

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ ΤΜΗΜΑ ΟΔΟΝΤΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ: ΣΤΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

**ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ
ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΡΑΧ9
ΚΑΙ ΒΜΡ4 ΣΕ ΚΕΝΤΡΙΚΑ ΚΑΙ
ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΑ ΓΙΓΑΝΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΑ
ΚΟΚΚΙΩΜΑΤΑ ΤΩΝ ΓΝΑΘΩΝ**

ΓΚΙΛΑΣ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2014

Επιβλέπων καθηγητής για την εκπόνηση της Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας:

Κωνσταντίνος Τόσιος, Επίκουρος Καθηγητής Στοματολογίας

Τριμελής Επιτροπή για την αξιολόγηση της Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας:

- Αλεξάνδρα Σκλαβούνου, Καθηγήτρια, Διευθύντρια του Εργαστηρίου της Στοματολογίας
- Ευανθία Χρυσομάλη, Επίκουρη Καθηγήτρια Στοματολογίας
- Κωνσταντίνος Τόσιος, Επίκουρος Καθηγητής Στοματολογίας

Περιεχόμενα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	6
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	9
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	10
1.Κεντρικό Γιγαντοκυτταρικό Κοκκίωμα Γνάθων	10
1.1 Εισαγωγικά.....	10
1.2 Επιδημιολογικά στοιχεία - εντόπιση	12
1.3 Κλινική εικόνα.....	13
1.4 Ακτινογραφική εικόνα	15
1.5.1 Ιστολογική εικόνα – Ανοσοϊστοχημική εικόνα - Ιστογένεση	18
1.5.2 Συγκριτικές ιστολογικές μελέτες μεταξύ ΚΓΚ και ΓΚΟΟ	24
1.6 Διαφορική διάγνωση.....	25
1.7 Θεραπεία – Πρόγνωση.....	26
1.7.1 Κορτικοστεροειδή	29
1.7.2 Καλσιτονίνη	31
1.7.3 Ιντερφερόνη α.....	32
1.7.4 Άλλοι πιθανοί θεραπευτικοί παράγοντες	33
2. Περιφερικό γιγαντοκυτταρικό κοκκίωμα.....	34
2.1 Εισαγωγικά.....	34
2.2 Επιδημιολογικά στοιχεία - εντόπιση	34
2.3 Αιτιολογία – παθογένεια	35
2.4 Κλινική εικόνα.....	36
2.5 Ακτινογραφική εικόνα	37
2.6 Ιστολογική εικόνα	39
2.7 Διαφορική διάγνωση.....	40
2.8 Θεραπεία – Πρόγνωση.....	40
3. Οδοντογένεση – Πρωτεΐνες Bmp4 και Pax9.....	42
3.1 Εισαγωγή	42
3.2 Εκτομεσέγχυμα.....	44

3.3 Pax9	46
3.3.1 Γενικά για τις Pax	46
3.3.2 Ο ρόλος της Pax9 στην οδοντογένεση – Αλληλεπίδραση με την Msx1 και την Bmp4	47
3.3.3 Έκφραση της Pax9 στις γνάθους	49
3.4 Bmp4	49
3.4.1 Γενικά για τις Bmps	49
3.4.2 Δράσεις της Bmp4 και εμπλοκή στην οδοντογένεση και τον σχηματισμό των γνάθων	51
3.4.3 Έκφραση της Bmp4	54
3.4.4 Msx1, Pax9, Bmp4 και γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα	54
4.1 Συμπεράσματα γενικού μέρους	55
4.2 Σκοπός της μελέτης	56
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	57
4.1 Υλικό	57
4.2 Μέθοδος	58
4.2.1 Ανοσοϊστοχημεία	58
4.2.2 Θετικοί μάρτυρες	59
4.2.3 Αξιολόγηση ανοσοϊστοχημικής χρώσης	62
4.2.4 Στατιστική αξιολόγηση	63
4.3 Αποτελέσματα	65
4.3.1 Κλινικά χαρακτηριστικά	65
4.3.2 Ιστολογικά χαρακτηριστικά	67
4.3.3 Αναλυτικοί πίνακες αποτελεσμάτων	72
4.3.4 Έκφραση της Pax9 στα κεντρικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα	78
4.3.5 Έκφραση της Pax9 στα περιφερικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα	81
4.3.6 Έκφραση της Bmp4 στα κεντρικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα	83
4.3.7 Έκφραση της Bmp4 στα περιφερικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα	86
5 Συζήτηση	91

5.1 Επιδημιολογικά – κλινικά χαρακτηριστικά	91
5.2 Έκφραση της Pax9	91
5.3 Έκφραση της Bmp4	94
5.4 Μελλοντικές προοπτικές	96
Περίληψη	99
Summary	102
Βιβλιογραφία	105

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα κεντρικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα των γνάθων (ΚΓΚ) είναι καλοήθεις οστεολυτικές βλάβες, αγνώστου αιτιολογίας, οι οποίες περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τον Jaffe το 1953. Σε εκείνη την πρώτη περιγραφή, τα ονόμασε «επανορθωτικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα», θέλοντας να τονίσει την διαφορετική τους κλινική συμπεριφορά από τους γιγαντοκυτταρικούς όγκους των μακρών οστών (ΓΚΟΟ), οι οποίοι σε αντίθεση με αυτά, αποτελούν αληθή νεοπλάσματα. Μέχρι σήμερα, η πλειοψηφία του επιστημονικού κόσμου εξακολουθεί να μην θεωρεί τα ΚΓΚ αληθή νεοπλάσματα, έχει όμως καταστεί σαφές ότι δεν σχετίζονται με διεργασίες επανόρθωσης, συνεπώς ο όρος «επανορθωτικό» έχει εγκαταλειφθεί. Μάλιστα, συχνά αναφέρονται απλά ως γιγαντοκυτταρικές βλάβες.

