής ταινιάς, προερχόμενα είτε από τον τρίτο ή, πιθανώς, τον τέταρτο γομφίο [122,141]. Επίσης, η προέλευση της ΟΚΚ από την οδοντική ταινία, το τμήμα δηλαδή εκείνο το στοματικού επιθηλίου από το οποίο θα προέλθει το δόντι και η ύπαρξη αυτής σε θέσεις όπου δεν υπάρχει δόντι, αλλά θεωρητικά θα μπορούσε να ανατείλει, συνηγορεί ως ένα βαθμό υπέρ τη θεωρίας της ταύτισης της αρχέγονης κύστης με την ΟΚΚ [10,11].

Ε.Συμπεράσματα

1. Η ανοσοϊστοχημική έκφραση της εξωδυσπλασίνης (EDA) και η απουσία έκφρασης του υποδοχέα (EDAR), υποδηλώνουν ότι το σηματοδοτικό μονοπάτι της EDA δε συμμετέχει στην παθογένεση της οδοντογενούς κερατινοκύστης (ΟΚΚ).
2. Η απουσία έκφρασης του EDAR συνηγορεί υπέρ της προέλευσης της ΟΚΚ από την οδοντική ταινία.

4. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η Οδοντογενής Κερατινοκύστη (ΟΚΚ) είναι μιας οδοντογενής αναπτυξιακή κύστη που πιθανολογείται ότι προέρχεται από υπολείμματα της οδοντικής ταινίας. Η παθογένειά της δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως ακόμα, αν και το σηματοδοτικό μονοπάτι Sonic Hedgehog (SHH) φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο. Η εξωδυσπλασίνη (EDA), μέλος της υπεροικογένειας των παραγόντων νέκρωσης όγκων (tumor necrosis factor), συμμετέχει στην οδοντογένεση και αλληλεπιδρά με σηματοδοτικά μονοπάτια, συμπεριλαμβανομένου του SHH.

Σκοπός: Η διερεύνηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της EDA και του υποδοχέα της (EDAR) σε ΟΚΚ.

Μέθοδος και Υλικά: Η έκφραση της EDA μελετηθηκε με τη συνήθη ανοσοϊστοχημική τεχνική σε 30 μη συνδρομικές και μη υποτροπιάζουσες ΟΚΚ προερχόμενες από 30 ασθενείς καθώς και σε 10 οδοντοφόρες κύστεις (ΟΔΚ) ως μάρτυρες, ενώ ο EDAR σε 20 ΟΚΚ και 5 ΟΔΚ. Όλα τα ιστοτεμάχια προήλθαν από το ιστοπαθολογικό αρχείο του Εργαστηρίου Στοματολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Αποτελέσματα: Η έκφραση της EDA ήταν είτε κυτταροπλασματική είτε ταυτόχρονα κυτταροπλασματική και πυρηνική ενώ η έκφραση του EDAR ήταν αυστηρά κυτταροπλασματική. Η EDA εκφραζόταν σε όλες τις ΟΚΚ και ΟΔΚ ενώ ο EDAR σε 3/21 ΟΚΚ αλλά σε 4/5 ΟΔΚ. Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε στην έκφραση του EDAR μεταξύ ΟΚΚ και ΟΔΚ ($p<0.05$).

Συμπεράσματα: Η EDA δε φαίνεται να συμμετέχει στην παθογένεση της ΟΚΚ, αλλά η έλλειψη της έκφρασης του EDAR συνηγορεί υπέρ της πιθανολογούμενης προέλευσής της από το επιθήλιο της οδοντικής ταινίας.

5. ABSTRACT

Introduction: Odontogenic keratocyst (OK) is an odontogenic developmental cyst, speculated to derive from remnants of the dental lamina. Its pathogenesis has not been resolved, although the Sonic Hedgehog signaling pathway (SHH) seems to play a fundamental role. Ectodysplasin (EDA), a member of tumor necrosis factor superfamily, participates in tooth development and interacts with signaling pathways, including SHH.

Objectives: To investigate the immunohistochemical expression of EDA and EDA receptor (EDAR) in OKs.

Material and Methods: EDA expression was assessed by a routine immunohistochemical method in 30 non syndromic and non recurrent OKs from 30 patients, and 10 dentigerous cysts (DCs) as controls, whereas EDAR was investigated in 20 OKs and 5 DCs. All specimens were retrieved from the archives of the Oral Pathology Laboratory of the Department of Oral Medicine and Oral Pathology, National and Kapodistrian University of Athens, Greece.

Results: EDA expression was either cytoplasmic or both cytoplasmic and nuclear whereas EDAR expression was strictly cytoplasmic. EDA was expressed in all OKs and dentigerous cysts, whereas EDAR in 3/21 OKs but in 4/5 DCs. A statistical significant difference was detected in EDAR expression between OKs and DCs ($p<0.05$).

Conclusions: EDA does not seem to participate in the pathogenesis of OK, but lack of EDAR expression is supportive of its purported derivation from the dental lamina epithelium.

6. <u>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</u>

1. *Speight P, Devilliers P, Li TJ, Odell EW, Wright JM. Odontogenic keratocyst. In: El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ, eds. WHO Classification of Head and Neck Tumours. Lyon: IARC Press; 2017:233-237.*

2. *Philipsen HP. OM Keratocyster (kolestea – tomer). I.Kaeberne. Tandiaegebladet 1956; 60:963 – 980.*

3. *Pindborg JJ, Hansen J. Studies on odontogenic cyst epithelium. 2. clinical and roentgenologic aspects of odontogenic keratocysts. Acta Pathol Microbiol Scand 1963; 58:283-94.*

4. *Pindborg JJ, Kramer JR, Torloni H. Histological typing of odontogenic tumors, jaw cysts, and allied lesions. Geneva, Switzerland, 1971: WHO.*

5. *Robinson HBG. Classification of cysts of the jaws. Am J Orthod Oral Surg. 1945;31:370–5.*

6. *Robinson HBG, Koch WE Jr, Kolas S. Radiographic Interpretation of oral cysts. Dent Radiogr Photogr. 1956;29:61–8.*

7. *Robinson HB. Primordial cyst versus keratocyst. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1975;40:362-4.*

8. *Philipsen HP, Reichart PA. Revision of the 1992-edition of the WHO histological typing of odontogenic tumours. A suggestion. J Oral Pathol Med 2002;31:253-8.*

9. *Philipsen HP: Keratocystic odontogenic tumour. In: Barnes L (ed.), WHO classification of tumours: pathology and genetics of head and neck tumours. IARC Press, Lyon 2005:305-307.*

10. *Robinson RA, Vincent SD. Primordial cyst (odontogenic cyst of undetermined origin). In: Silverberg SG, editor. AFIP Atlas of tumor pathology, fourth series, Fascicle 16, tumors and cysts of the jaws. Silver Spring, Maryland: ARP Press; 2012.*

11. *Argyris PP, Wetzel SL, Pambuccian SE, Gopalakrishnan R, Koutlas IG. Primordial Odontogenic Cyst with Induction Phenomenon (Zonal Fibroblastic Hypercellularity) and Dentinoid Material Versus Archegonous Cystic Odontoma: You Choose! Head Neck Pathol. 2016;10:237-44.*

12. *Diniz MG, Galvão CF, Macedo PS, Gomes CC, Gomez RS. Evidence of loss of heterozygosity of the PTCH gene in orthokeratinized odontogenic cyst. J Oral Pathol Med. 2011;40:277-80.*

13. *Toller P. Origin and growth of cysts of the jaws. Ann R Coll Surg Engl. 1967;40:306-36.*

14. *Ahlfors E, Larsson A, Sjögren S. The odontogenic keratocyst: a benign cystic tumor? J Oral Maxillofac Surg. 1984;42:10-9.*

15. *Jing W, Xuan M, Lin Y, Wu L, Liu L, Zheng X, Tang W, Qiao J, Tian W. Odontogenic tumours: a retrospective study of 1642 cases in a Chinese population. Int J Oral Maxillofac Surg. 2007;36:20-5.*

16. *Chrysomali E, Leventis M, Titsinides S, Kyriakopoulos V, Sklavounou A. Odontogenic tumors. J Craniofac Surg. 2013;24:1521-5.*

17. *Wright JM, Vered M. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Odontogenic and Maxillofacial Bone Tumors. Head Neck Pathol. 2017;11:68-77.*

18. *Johnson NR, Savage NW, Kazoullis S, Batstone MD. A prospective epidemiological study for odontogenic and non-odontogenic lesions of the maxilla and mandible in Queensland. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013;115:515-22.*

19. *El Gehani R, Orafi M, Elarbi M, Subhashraj K. Benign tumors of orofacial region at Benghazi, Libya: a study of 405 cases. J Craniomaxillofac Surg. 2009;37:370 375.*

20. *Sansare K, Raghav M, Mupparapu M, Mundada N, Karjodkar FR, Bansal S, Desai R. Keratocystic odontogenic tumor: systematic review with analysis of 72 additional cases from Mumbai, India. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013;115:128-39.*

21. *Lo Muzio L, Mascitti M, Santarelli A, Rubini C, Bambini F, Procaccini M, Bertossi D, Albanese M, Bondì V, Nocini PF. Cystic lesions of the jaws: a retrospective clinicopathologic study of 2030 cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 201;124:128-138.*

22. *MacDonald-Jankowski DS. Keratocystic odontogenic tumour: systematic review. Dentomaxillofac Radiol. 2011;40:1-23.*

23. *Jones AV, Craig GT, Franklin CD. Range and demographics of odontogenic cysts diagnosed in a UK population over a 30-year period. J Oral Pathol Med. 2006;35:500-7.*

24. *Ledesma-Montes C, Hernández-Guerrero JC, Garcés-Ortíz M. Clinico-pathologic study of odontogenic cysts in a Mexican sample population. Arch Med Res. 2000;31:373-6.*

25. *Sharifian MJ, Khalili M. Odontogenic cysts: a retrospective study of 1227 cases in an Iranian population from 1987 to 2007. J Oral Sci. 2011;53:361-7.*

26. *Jaeger F, de Noronha MS, Silva ML, Amaral MB, Grossmann SM, Horta MC, de Souza PE, de Aguiar MC, Mesquita RA. Prevalence profile of odontogenic cysts and tumors on Brazilian sample after the reclassification of odontogenic keratocyst. J Craniomaxillofac Surg. 2017;45:267-270.*

27. *Tortorici S, Amodio E, Massenti MF, Buzzanca ML, Burruano F, Vitale F. Prevalence and distribution of odontogenic cysts in Sicily: 1986– 2005. J Oral Sci 2008; 50: 15–8.*

28. *Mosqueda-Taylor A, Irigoyen-Camacho ME, Diaz-Franco MA, Torres-Tejero MA. Odontogenic cysts. Analysis of 856 cases. Med Oral. 2002;7:89-96.*

29. *Gaitán-Cepeda LA, Quezada-Rivera D, Tenorio-Rocha F, Leyva-Huerta ER. Reclassification of odontogenic keratocyst as tumour. Impact on the odontogenic tumours prevalence. Oral Dis. 2010;16:185-7.*

30. *Tekkesin MS, Olgac V, Aksakalli N, Alatli C. Odontogenic and nonodontogenic cysts in Istanbul: analysis of 5088 cases. Head Neck. 2012;34:852-5.*

31. *Del Corso G, Righi A, Bombardi M, Rossi B, Dallera V, Pelliccioni GA, Marchetti C, Foschini MP. Jaw cysts diagnosed in an Italian population over a 20-year period. Int J Surg Pathol. 2014;22:699-706.*

32. *Johnson NR, Gannon OM, Savage NW, Batstone MD. Frequency of odontogenic cysts and tumors: a systematic review. J Investig Clin Dent. 2014;5:9-14.*

33. *Ταμιωλάκης Π, Φρυτάκη ΙΒ, Τόσιος ΚΙ, Σκλαβούνου-Ανδρικοπούλου Α. Κερατινοκυστικός Οδοντογενής Όγκος. Κλινικοστατιστική μελέτη 343 περιπτώσεων. Στοματολογία. 2017;74: 25-34.*

34. *Mendes RA, Carvalho JF, van der Waal I. Characterization and management of the keratocystic odontogenic tumor in relation to its histopathological and biological features. Oral Oncol. 2010;46:219-25.*

35. *Sakamoto K, Morita K, Shimada Y, Omura K, Izumo T, Yamaguchi A. Peripheral odontogenic keratocyst associated with nevoid basal cell carcinoma syndrome: a case report. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2014;118:19-23.*

36. *Kaminagakura E, Almeida JD, Carvalho YR, Franco RC, Soares FA, Rocha RM, Kowalski LP. Keratocyst of the buccal mucosa: case report and immunohistochemical comparative study with sporadic intraosseous keratocystic odontogenic tumor. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013;116:387-92.*

37. *Abé T, Maruyama S, Yamazaki M, Essa A, Babkair H, Mikami T, Shingaki S, Kobayashi T, Hayashi T, Cheng J, Saku T. Intramuscular keratocyst as a soft tissue counterpart of keratocystic odontogenic tumor: differential diagnosis by immunohistochemistry. Hum Pathol. 2014;45:110-8.*

38. *Ba K, Li X, Wang H, Liu Y, Zheng G, Yang Z, Li M, Shimizutani K, Koseki T. Correlation between imaging features and epithelial cell proliferation in keratocystic odontogenic tumour. Dentomaxillofac Radiol. 2010;39:368-74.*

39. *MacDonald D. Lesions of the jaws presenting as radiolucencies on cone-beam CT. Clin Radiol. 2016;71:972-85.*

40. *Buckley PC, Seldin EB, Dodson TB, August M. Multilocularity as a radiographic marker of the keratocystic odontogenic tumor. J Oral Maxillofac Surg. 2012;70:320-4.*

41. *Tsukamoto G, Makino T, Kikuchi T, Kishimoto K, Nishiyama A, Sasaki A, Matsumura T. A comparative study of odontogenic keratocysts associated with and not associated with an impacted mandibular third molar. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002;94:272-5.*

42. *Ide F, Horie N, Shimoyama T, Saito I, Tanaka A, Kusama K. Infrequent clinicopathologic features of keratocystic odontogenic tumour: a 29-year multi-institutional retrospective review. Oral Surgery 2009;2: 1-9.*

43. *Kontogiannis TG, Tosios KI, Kerezoudis NP, Krithinakis S, Christopoulos P, Sklavounou A. Periapical lesions are not always a sequelae of pulpal necrosis: a retrospective study of 1521 biopsies. Int Endod J. 2015;48:68-73.*

44. *Macdonald-Jankowski DS, Li TK. Keratocystic odontogenic tumour in a Hong Kong community: the clinical and radiological features. Dentomaxillofac Radiol. 2010;39:167-75.*

45. *Haring JI, Van Dis ML. Odontogenic keratocysts: a clinical, radiographic, and histopathologic study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1988;66:145-53.*

46. *Apajalahti S, Hagström J, Lindqvist C, Suomalainen A. Computerized tomography findings and recurrence of keratocystic odontogenic tumor of the mandible and maxillofacial region in a series of 46 patients. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011;111:29-37.*

47. *Ariji Y, Morita M, Katsumata A, Sugita Y, Naitoh M, Goto M, Izumi M, Kise Y, Shimozato K, Kurita K, Maeda H, Ariji E. Imaging features contributing to the diagnosis of ameloblastomas and keratocystic odontogenic tumours: logistic regression analysis. Dentomaxillofac Radiol. 2011;40:133-40.*

48. *Yoshiura K, Higuchi Y, Ariji Y, Shinohara M, Yuasa K, Nakayama E, Ban S, Kanda S. Increased attenuation in odontogenic keratocysts with computed tomography: a new finding. Dentomaxillofac Radiol. 1994;23:138-42.*

49. *Kauke M, Safi AF, Grandoch A, Nickenig HJ, Zöller J, Kreppel M. Volumetric analysis of keratocystic odontogenic tumors and non-neoplastic jaw cysts - Comparison and its clinical relevance. J Craniomaxillofac Surg. 2018;46:257-263.*

50. *Kakimoto N, Chindasombatjaroen J, Tomita S, Shimamoto H, Uchiyama Y, Hasegawa Y, Kishino M, Murakami S, Furukawa S. Contrast-enhanced multidetector computerized tomography for odontogenic cysts and cystic-appearing tumors of the jaws: is it useful? Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013;115:104-13.*

51. *Crusoé-Rebello I, Oliveira C, Campos PS, Azevedo RA, dos Santos JN. Assessment of computerized tomography density patterns of ameloblastomas and keratocystic odontogenic tumors. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009 Oct;108(4):604-8.*

52. *Fujita M, Matsuzaki H, Yanagi Y, Hara M, Katase N, Hisatomi M, Unetsubo T, Konouchi H, Nagatsuka H, Asaumi JI. Diagnostic value of MRI for odontogenic tumours. Dentomaxillofac Radiol. 2013;42:20120265.*

53. *Probst FA, Probst M, Pautke Ch, Kaltsi E, Otto S, Schiel S, Troeltzsch M, Ehrenfeld M, Cornelius CP, Müller-Lisse UG. Magnetic resonance imaging: a useful tool to*

distinguish between keratocystic odontogenic tumours and odontogenic cysts. Br J Oral Maxillofac Surg. 2015;53:217-22.

54. *MacDonald D, Gu Y, Zhang L, Poh C. Can clinical and radiological features predict recurrence in solitary keratocystic odontogenic tumors? Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013;115:263-71.*
55. *Azevedo RS, Cabral MG, dos Santos TC, de Oliveira AV, de Almeida OP, Pires FR. Histopathological features of keratocystic odontogenic tumor: a descriptive study of 177 cases from a Brazilian population. Int J Surg Pathol. 2012;20:154-60.*
56. *Bello IO. Keratocystic odontogenic tumor: A biopsy service's experience with 104 solitary, multiple and recurrent lesions. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2016;21:538-46.*
57. *Cottom HE, Bshena FI, Speight PM, Craig GT, Jones AV. Histopathological features that predict the recurrence of odontogenic keratocysts. J Oral Pathol Med. 2012;41:408-14.*
58. *Cunha JF, Gomes CC, de Mesquita RA, Andrade Goulart EM, de Castro WH, Gomez RS. Clinicopathologic features associated with recurrence of the odontogenic keratocyst: a cohort retrospective analysis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2016;121:629-35.*
59. *Robinson RA. Diagnosing the most common odontogenic cystic and osseous lesions of the jaws for the practicing pathologist. Mod Pathol. 2017;30:96-103.*
60. *Tsuneki M, Yamazaki M, Cheng J, Maruyama S, Kobayashi T, Saku T. Combined immunohistochemistry for the differential diagnosis of cystic jaw lesions: its practical use in surgical pathology. Histopathology. 2010;57:806-13.*
61. *Ide F, Mishima K, Saito I, Kusama K. Diagnostically challenging epithelial odontogenic tumors: a selective review of 7 jawbone lesions. Head Neck Pathol. 2009;3:18-26.*
62. *Fornatora ML, Reich RF, Chotkowski G, Freedman PD. Odontogenic keratocyst with mural cartilaginous metaplasia: a case report and a review of the literature. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2001;92:430-4.*
63. *Ng KH, Siar CH. Odontogenic keratocyst with dentinoid formation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003;95:601-6.*

64. *Ishida M, Koshinuma S, Oue K, Higo T, Yamamoto G, Okabe H. Pigmented keratocystic odontogenic tumor: A case report with review of the literature. Mol Clin Oncol. 2013;1:430-432.*

65. *Basile JR, Klene C, Lin YL. Calcifying odontogenic cyst with odontogenic keratocyst: a case report and review of the literature. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;109:40-5.*

66. *Argyris PP, Koutlas IG. Orthokeratinized Odontogenic Cyst with an Associated Keratocystic Odontogenic Tumor Component and Ghost Cell Keratinization and Calcifications in a Patient with Gardner Syndrome. Head Neck Pathol. 2017;11:240-248.*

67. *Shephard M, Coleman H. Simultaneous adenomatoid odontogenic and keratocystic odontogenic tumours in a patient with Gorlin-Goltz syndrome. Aust Dent J. 2014;59:121-4.*

68. *Neuman AN, Montague L, Cohen D, Islam N, Bhattacharyya I. Report of Two Cases of Combined Odontogenic Tumors: Ameloblastoma with Odontogenic Keratocyst and Ameloblastic Fibroma with Calcifying Odontogenic Cyst. Head Neck Pathol. 2015;9:417-20.*

69. *Geng N, Lv D, Chen QM, Zhu ZY, Wu RQ, He ZX, Chen Y. Solid variant of keratocystic odontogenic tumor with ameloblastomatous transformation: a case report and review of the literature. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2012;114:223-9.*

70. *Kawano K, Okamura K, Kashima K, Matsuo K, Takahashi Y, Yamamoto N, Kono T, Kawamura K. Solid variant of keratocystic odontogenic tumor of the mandible: report of a case with a clear cell component and review of the literature. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013;116:393-8.*

71. *Ide F, Ito Y, Muramatsu T, Saito I, Abiko Y. Histogenetic relations between keratoameloblastoma and solid variant of odontogenic keratocyst. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2012;114:812-813.*

72. *Vickers RA, Gorlin RJ. Ameloblastoma: Delineation of early histopathologic features of neoplasia. Cancer. 1970 Sep;26:699-710.*

73. *Cox DP. p53 expression and mutation analysis of odontogenic cysts with and without dysplasia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2012;113:90-8.*

74. *Bodner L, Manor E, Shear M, van der Waal I. Primary intraosseous squamous cell carcinoma arising in an odontogenic cyst: a clinicopathologic analysis of 116 reported cases. J Oral Pathol Med. 2011;40:733-8.*

75. *Lukandu OM, Micha CS. Primary intraosseous squamous cell carcinoma arising from keratocystic odontogenic tumor. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2015;120:204-9.*

76. *Martínez-Martínez M, Mosqueda-Taylor A, Delgado-Azañero W, Rumayor-Piña A, de Almeida OP. Primary intraosseous squamous cell carcinoma arising in an odontogenic keratocyst previously treated with marsupialization: case report and immunohistochemical study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2016;121:87-95.*

77. *Bresler SC, Padwa BL, Granter SR. Nevoid Basal Cell Carcinoma Syndrome (Gorlin Syndrome). Head Neck Pathol. 2016;10:119-24.*

78. *Bree AF, Shah MR; BCNS Colloquium Group. Consensus statement from the first international colloquium on basal cell nevus syndrome (BCNS). Am J Med Genet A. 2011;155A:2091-7.*

79. *Ponti G, Tomasi A, Manfredini M, Pellacani G. Oral mucosal stigmata in hereditary-cancer syndromes: From germline mutations to distinctive clinical phenotypes and tailored therapies. Gene. 2016;582:23-32.*

80. *Fan Z, Li J, Du J, Zhang H, Shen Y, Wang CY, Wang S. A missense mutation in PTCH2 underlies dominantly inherited NBCCS in a Chinese family. J Med Genet. 2008;45:303-8.*

81. *Fujii K, Ohashi H, Suzuki M, Hatsuse H, Shiohama T, Uchikawa H, Miyashita T. Frameshift mutation in the PTCH2 gene can cause nevoid basal cell carcinoma syndrome. Fam Cancer. 2013;12:611-4.*

82. *Pastorino L, Ghiorzo P, Nasti S, Battistuzzi L, Cusano R, Marzocchi C, Garrè ML, Clementi M, Scarrà GB. Identification of a SUFU germline mutation in a family with Gorlin syndrome. Am J Med Genet A. 2009;149A:1539-43.*

83. *Jones EA, Sajid MI, Shenton A, Evans DG. Basal cell carcinomas in gorlin syndrome: a review of 202 patients. J Skin Cancer. 2011;2011:217378.*

84. *Lo Muzio L, Nocini PF, Savoia A, Consolo U, Procaccini M, Zelante L, Pannone G, Bucci P, Dolci M, Bambini F, Solda P, Favia G. Nevoid basal cell carcinoma*

syndrome. Clinical findings in 37 Italian affected individuals. Clin Genet. 1999;55:34-40.

85. *Kimonis VE, Goldstein AM, Pastakia B, Yang ML, Kase R, DiGiovanna JJ, Bale AE, Bale SJ. Clinical manifestations in 105 persons with nevoid basal cell carcinoma syndrome. Am J Med Genet. 1997;69:299-308.*
86. *MacDonald DS. A systematic review of the literature of nevoid basal cell carcinoma syndrome affecting East Asians and North Europeans. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2015;120:396-407.*
87. *Shimada Y, Morita K, Kabasawa Y, Taguchi T, Omura K. Clinical manifestations and treatment for keratocystic odontogenic tumors associated with nevoid basal cell carcinoma syndrome: a study in 25 Japanese patients. J Oral Pathol Med. 2013;42:275-80.*
88. *Lam EW, Lee L, Perschbacher SE, Pharoah MJ. The occurrence of keratocystic odontogenic tumours in nevoid basal cell carcinoma syndrome. Dentomaxillofac Radiol. 2009;38:475-9.*
89. *Noy D, Rachmiel A, Zar K, Emodi O, Nagler RM. Sporadic versus syndromic keratocysts-Can we predict treatment outcome? A review of 102 cysts. Oral Dis. 2017;23:1058-1065.*
90. *MacDonald DS, Li TK, Goto TK. A consecutive case series of nevoid basal cell carcinoma syndrome affecting the Hong Kong Chinese. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2015;120:408-15.*
91. *Gupta SR, Jaetli V, Mohanty S, Sharma R, Gupta A. Nevoid basal cell carcinoma syndrome in Indian patients: a clinical and radiological study of 6 cases and review of literature. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2012;113:99-110.*
92. *Pastorino L, Pollio A, Pellacani G, Guarneri C, Ghiorzo P, Longo C, Bruno W, Giusti F, Bassoli S, Bianchi-Scarrà G, Ruini C, Seidenari S, Tomasi A, Ponti G. Novel PTCH1 mutations in patients with keratocystic odontogenic tumors screened for nevoid basal cell carcinoma (NBCC) syndrome. PLoS One. 2012;7:e43827.*
93. *Wang X, Lu Y, Shen G, Chen W. One germline mutation of PTCH gene in a Chinese family with non-syndromic keratocystic odontogenic tumours. Int J Oral Maxillofac Surg. 2011;40:829-33.*

94. *Lindeboom JA, Kroon FH, de Vires J, van den Akker HP. Multiple recurrent and de novo odontogenic keratocysts associated with oral-facial-digital syndrome. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003;95:458-62.*

95. *Krimmel M, Reinert S. Multiple odontogenic keratocysts in mental retardation-overgrowth (Simpson-Golabi-Behmel) syndrome. Br J Oral Maxillofac Surg. 2000;38:221-3.*

96. *Sharif FN, Oliver R, Sweet C, Sharif MO. Interventions for the treatment of keratocystic odontogenic tumours. Cochrane Database Syst Rev. 2015;11:CD008464.*

97. *Ally MS, Tang JY, Joseph T, Thompson B, Lindgren J, Raphael MA, Ulerio G, Chanana AM, Mackay-Wiggan JM, Bickers DR, Epstein EH Jr. The use of vismodegib to shrink keratocystic odontogenic tumors in patients with basal cell nevus syndrome. JAMA Dermatol. 2014;150:542-5.*

98. *Al-Moraissi EA, Dahan AA, Alwadeai MS, Oginni FO, Al-Jamali JM, Alkhutari AS, Al-Tairi NH, Almaweri AA, Al-Sanabani JS. What surgical treatment has the lowest recurrence rate following the management of keratocystic odontogenic tumor? A large systematic review and meta-analysis. J Craniomaxillofac Surg. 2017;45:131-144.*

99. *Pogrel MA. The keratocystic odontogenic tumor. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2013;25:21-30.*

100. *Iwai T, Hirota M, Maegawa J, Tohnai I. Use of methylene blue for precise peripheral ostectomy of keratocystic odontogenic tumour. Br J Oral Maxillofac Surg. 2011;49:84-5.*

101. *Pogrel MA. The keratocystic odontogenic tumour (KCOT)--an odyssey. Int J Oral Maxillofac Surg. 2015;44:1565-8.*

102. *Ledderhof NJ, Caminiti MF, Bradley G, Lam DK. Topical 5-Fluorouracil is a Novel Targeted Therapy for the Keratocystic Odontogenic Tumor. J Oral Maxillofac Surg. 2017;75:514-524.*

103. *Chrcanovic BR, Gomez RS. Recurrence probability for keratocystic odontogenic tumors: An analysis of 6427 cases. J Craniomaxillofac Surg. 2017;45:244-251.*

104. *Dias G, Marques T, Coelho P. Treatment options for keratocyst odontogenic tumour (KCOT): a systematic review. Oral Surgery. 2017;10: 193-209.*

105. Kaczmarzyk T, Mojsa I, Stypulkowska J. A systematic review of the recurrence rate for keratocystic odontogenic tumour in relation to treatment modalities. Int J Oral Maxillofac Surg. 2012;41:756-67.

106. Berge TI, Helland SB, Sælen A, Øren M, Johannessen AC, Skartveit L, Grung B. Pattern of recurrence of nonsyndromic keratocystic odontogenic tumors. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2016;122:10-6.

107. Leung YY, Lau SL, Tsoi KY, Ma HL, Ng CL. Results of the treatment of keratocystic odontogenic tumours using enucleation and treatment of the residual bony defect with Carnoy's solution. Int J Oral Maxillofac Surg. 2016;45:1154-8.

108. Dashow JE, McHugh JB, Braun TM, Edwards SP, Helman JI, Ward BB. Significantly Decreased Recurrence Rates in Keratocystic Odontogenic Tumor With Simple Enucleation and Curettage Using Carnoy's Versus Modified Carnoy's Solution. J Oral Maxillofac Surg. 2015;73:2132-5.

109. Dashow JE, McHugh JB, Braun TM, Edwards SP, Helman JI, Ward BB. In Reply. J Oral Maxillofac Surg. 2016;74:1104.

110. Titinchi F, Nortje CJ. Keratocystic odontogenic tumor: a recurrence analysis of clinical and radiographic parameters. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2012;114:136-42

111. Kaczmarzyk T, Kisielowski K, Koszowski R, Rynkiewicz M, Gawełek E, Babiuch K, Bednarczyk A, Drozdzowska B.. Investigation of clinicopathological parameters and expression of COX-2, bcl-2, PCNA, and p53 in primary and recurrent sporadic odontogenic keratocysts. Clin Oral Investig. 2018. doi: 10.1007/s00784-018-2400-7.

112. Myoung H, Hong SP, Hong SD, Lee JI, Lim CY, Choung PH, Lee JH, Choi JY, Seo BM, Kim MJ. Odontogenic keratocyst: Review of 256 cases for recurrence and clinicopathologic parameters. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2001;91:328-33.

113. Zhao Y, Liu B, Cheng G, Wang SP, Wang YN. Recurrent keratocystic odontogenic tumours: report of 19 cases. Dentomaxillofac Radiol. 2012;41:96-102.

114. Naruse T, Yamashita K, Yanamoto S, Rokutanda S, Matsushita Y, Sakamoto Y, Sakamoto H, Ikeda H, Ikeda T, Asahina I, Umeda M. Histopathological and immunohistochemical study in keratocystic odontogenic tumors: Predictive factors of recurrence. Oncol Lett. 2017;13:3487-3493.

115. Antonoglou GN, Sándor GK, Koidou VP, Papageorgiou SN. Non-syndromic and syndromic keratocystic odontogenic tumors: systematic review and meta-analysis of recurrences. J Craniomaxillofac Surg. 2014;42:364-71.

116. Al-Moraissi EA, Pogrel MA, Ellis E 3rd. Does the Excision of Overlying Oral Mucosa Reduce the Recurrence Rate in the Treatment of the Keratocystic Odontogenic Tumor? A Systematic Review and Meta-Analysis. J Oral Maxillofac Surg. 2016;74:1974-82.

117. Li TJ. The odontogenic keratocyst: a cyst, or a cystic neoplasm? J Dent Res. 2011;90:133-42.

118. Johnson NR, Batstone MD, Savage NW. Management and recurrence of keratocystic odontogenic tumor: a systematic review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013;116:271-6.

119. Zhao Y, Liu B, Han QB, Wang SP, Wang YN. Changes in bone density and cyst volume after marsupialization of mandibular odontogenic keratocysts (keratocystic odontogenic tumors). J Oral Maxillofac Surg. 2011;69:1361-6.

120. Finkelstein MW, Hellstein JW, Lake KS, Vincent SD. Keratocystic odontogenic tumor: a retrospective analysis of genetic, immunohistochemical and therapeutic features. Proposal of a multicenter clinical survey tool. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013;116:75-83.

121. Shear M. Odontogenic keratocysts: natural history and immunohistochemistry. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2003;15:347-62.

122. Αγγελόπουλος ΑΠ, Παπανικολάου Σ, Αγγελοπούλου Ε. Σύγχρονη Στοματική και Γναθοπροσωπική Παθολογία. 3η έκδοση. Λίτσας Αθήνα, 2000: 30-38,.

123. Balic A, Thesleff I. Tissue Interactions Regulating Tooth Development and Renewal. Curr Top Dev Biol. 2015;115:157-86.

124. Padma Priya S, Higuchi A, Abu Fanas S, Pooi Ling M, Kumari Neela V, Sunil PM, Saraswathi TR, Murugan K, Alarfaj AA, Munusamy MA, Kumar S. Odontogenic epithelial stem cells: hidden sources. Lab Invest. 2015;95:1344-52.

125. Meleti M, van der Waal I. Clinicopathological evaluation of 164 dental follicles and dentigerous cysts with emphasis on the presence of odontogenic epithelium in the connective tissue. The hypothesis of "focal ameloblastoma".Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2013;18:60-4.

126. *Kim J, Ellis GL. Dental follicular tissue: misinterpretation as odontogenic tumors. J Oral Maxillofac Surg. 1993;51:762-8.*

127. *Ostrowsky MK. Epithelial residues in the retromolar regions and their possible relationship to the formation of the primordial (odontogenic keratocyst)[dental dissertation]. Johannesburg University of the Witwatersrand; 1980.*

128. *Stoelinga PJW: Long-term follow-up on keratocysts treated according to a defined protocol. Int J Oral Maxillofac Surg, 2001;30:14,*

129. *Stoelinga PJ, Cohen MM Jr, morgan AF. The origin of keratocysts in the basal cell nevus syndrome. J Oral Surg. 1975;33:659-63.*

130. *Stoelinga PJ, Peters JH. A note on the origin of keratocysts of the jaws. Int J Oral Surg. 1973;2:37-44.*

131. *Aragaki T, Michi Y, Katsube K, Uzawa N, Okada N, Akashi T, Amagasa T, Yamaguchi A, Sakamoto K. Comprehensive keratin profiling reveals different histopathogenesis of keratocystic odontogenic tumor and orthokeratinized odontogenic cyst. Hum Pathol. 2010;41:1718-25.*

132. *Li S, Ge S, Yang P. Expression of cytokeratins in enamel organ, junctional epithelium and epithelial cell rests of Malassez. J Periodontal Res. 2015;50:846-54.*

133. *Grachtchouk M, Liu J, Wang A, Wei L, Bichakjian CK, Garlick J, Paulino AF, Giordano T, Dlugosz AA. Odontogenic keratocysts arise from quiescent epithelial rests and are associated with deregulated hedgehog signaling in mice and humans. Am J Pathol. 2006;169:806-14.*

134. *Tsuji K, Wato M, Hayashi T, Yasuda N, Matsushita T, Ito T, Gamoh S, Yoshida H, Tanaka A, Morita S. The expression of cytokeratin in keratocystic odontogenic tumor, orthokeratinized odontogenic cyst, dentigerous cyst, radicular cyst and dermoid cyst. Med Mol Morphol. 2014;47:156-61.*

135. *Calenic B, Greabu M, Caruntu C, Tanase C, Battino M. Oral keratinocyte stem/progenitor cells: specific markers, molecular signaling pathways and potential uses. Periodontol 2000. 2015t;69:68-82.*

136. *Millar SE. Molecular mechanisms regulating hair follicle development. J Invest Dermatol. 2002;118:216-25.*

137. *Myung P, Ito M. Dissecting the bulge in hair regeneration. J Clin Invest.2012;122:448-54.*

138. Biggs LC, Mikkola ML. Early inductive events in ectodermal appendage morphogenesis. Semin Cell Dev Biol. 2014;25-26:11-21.

139. Khaejornbut J, Wilson DJ, Owens PD. The development and fate of the dental lamina of the mandibular first molar tooth in the rat. J Anat. 1991;179:85-96.

140. Dosedělová H, Dumková J, Lesot H, Glocová K, Kunová M, Tucker AS, Veselá I, Krejčí P, Tichý F, Hampl A, Buchtová M. Fate of the molar dental lamina in the monophyodont mouse. PLoS One. 2015;10:e0127543.

141. Juuri E, Isaksson S, Jussila M, Heikinheimo K, Thesleff I.. Expression of the stem cell marker, SOX2, in ameloblastoma and dental epithelium. Eur J Oral Sci. 2013;121:509-16.

142. Stoelinga PJ. Studies on the dental lamina as related to its role in the etiology of cysts and tumors. J Oral Pathol. 1976;5:65-73.

143. Mitsea A, Vardas E, Papachatzopoulou A, Kalfountzos G, Leventis M, Tsiklakis K. The frequency of non-syndromic distomolar teeth in a Greek population sample? J Clin Exp Dent. 2015;7:589-94

144. Shahzad KM, Roth LE. Prevalence and management of fourth molars: a retrospective study and literature review. J Oral Maxillofac Surg. 2012;70:272-5.

145. Heikinheimo K, Kurppa KJ, Laiho A, Peltonen S, Berdal A, Bouattour A, Ruhin B, Catón J, Thesleff I, Leivo I, Morgan PR. Early dental epithelial transcription factors distinguish ameloblastoma from keratocystic odontogenic tumor. J Dent Res. 2015;94:101-11.

146. Vedtofte P, Holmstrup P, Dabelsteen E. Human odontogenic keratocyst transplants in nude mice. Scand J Dent Res. 1982;90:306-14.

147. Gomes CC, Guimarães LM, Diniz MG, Gomez RS. Molecular alterations in odontogenic keratocysts as potential therapeutic targets. J Oral Pathol Med. 2017;46:877-882.

148. Hahn H, Wicking C, Zaphiropoulous PG, Gailani MR, Shanley S, Chidambaram A, Vorechovsky I, Holmberg E, Unden AB, Gillies S, Negus K, Smyth I, Pressman C, Leffell DJ, Gerrard B, Goldstein AM, Dean M, Toftgard R, Chenevix-Trench G, Wainwright B, Bale AE. Mutations of the human homolog of Drosophila patched in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. Cell. 1996 14;85:841-51.

149. Johnson RL, Rothman AL, Xie J, Goodrich LV, Bare JW, Bonifas JM, Quinn AG, Myers RM, Cox DR, Epstein EH Jr, Scott MP. Human homolog of patched, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. Science. 1996;272:1668-71.

150. Lench NJ, High AS, Markham AF, Hume WJ, Robinson PA. Investigation of chromosome 9q22.3-q31 DNA marker loss in odontogenic keratocysts. Eur J Cancer B Oral Oncol. 1996;32B:202-6.

151. Levanat S, Gorlin RJ, Fallet S, Johnson DR, Fantasia JE, Bale AE. A two-hit model for developmental defects in Gorlin syndrome. Nat Genet. 1996;12:85-7.

152. Barreto DC, Gomez RS, Bale AE, Boson WL, De Marco L. PTCH gene mutations in odontogenic keratocysts. J Dent Res. 2000;79:1418-22.

153. Gu XM, Zhao HS, Sun LS, Li TJ. PTCH mutations in sporadic and Gorlin-syndrome-related odontogenic keratocysts. J Dent Res. 2006;85:859-63.

154. Sun LS, Li XF, Li TJ. PTCH1 and SMO gene alterations in keratocystic odontogenic tumors. J Dent Res. 2008;87:575-9.

155. Kadlub N, Coudert A, Gatibelza ME, El Houmami N, Soufir N, Ruhin-Poncet B, L'hermine AC, Berdal A, Vazquez MP, Descroix V, Picard A. PTCH1 mutation and local aggressiveness of odontogenic keratocystic tumors in children: is there a relationship? Hum Pathol. 2013;44:1071-8.

156. Guo YY, Zhang JY, Li XF, Luo HY, Chen F, Li TJ. PTCH1 gene mutations in Keratocystic odontogenic tumors: a study of 43 Chinese patients and a systematic review. PLoS One. 2013;8:e77305.

157. Qu J, Yu F, Hong Y, Guo Y, Sun L, Li X, Zhang J, Zhang H, Shi R, Chen F, Li T. Underestimated PTCH1 mutation rate in sporadic keratocystic odontogenic tumors. Oral Oncol. 2015;51:40-5.

158. Diniz MG, Borges ER, Guimarães AL, Moreira PR, Brito JA, Gomez MV, De Marco L, Gomez RS. PTCH1 isoforms in odontogenic keratocysts. Oral Oncol. 2009;45:291-5.

159. Shimada Y, Katsube K, Kabasawa Y, Morita K, Omura K, Yamaguchi A, Sakamoto K. Integrated genotypic analysis of hedgehog-related genes identifies subgroups of keratocystic odontogenic tumor with distinct clinicopathological features. PLoS One. 2013;8:e70995.

160. Kimi K, Ohki K, Kumamoto H, Kondo M, Taniguchi Y, Tanigami A, Ooya K. Immunohistochemical and genetic analysis of mandibular cysts in heterozygous ptc knockout mice. J Oral Pathol Med. 2003;32:108-13.

161. Stone DM, Hynes M, Armanini M, Swanson TA, Gu Q, Johnson RL, Scott MP, Pennica D, Goddard A, Phillips H, Noll M, Hooper JE, de Sauvage F, Rosenthal A. The tumour-suppressor gene patched encodes a candidate receptor for Sonic hedgehog. Nature. 1996;384:129-34.

162. Smyth I, Narang MA, Evans T, Heimann C, Nakamura Y, Chenevix-Trench G, Pietsch T, Wicking C, Wainwright BJ. Isolation and characterization of human patched 2 (PTCH2), a putative tumour suppressor gene inbasal cell carcinoma and medulloblastoma on chromosome 1p32. Hum Mol Genet. 1999;8:291-7.

163. Adolphe C, Nieuwenhuis E, Villani R, Li ZJ, Kaur P, Hui CC, Wainwright BJ. Patched 1 and patched 2 redundancy has a key role in regulating epidermal differentiation. J Invest Dermatol. 2014;134:1981-1990.

164. Alfaro AC, Roberts B, Kwong L, Bijlsma MF, Roelink H. Ptch2 mediates the Shh response in Ptch1-/- cells. Development. 2014;141:3331-9.

165. Seppala M, Fraser GJ, Birjandi AA, Xavier GM, Cobourne MT. Sonic Hedgehog Signaling and Development of the Dentition. J Dev Biol. 2017;5(2).

166. Bangs F, Anderson KV. Primary Cilia and Mammalian Hedgehog Signaling. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2017;9(5).

167. Gorojankina T. Hedgehog signaling pathway: a novel model and molecular mechanisms of signal transduction. Cell Mol Life Sci. 2016;73:1317-32.

168. Gomes CC, Diniz MG, Gomez RS. Review of the molecular pathogenesis of the odontogenic keratocyst. Oral Oncol. 2009;45:1011-4.

169. Pan S, Dong Q, Sun LS, Li TJ.Mechanisms of inactivation of PTCH1 gene in nevoid basal cell carcinoma syndrome: modification of the two-hit hypothesis. Clin Cancer Res. 2010;16:442-50.

170. Sasaki R, Miyashita T, Matsumoto N, Fujii K, Saito K, Ando T. Multiple keratocystic odontogenic tumors associated with nevoid basal cell carcinoma syndrome having distinct PTCH1 mutations: a case report. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;110:41-6.

171. *Suzuki M, Nagao K, Hatsuse H, Sasaki R, Saito K, Fujii K, Miyashita T. Molecular pathogenesis of keratocystic odontogenic tumors developing in nevoid basal cell carcinoma syndrome. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013;116:348-53.*

172. *Rui Z, Li-Ying P, Jia-Fei Q, Ying-Ying H, Feng C, Tie-Jun L. Smoothened gene alterations in keratocystic odontogenic tumors. Head Face Med. 2014;10:36.*

173. *França JA, de Sousa SF, Diniz MG, Pereira TDSF, de Resende TAC, Santos JND, Gomez RS, Gomes CC Absence of BRAFV600E mutation in odontogenic keratocysts. J Oral Pathol Med. 2018;47:186-191.*

174. *Ren C, Amm HM, DeVilliers P, Wu Y, Deatherage JR, Liu Z, MacDougall M. Targeting the sonic hedgehog pathway in keratocystic odontogenic tumor. J Biol Chem. 20123;287:27117-25.*

175. *Peacock ZS, Cox D, Schmidt BL. Involvement of PTCH1 mutations in the calcifying epithelial odontogenic tumor. Oral Oncol. 2010;46:387-92.*

176. *Sandoval-Basilio J, González-González R, Bologna-Molina R, Isiordia-Espinoza M, Leija-Montoya G, Alcaraz-Estrada SL, Serafín-Higuera I, González-Ramírez J, Serafín-Higuera N. Epigenetic mechanisms in odontogenic tumors: A literature review. Arch Oral Biol. 2018;87:211-217.*

177. *Pereira KMA, Costa SFDS, Pereira NB, Diniz MG, Castro WH, Gomes CC, Gomez RS. DNA methylation profiles of 22 apoptosis-related genes in odontogenic keratocysts before and after marsupialization. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2017;124:483-489*

178. *Ilic B, Nikolic N, Andric M, Jelovac D, Milicic B, Jozic T, Krstic S, Milasin J. TNF-α (-308G>A) and TNF-R1 (36A>G) single nucleotide polymorphisms are strong risk factors for odontogenic keratocystic tumor development. J Oral Pathol Med. 2017;46:292-296.*

179. *Eshghyar N, Nikbin B, Amirzargar A, Dehghani Nazhvani A, Shakiba Y. Gene polymorphism of interleukin-1 alpha and beta in keratocystic odontogenic tumors. J Oral Pathol Med. 2012;41:697-701.*

180. *Andric M, Nikolic N, Boskovic M, Milicic B, Skodric S, Basta Jovanovic G, Milasin J. Survivin gene promoter polymorphism -31G/C as a risk factor for keratocystic odontogenic tumor development. Eur J Oral Sci. 2012;120:9-13.*

181. *Diniz MG, Gomes CC, de Castro WH, Guimarães AL, De Paula AM, Amm H, Ren C, MacDougall M, Gomez RS. miR-15a/16-1 influences BCL2 expression in keratocystic odontogenic tumors. Cell Oncol (Dordr). 2012;35:285-91.*

182. *Asevedo Campos de Resende T, de Fátima Bernardes V, Carolina da Silva J, De Marco LA, Santiago Gomez R, Cavalieri Gomes C, Gonçalves Diniz M. Loss of heterozygosity of MIR15A/MIR16-1, negative regulators of the antiapoptotic gene BCL2, is not common in odontogenic keratocysts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2018;125:313-316.*

183. *Jiang WP, Sima ZH, Wang HC, Zhang JY, Sun LS, Chen F, Li TJ. Identification of the involvement of LOXL4 in generation of keratocystic odontogenic tumors by RNA-Seq analysis. Int J Oral Sci. 2014;6:31-8.*

184. *Hu S, Divaris K, Parker J, Padilla R, Murrah V, Wright JT. Transcriptome Variability in Keratocystic Odontogenic Tumor Suggests Distinct Molecular Subtypes. Sci Rep. 2016;6:24236.*

185. *Ivanišević Malčić A, Breen L, Josić D, Jukić Krmek S, Džombeta T, Matijević J, Grgurević L, Pavelić K, Krušlin B, Kraljević Pavelić S. Proteomics profiling of keratocystic odontogenic tumours reveals AIDA as novel biomarker candidate. J Oral Pathol Med. 2015;44:367-77.*

186. *Vered M, Peleg O, Taicher S, Buchner A. The immunoprofile of odontogenic keratocyst (keratocystic odontogenic tumor) that includes expression of PTCH, SMO, GLI-1 and bcl-2 is similar to ameloblastoma but different from odontogenic cysts. J Oral Pathol Med. 2009;38:597-604.*

187. *Hoyos Cadavid AM, Kaminagakura E, Rodrigues MFSD, Pinto CAL, Teshima THN, Alves FA. Immunohistochemical evaluation of Sonic Hedgehog signaling pathway proteins (Shh, Ptch1, Ptch2, Smo, Gli1, Gli2, and Gli3) in sporadic and syndromic odontogenic keratocysts. Clin Oral Investig. 2018. doi: 10.1007/s00784-018-2421-2.*

188. *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. J Oral Pathol Med. 2005;34:280-6.*

189. *Kolár Z, Geierová M, Bouchal J, Pazdera J, Zboril V, Tvrdý P. Immunohistochemical analysis of the biological potential of odontogenic keratocysts. J Oral Pathol Med. 2006;35:75-80.*

190. Mitrou GK, Tosios KI, Kyroudi A, Sklavounou A. Odontogenic keratocyst expresses vascular endothelial growth factor: an immunohistochemical study. J Oral Pathol Med. 2009;38:470-5.

191. Gadbail AR, Chaudhary M, Patil S, Gawande M. Actual Proliferating Index and p53 protein expression as prognostic marker in odontogenic cysts. Oral Dis. 2009;15:490-8.

192. Mendes RA, Carvalho JF, van der Waal I. A comparative immunohistochemical analysis of COX-2, p53, and Ki-67 expression in keratocystic odontogenic tumors. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011;111:333-9.

193. Foschini MP, Cocchi R, Marucci G, Pennesi MG, Magrini E, Ligorio C, Lombardini F, Tosi AL, Marchetti C. High DeltaN p63 isoform expression favours recurrences in odontogenic keratocyst--odontogenic keratocystic tumour. Int J Oral Maxillofac Surg. 2006;35:673-5.

194. Mendes RA, Carvalho JF, van der Waal I. Potential relevance of cyclooxygenase-2 expression in keratocystic odontogenic tumours - an immunohistochemical study. J Oral Pathol Med. 2011;40:497-503.

195. de Andrade Santos PP, de Aquino AR, Oliveira Barreto A, de Almeida Freitas R, Galvão HC, de Souza LB. Immunohistochemical expression of nuclear factor κB, matrix metalloproteinase 9, and endoglin (CD105) in odontogenic keratocysts, dentigerous cysts, and radicular cysts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011;112:476-83.

196. Kim SG, Yang BE, Oh SH, Min SK, Hong SP, Choi JY. The differential expression pattern of BMP-4 between the dentigerous cyst and the odontogenic keratocyst. J Oral Pathol Med. 2005;34:178-83.

197. Vasconcelos RC, de Oliveira Moura JM, Lacerda Brasileiro Junior V, da Silveira ÉJ, de Souza LB. Immunohistochemical expression of GLUT-1, GLUT-3, and carbonic anhydrase IX in benign odontogenic lesions. J Oral Pathol Med. 2016;45:712-717.

198. Vera-Sirera B, Forner-Navarro L, Vera-Sempere F. Immunohistochemical expression of glucose transporter 1 in keratin-producing odontogenic cysts. BMC Oral Health. 2016;16:32.doi: 10.1186/s12903-016-0191-2.

199. *Wu YH, Chang JY, Tseng CH, Chiang CP, Wang YP. Expression of astrocyte elevated gene-1 protein in ameloblastomas, keratocystic odontogenic tumors, and dentigerous cysts. J Oral Pathol Med. 2017;46:121-126.*

200. *Siar CH, Abbas SA. Claudin expression and tight junction protein localization in the lining epithelium of the keratocystic odontogenic tumors, dentigerous cysts, and radicular cysts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013;115:652-9.*

201. *Kusafuka K, Hirobe K, Wato M, Tanaka A, Nakajima T. CD56 expression is associated with neuroectodermal differentiation in ameloblastomas: an immunohistochemical evaluation in comparison with odontogenic cystic lesions. Med Mol Morphol. 2011;44:79-85.*

202. *Cairns L, Naidu A, Robinson CM, Sloan P, Wright JM, Hunter KD. CD56 (NCAM) expression in ameloblastomas and other odontogenic lesions. Histopathology. 2010;57:544-8.*

203. *Vera-Sirera B, Forner-Navarro L, Vera-Sempere F. NCAM (CD56) expression in keratin-producing odontogenic cysts: aberrant expression in KCOT. Head Face Med. 2015;11:3.*

204. *Suyama Y, Kubota Y, Yamashiro T, Ninomiya T, Koji T, Shirasuna K. Expression of keratinocyte growth factor and its receptor in odontogenic keratocysts. J Oral Pathol Med. 2009;38:476-80.*

205. *Ribeiro Ribeiro AL, da Costa NM, de Siqueira AS, Brasil da Silva W, da Silva Kataoka MS, Jaeger RG, de Melo Alves-Junior S, Smith AM, de Jesus Viana Pinheiro J. Keratocystic odontogenic tumor overexpresses invadopodia-related proteins, suggesting invadopodia formation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2016;122:500-8.*

206. *Sarode SC, Sarode GS, Choudhary S, Patil S. FAK is overexpressed in keratocystic odontogenic tumor: a preliminary study. J Oral Pathol Med. 2017;46:611-617.*

207. *Mendes RB, Dias RB, Figueiredo AL, Gurgel CA, Santana Filho M, Melo LA, Trierveiler M, Cury PR, Leonardi R, Dos Santos JN. Glypican-3 distinguishes aggressive from non-aggressive odontogenic tumors: a preliminary study. J Oral Pathol Med. 2017;46:297-300.*

208. *Okamoto E, Kikuchi K, Miyazaki Y, González-Alva P, Oku Y, Tanaka A, Yoshida N, Fujinami M, Ide F, Sakashita H, Kusama K. Significance of podoplanin expression in keratocystic odontogenic tumor. J Oral Pathol Med. 2010;39:110-4.*

209. *Kechik KA, Siar CH. Spatial distribution of osteopontin, CD44v6 and podoplanin in the lining epithelium of odontogenic keratocyst, and their biological relevance. Ann Diagn Pathol. 2018;32:17-22.*

210. *Johann AC, Caldeira PC, Caliari MV, de Abreu MH, Aguiar MC, Mesquita RA. Metallothionein in the radicular, dentigerous, orthokeratinized odontogenic cysts and in keratocystic odontogenic tumor. J Oral Pathol Med. 2011;40:270-6.*

211. *Johann AC, Caldeira PC, Caliari MV, Gomez RS, Aguiar MC, Mesquita RA. Metallothionein immunoexpression in non-syndromic and syndromic keratocystic odontogenic tumour. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2015;20:e408-12.*

212. *Ribeiro AL, Nobre RM, Alves-Junior SM, Kataoka MS, Barroso RF, Jaeger RG, Pinheiro JJ. Matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, and growth factors regulate the aggressiveness and proliferative activity of keratocystic odontogenic tumors. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2012;114:487-96.*

213. *de Oliveira Ramos G, Costa A, Meurer MI, Vieira DS, Rivero ER. Immunohistochemical analysis of matrix metalloproteinases (1, 2, and 9), Ki-67, and myofibroblasts in keratocystic odontogenic tumors and pericoronal follicles. J Oral Pathol Med. 2014;43:282-8.*

214. *Cavalcante RB, Pereira KM, Nonaka CF, Nogueira RL, de Souza LB. Immunohistochemical expression of MMPs 1, 7, and 26 in syndrome and nonsyndrome odontogenic keratocysts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008;106:99-105.*

215. *de Brito Monteiro BV, Cavalcante RB, Maia Nogueira RL, da Costa Miguel MC, Weege Nonaka CF, da Silveira ÉJ. Participation of hMLH1, p63, and MDM2 proteins in the pathogenesis of syndromic and nonsyndromic keratocystic odontogenic tumors. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2015;120:52-7.*

216. *Fujita S, Seki S, Fujiwara M, Ikeda T. Midkine expression correlating with growth activity and tooth morphogenesis in odontogenic tumors. Hum Pathol. 2008;39:694-700*

217. *Brajić I, Škodrić S, Milenković S, Tepavčević Z, Soldatović I, Čolić S, Milašin J, Andrić M. Survivin, cyclin D1, and p21hras in keratocystic odontogenic tumors before and after decompression. Oral Dis. 2016;22:220-5.*

218. *Chaisuparat R, Yodsanga S, Montaner S, Jham BC. Activation of the Akt/mTOR pathway in dentigerous cysts, odontogenic keratocysts, and ameloblastomas. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013;116:336-42.*

219. *Hakim SG, Kosmehl H, Sieg P, Trenkle T, Jacobsen HC, Attila Benedek G, Ribbat J, Driemel O. Altered expression of cell-cell adhesion molecules β-catenin/E-cadherin and related Wnt-signaling pathway in sporadic and syndromal keratocystic odontogenic tumors. Clin Oral Investig. 2011;15:321-8.*

220. *Guimarães DM, Antunes DM, Saturno JL, Massuda F, Paiva KB, Nunes FD. Immunohistochemical expression of WNT5A and MMPs in odontogenic epithelial tumors and cysts. Acta Histochem. 2015;117:667-74.*

221. *Zhong WQ, Chen G, Zhang W, Xiong XP, Ren JG, Zhao Y, Liu B, Zhao YF. Down-regulation of connexin43 and connexin32 in keratocystic odontogenic tumours: potential association with clinical features. Histopathology. 2015;66:798-807.*

222. *Al-Otaibi O, Khounganian R, Anil S, Rajendran R. Syndecan-1 (CD 138) surface expression marks cell type and differentiation in ameloblastoma, keratocystic odontogenic tumor, and dentigerous cyst. J Oral Pathol Med. 2013;42:186-93*

223. *Porto LP, dos Santos JN, Ramalho LM, Figueiredo AL, Carneiro Júnior B, Gurgel CA, Paiva KB, Xavier FC. E-cadherin regulators are differentially expressed in the epithelium and stroma of keratocystic odontogenic tumors. J Oral Pathol Med. 2016;45:302-11.*

224. *Tekkesin MS, Mutlu S, Olgac V. The role of RANK/RANKL/OPG signalling pathways in osteoclastogenesis in odontogenic keratocysts, radicular cysts, and ameloblastomas. Head Neck Pathol. 2011;5:248-53.*

225. *da Silva TA, Batista AC, Mendonça EF, Leles CR, Fukada S, Cunha FQ. Comparative expression of RANK, RANKL, and OPG in keratocystic odontogenic tumors, ameloblastomas, and dentigerous cysts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008;105:333-41.*

226. *Poomsawat S, Punyasingh J, Weerapradist W. Expression of basement membrane components in odontogenic cysts. Oral Dis. 2006;12:290-6.*

227. *Amorim RF, Godoy GP, Galvão HC, Souza LB, Freitas RA. Immunohistochemical assessment of extracellular matrix components in syndrome and non-syndrome odontogenic keratocysts. Oral Dis. 2004;10:265-70.*

228. *Wang HC, Li TJ. The growth and osteoclastogenic effects of fibroblasts isolated from keratocystic odontogenic tumor. Oral Dis. 2013;19:162-8.*

229. *Wang HC, Jiang WP, Sima ZH, Li TJ. Fibroblasts isolated from a keratocystic odontogenic tumor promote osteoclastogenesis in vitro via interaction with epithelial cells. Oral Dis. 2015;21:170-7.*

230. *Sousa-Neto ES, Cangussu MC, Gurgel CA, Guimarães VS, Ramos EA, Xavier FC, Cury PR, Carneiro Júnior B, Leonardi R, Dos Santos JN. Interaction of stromal and microvascular components in keratocystic odontogenic tumors. J Oral Pathol Med. 2016;45:557-64.*

231. *Gadbail AR, Hande A, Chaudhary M, Nikam A, Gawande M, Patil S, Tekade S, Gondivkar S. Tumor angiogenesis in keratocystic odontogenic tumor assessed by using CD-105 antigen. J Oral Pathol Med. 2011;40:263-9.*

232. *Zhong WQ, Chen G, Zhang W, Xiong XP, Zhao Y, Liu B, Zhao YF. M2-polarized macrophages in keratocystic odontogenic tumor: relation to tumor angiogenesis. Sci Rep. 2015;5:15586.*

233. *Matos FT, Rizo VH, Almeida LY, Tirapelli C, Silva-Sousa YT, Almeida OP, León JE. Immunophenotypic characterization and distribution of dendritic cells in odontogenic cystic lesions. Oral Dis. 2013;19:85-91.*

234. *Leonardi R, Perrotta RE, Crimi S, Matthews JB, Barbato E, dos Santos JN, Rusu M, Bufo P, Bucci P, Pannone G Differential expression of TLR3 and TLR4 in keratocystic odontogenic tumor (KCOT): A comparative immunohistochemical study in primary, recurrent, and nevoid basal cell carcinoma syndrome (NBCCS)--associated lesions. J Craniomaxillofac Surg. 2015;43:733-7.*

235. *de Assis Caldas Pereira F, Gurgel CA, Ramos EA, Vidal MT, Pinheiro AL, Jurisic V, Sales CB, Cury PR, dos Santos JN. Distribution of mast cells in benign odontogenic tumors. Tumour Biol. 2012;33:455-61.*

236. *de Noronha Santos Netto J, Pires FR, da Fonseca EC, Silva LE, de Queiroz Chaves Lourenço S. Evaluation of mast cells in periapical cysts, dentigerous cysts, and keratocystic odontogenic tumors. J Oral Pathol Med. 2012;41:630-6.*

237. *Trzeciak WH, Koczorowski R. Molecular basis of hypohidrotic ectodermal dysplasia: an update. J Appl Genet. 2016;57:51-61.*

238. *Asai Y, Irvine AD. Ectodermal Dysplasias. In Harper's Textbook of Pediatric Dermatology, 3rd edition. Edited by A. Irvine, P. Hoeger and A. Yan.. 2011, Blackwell Publishing Ltd:127.01 – 127.104.*

239. *de Aquino SN, Paranaíba LM, Swerts MS, Martelli DR, de Barros LM, Martelli Júnior H. Orofacial features of hypohidrotic ectodermal dysplasia. Head Neck Pathol. 2012;6:460-6.*

240. *Bergendal B. Orodental manifestations in ectodermal dysplasia-a review. Am J Med Genet A. 2014;164A:2465-71.*

241. *Gros CI, Clauss F, Obry F, Manière MC, Schmittbuhl M. Quantification of taurodontism: interests in the early diagnosis of hypohidrotic ectodermal dysplasia. Oral Dis. 2010;16:292-8.*

242. *Sadier A, Viriot L, Pantalacci S, Laudet V. The ectodysplasin pathway: from diseases to adaptations. Trends Genet. 2014;30:24-31.*

243. *Kere J, Srivastava AK, Montonen O, Zonana J, Thomas N, Ferguson B, Munoz F, Morgan D, Clarke A, Baybayan P, Chen EY, Ezer S, Saarialho-Kere U, de la Chapelle A, Schlessinger D. X-linked anhidrotic (hypohidrotic) ectodermal dysplasia is caused by mutation in a novel transmembrane protein. Nat Genet. 1996;13:409-16.*

244. *Ferguson BM, Brockdorff N, Formstone E, Ngyuen T, Kronmiller JE, Zonana J. Cloning of Tabby, the murine homolog of the human EDA gene: evidence for a membrane-associated protein with a short collagenous domain. Hum Mol Genet. 1997;6:1589-94.*

245. *Srivastava AK, Pispa J, Hartung AJ, Du Y, Ezer S, Jenks T, Shimada T, Pekkanen M, Mikkola ML, Ko MS, Thesleff I, Kere J, Schlessinger D. The Tabby phenotype is caused by mutation in a mouse homologue of the EDA gene that reveals novel mouse and human exons and encodes a protein (ectodysplasin-A) with collagenous domains. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997;94:13069-74.*

246. *Headon DJ, Overbeek PA. Involvement of a novel Tnf receptor homologue in hair follicle induction. Nat Genet. 1999;22:370-4.*

247. Monreal AW, Ferguson BM, Headon DJ, Street SL, Overbeek PA, Zonana J. Mutations in the human homologue of mouse dl cause autosomal recessive and dominant hypohidrotic ectodermal dysplasia. Nat Genet. 1999;22:366-9.

248. Headon DJ, Emmal SA, Ferguson BM, Tucker AS, Justice MJ, Sharpe PT, Zonana J, Overbeek PA. Gene defect in ectodermal dysplasia implicates a death domain adapter in development. Nature. 2001;414:913-6.

249. Chassaing N, Cluzeau C, Bal E, Guigue P, Vincent MC, Viot G, Ginisty D, Munnich A, Smahi A, Calvas P. Mutations in EDARADD account for a small proportion of hypohidrotic ectodermal dysplasia cases. Br J Dermatol. 2010;162:1044-8.

250. Cluzeau C, Hadj-Rabia S, Jambou M, Mansour S, Guigue P, Masmoudi S, Bal E, Chassaing N, Vincent MC, Viot G, Clauss F, Manière MC, Toupenay S, Le Merrer M, Lyonnet S, Cormier-Daire V, Amiel J, Faivre L, de Prost Y, Munnich A, Bonnefont JP, Bodemer C, Smahi A. Only four genes (EDA1, EDAR, EDARADD, and WNT10A) account for 90% of hypohidrotic/anhidrotic ectodermal dysplasia cases. Hum Mutat. 2011;32:70-2.

251. Wohlfart S, Hammersen J, Schneider H. Mutational spectrum in 101 patients with hypohidrotic ectodermal dysplasia and breakpoint mapping in independent cases of rare genomic rearrangements. J Hum Genet. 2016;61:891-897.

252. Mikkola ML. Molecular aspects of hypohidrotic ectodermal dysplasia. Am J Med Genet A. 2009;149A:2031-6.

253. Yin W, Ye X, Fan H, Bian Z. Methylation state of the EDA gene promoter in Chinese X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia carriers. PLoS One. 2013;8:e62203.

254. Ruf S, Klimas D, Hönemann M, Jabir S. Genetic background of nonsyndromic oligodontia: a systematic review and meta-analysis. J Orofac Orthop. 2013;74:295-308.

255. Zeng B, Zhao Q, Li S, Lu H, Lu J, Ma L, Zhao W, Yu D. Novel EDA or EDAR Mutations Identified in Patients with X-Linked Hypohidrotic Ectodermal Dysplasia or Non-Syndromic Tooth Agenesis. Genes (Basel). 2017;8. pii: E259.

256. Yin W, Bian Z. The Gene Network Underlying Hypodontia. J Dent Res. 2015;94:878-85.

257. *Yamaguchi T, Hosomichi K, Yano K, Kim YI, Nakaoka H, Kimura R, Otsuka H, Nonaka N, Haga S, Takahashi M, Shirota T, Kikkawa Y, Yamada A, Kamijo R, Park SB, Nakamura M, Maki K, Inoue I. Comprehensive genetic exploration of selective tooth agenesis of mandibular incisors by exome sequencing. Hum Genome Var. 2017;4:17005.*

258. *Mitsiadis TA, Luder HU. Genetic basis for tooth malformations: from mice to men and back again. Clin Genet. 2011;80:319-29.*

259. *Gaczkowska A, Abdalla EM, Dowidar KM, Elhady GM, Jagodzinski PP, Mostowska A. De novo EDA mutations: Variable expression in two Egyptian families. Arch Oral Biol. 2016;68:21-8.*

260. *Shen W, Wang Y, Liu Y, Liu H, Zhao H, Zhang G, Snead ML, Han D, Feng H. Functional Study of Ectodysplasin-A Mutations Causing Non-Syndromic Tooth Agenesis. PLoS One. 2016;11:e0154884.*

261. *Mues G, Tardivel A, Willen L, Kapadia H, Seaman R, Frazier-Bowers S, Schneider P, D'Souza RN. Functional analysis of Ectodysplasin-A mutations causing selective tooth agenesis. Eur J Hum Genet. 2010;18:19-25.*

262. *Lefebvre S, Mikkola ML. Ectodysplasin research--where to next? Semin Immunol. 2014;26:220-8.*

263. *Mikkola ML. TNF superfamily in skin appendage development. Cytokine Growth Factor Rev. 2008;19:219-30.*

264. *Kowalczyk-Quintas C, Schneider P. Ectodysplasin A (EDA) - EDA receptor signalling and its pharmacological modulation. Cytokine Growth Factor Rev. 2014;25:195-203.*

265. *Hashimoto T, Cui CY, Schlessinger D. Repertoire of mouse ectodysplasin-A (EDA-A) isoforms. Gene. 2006;371:42-51.*

266. *Bayés M, Hartung AJ, Ezer S, Pispa J, Thesleff I, Srivastava AK, Kere J. The anhidrotic ectodermal dysplasia gene (EDA) undergoes alternative splicing and encodes ectodysplasin-A with deletion mutations in collagenous repeats. Hum Mol Genet. 1998;7:1661-9.*

267. *Yan M, Wang LC, Hymowitz SG, Schilbach S, Lee J, Goddard A, de Vos AM, Gao WQ, Dixit VM. Two-amino acid molecular switch in an epithelial morphogen that regulates binding to two distinct receptors. Science. 2000;290:523-7.*

268. *Hymowitz SG, Compaan DM, Yan M, Wallweber HJ, Dixit VM, Starovasnik MA, de Vos AM. The crystal structures of EDA-A1 and EDA-A2: splice variants with distinct receptor specificity. Structure. 2003;11:1513-20.*

269. *Cui CY, Schlessinger D. EDA signaling and skin appendage development. Cell Cycle. 2006;5:2477-83.*

270. *Verhelst K, Gardam S, Borghi A, Kreike M, Carpentier I, Beyaert R. XEDAR activates the non-canonical NF-κB pathway. Biochem Biophys Res Commun. 2015;465:275-80.*

271. *Newton K, French DM, Yan M, Frantz GD, Dixit VM. Myodegeneration in EDA-A2 transgenic mice is prevented by XEDAR deficiency. Mol Cell Biol. 2004;24:1608-13.*

272. *Tanikawa C, Furukawa Y, Yoshida N, Arakawa H, Nakamura Y, Matsuda K. XEDAR as a putative colorectal tumor suppressor that mediates p53-regulated anoikis pathway. Oncogene. 2009;28:3081-92.*

273. *Punj V, Matta H, Chaudhary PM. X-linked ectodermal dysplasia receptor is downregulated in breast cancer via promoter methylation. Clin Cancer Res. 2010;16:1140-8.*

274. *Laurikkala J, Mikkola M, Mustonen T, Aberg T, Koppinen P, Pispa J, Nieminen P, Galceran J, Grosschedl R, Thesleff I. TNF signaling via the ligand-receptor pair ectodysplasin and edar controls the function of epithelial signaling centers and is regulated by Wnt and activin during tooth organogenesis. Dev Biol. 2001;229:443-55.*

275. *Zhang Y, Tomann P, Andl T, Gallant NM, Huelsken J, Jerchow B, Birchmeier W, Paus R, Piccolo S, Mikkola ML, Morrisey EE, Overbeek PA, Scheidereit C, Millar SE, Schmidt-Ullrich R. Reciprocal requirements for EDA/EDAR/NF-kappaB and Wnt/beta-catenin signaling pathways in hair follicle induction. Dev Cell. 2009;17:49-61.*

276. *Laurikkala J, Pispa J, Jung HS, Nieminen P, Mikkola M, Wang X, Saarialho-Kere U, Galceran J, Grosschedl R, Thesleff I. Regulation of hair follicle development by the TNF signal ectodysplasin and its receptor Edar. Development. 2002;129:2541-53.*

277. Shirokova V1, Jussila M, Hytönen MK, Perälä N, Drögemüller C, Leeb T, Lohi H, Sainio K, Thesleff I, Mikkola ML. Expression of Foxi3 is regulated by ectodysplasin in skin appendage placodes. Dev Dyn. 2013;242:593-603.

278. Lindfors PH, Voutilainen M, Mikkola ML. Ectodysplasin/NF-κB signaling in embryonic mammary gland development. J Mammary Gland Biol Neoplasia. 2013;18:165-9.

279. Elomaa O, Pulkkinen K, Hannelius U, Mikkola M, Saarialho-Kere U, Kere J. Ectodysplasin is released by proteolytic shedding and binds to the EDAR protein. Hum Mol Genet. 200115;10:953-62.

280. Sedger LM, McDermott MF. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants - past, present and future. Cytokine Growth Factor Rev. 2014;25:453-72.

281. Zonana J, Elder ME, Schneider LC, Orlow SJ, Moss C, Golabi M, Shapira SK, Farndon PA, Wara DW, Emmal SA, Ferguson BM. A novel X-linked disorder of immune deficiency and hypohidrotic ectodermal dysplasia is allelic to incontinentia pigmenti and due to mutations in IKK-gamma (NEMO). Am J Hum Genet. 2000;67:1555-62.

282. Schmidt-Ullrich R, Aebischer T, Hülsken J, Birchmeier W, Klemm U, Scheidereit C. Requirement of NF-kappaB/Rel for the development of hair follicles and other epidermal appendices. Development. 2001;128:3843-53.

283. Mou C, Jackson B, Schneider P, Overbeek PA, Headon DJ. Generation of the primary hair follicle pattern. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103:9075-80.

284. Lefebvre S, Fliniaux I, Schneider P, Mikkola ML. Identification of ectodysplasin target genes reveals the involvement of chemokines in hair development. J Invest Dermatol. 2012;132:1094-102.

285. Voutilainen M, Lindfors PH, Trela E, Lönnblad D, Shirokova V, Elo T, Rysti E, Schmidt-Ullrich R, Schneider P, Mikkola ML. Ectodysplasin/NF-κB Promotes Mammary Cell Fate via Wnt/β-catenin Pathway. PLoS Genet. 2015;11:e1005676.

286. Voutilainen M, Lindfors PH, Lefebvre S, Ahtiainen L, Fliniaux I, Rysti E, Murtoniemi M, Schneider P, Schmidt-Ullrich R, Mikkola ML. Ectodysplasin regulates hormone-independent mammary ductal morphogenesis via NF-κB. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012;109:5744-9.

287. Fliniaux I, Mikkola ML, Lefebvre S, Thesleff I. Identification of dkk4 as a target of Eda-A1/Edar pathway reveals an unexpected role of ectodysplasin as inhibitor of Wnt signalling in ectodermal placodes. Dev Biol. 2008;320:60-71.

288. Li S, Zhou J, Zhang L, Li J, Yu J, Ning K, Qu Y, He H, Chen Y, Reinach PS, Liu CY, Liu Z, Li W. Ectodysplasin A regulates epithelial barrier function through sonic hedgehog signalling pathway. J Cell Mol Med. 2018;22:230-240.

289. Pummila M, Fliniaux I, Jaatinen R, James MJ, Laurikkala J, Schneider P, Thesleff I, Mikkola ML. Ectodysplasin has a dual role in ectodermal organogenesis: inhibition of Bmp activity and induction of Shh expression. Development. 2007;134:117-25.

290. Häärä O, Harjunmaa E, Lindfors PH, Huh SH, Fliniaux I, Åberg T, Jernvall J, Ornitz DM, Mikkola ML, Thesleff I. Ectodysplasin regulates activator-inhibitor balance in murine tooth development through Fgf20 signaling. Development. 2012;139:3189-99.

291. Tucker AS, Headon DJ, Schneider P, Ferguson BM, Overbeek P, Tschopp J, Sharpe PT. Edar/Eda interactions regulate enamel knot formation in tooth morphogenesis. Development. 2000;127:4691-700.

292. Jussila M, Crespo Yanez X, Thesleff I. Initiation of teeth from the dental lamina in the ferret. Differentiation. 2014;87:32-43.

293. Ahtiainen L, Uski I, Thesleff I, Mikkola ML. Early epithelial signaling center governs tooth budding morphogenesis. J Cell Biol. 2016;214:753-67.

294. Mustonen T, Pispa J, Mikkola ML, Pummila M, Kangas AT, Pakkasjärvi L, Jaatinen R, Thesleff I. Stimulation of ectodermal organ development by Ectodysplasin-A1. Dev Biol. 2003 1;259:123-36.

295. Tucker AS, Headon DJ, Courtney JM, Overbeek P, Sharpe PT. The activation level of the TNF family receptor, Edar, determines cusp number and tooth number during tooth development. Dev Biol. 2004;268:185-94.

296. Fons Romero JM, Star H, Lav R, Watkins S, Harrison M, Hovorakova M, Headon D, Tucker AS. The Impact of the Eda Pathway on Tooth Root Development. J Dent Res. 2017;96:1290-1297.

297. Canene-Adams K. Preparation of formalin-fixed paraffin-embedded tissue for immunohistochemistry. Methods Enzymol 2013;533:225-33

298. Bonds J, Pollan-White S, Xiang L, Mues G, D'Souza R. Is there a link between ovarian cancer and tooth agenesis? Eur J Med Genet. 2014;57:235-9.

299. Sisto M, Barca A, Lofrumento DD, Lisi S. Downstream activation of NF-κB in the EDA-A1/EDAR signalling in Sjögren's syndrome and its regulation by the ubiquitin-editing enzyme A20. Clin Exp Immunol. 2016;184:183-96.

300. Rimm DL. What brown cannot do for you. Nat Biotechnol 2006; 24: 914-6.

301. Buchwalow I, Samoilova V, Boecker W, Tiemann M. Non-specific binding of antibodies in immunohistochemistry: fallacies and facts. Sci Rep. 2011;1:28.

302. Danbolt NC, Zhou Y, Furness DN, Holmseth S. Strategies for immunohistochemical protein localization using antibodies: What did we learn from neurotransmitter transporters in glial cells and neurons. Glia. 2016;64:2045-2064.