Τα ΚΓΚ εκδηλώνονται ως μη επιθετικές ή επιθετικές βλάβες ανάλογα με τον ρυθμό ανάπτυξής τους, τη συμπτωματολογία και την τάση για υποτροπή. Συχνότερα εμφανίζονται στις πρόσθιες περιοχές των γνάθων και κυρίως της κάτω. Εμφανίζουν προτίμηση στις γυναίκες και σε ηλικίες μικρότερες των 30 ετών. Ιστολογικά αποτελούνται από διάσπαρτα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα σε στρώμα από ατρακτοειδή ή στρογγυλά/ωοειδή μονοπύρρηνα κύτταρα, εικόνα ίδια ή παρόμοια με άλλες βλάβες όπως ο χερουβισμός, ο φαιός όγκος του υπερπαραθυρεοειδισμού και η ανευρυσματική κύστη.

Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα που ανευρίσκονται στα ΚΓΚ αρχικά θεωρήθηκαν γιγαντοκύτταρα τύπου ξένου σώματος, πλέον όμως η δημοφιλέστερη θεωρία είναι ότι προέρχονται από οστεοκλάστες που φτάνουν στην περιοχή της βλάβης, ύστερα από κάποιο άγνωστο ερέθισμα. Όμως, ο κυτταρικός πληθυσμός ο οποίος κύρια είναι ενεργός και πολλαπλασιαζόμενος είναι τα μονοπύρρηνα κύτταρα του στρώματος και όχι τα γιγαντοκύτταρα. Αυτά προέρχονται πιθανότατα από οστεοβλάστες και πιστεύεται ότι ευθύνονται για την ενεργοποίηση των γιγαντοκυττάρων/οστεοκλαστών ή ότι αποτελούν προγονικά τους κύτταρα.

Τα ΚΓΚ συνήθως αντιμετωπίζονται με χειρουργική εκπηρήνιση, ενώ λιγότερο συχνά με χορήγηση χημειοθεραπευτικών παραγόντων όπως τα κορτικοστεροειδή, η καλσιτονίνη και η ιντερφερόνη. Τα ποσοστά υποτροπών είναι περίπου 15-20%, με τις επιθετικές βλάβες να υποτροπιάζουν ακόμα συχνότερα. Παρά το γεγονός αυτό όμως, τα ΚΓΚ έχουν γενικά καλή πρόγνωση και δεν μεθίστανται.

Τα περιφερικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα των γνάθων (ΠΓΚ) είναι βλάβες των ούλων αντιδραστικής φύσεως. Θεωρείται ότι προέρχονται από την περιοδοντική

μεμβράνη ή το βλεννογονοπεριόστεο. Απαντώνται συχνότερα στην κάτω γνάθο και εμφανίζουν μικρή προτίμηση στις γυναίκες. Ιστολογικά είναι παρόμοια με τα ΚΓΚ και παρόλο το γεγονός ότι πολλοί ερευνητές θεωρούν ότι πρόκειται για το περιφερικό ανάλογό τους, αυτό δεν είναι απόλυτα σαφές. Η διάγνωση και θεραπεία τους γίνεται με ολική αφαίρεση και το ποσοστό υποτροπής τους αγγίζει το 10%.

Αν μπορούν να εμφανιστούν στις γνάθους αληθείς ΓΚΟΟ σαν εκείνους που εκδηλώνονται στα μακρά οστά, παραμένει μέχρι σήμερα ένα αναπάντητο ερώτημα. Όμως πολλοί ερευνητές θεωρούν τα ΚΓΚ ως όμοιες νοσολογικές οντότητες με τους ΓΚΟΟ, οι οποίες για άγνωστους λόγους εμφανίζουν διαφορετική βιολογική συμπεριφορά. Οι ΓΚΟΟ παρόλη την καλοήγη ιστολογική τους εικόνα είναι τοπικά επιθετικές βλάβες και ενίοτε μεθίστανται στους πνεύμονες. Τα ΚΓΚ απαντούν αποκλειστικά στις οδοντοφόρες περιοχές των γνάθων και σύμφωνα με μια άποψη, η διαφορετική βιολογική τους συμπεριφορά μπορεί να σχετίζεται με την ανατομική τους εντόπιση. Ως γνωστόν, το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των γνάθων σε σχέση με τον υπόλοιπο ανθρώπινο σκελετό είναι ότι φέρουν οδόντες και κατά συνέπεια ότι από τα οστά αυτά ξεκινά η διαδικασία της οδοντογένεσης. Επίσης, οι γνάθοι εμβρυολογικά προέρχονται από το εκτομεσέγχυμα και κατά συνέπεια από το έξω βλαστικό δέρμα σε αντίθεση με τα υπόλοιπα οστά του οργανισμού τα οποία προέρχονται από το μέσο βλαστικό δέρμα. Οι Houris και συν. το 2010 [1] έδειξαν ότι τα ΚΓΚ εκφράζουν την πρωτεΐνη *Msx1* η οποία αποτελεί έναν δείκτη εκτομεσεγγύματος και μόριο σημαντικό κατά την οδοντογένεση, γεγονός το οποίο είναι ενδεικτικό για την εμπλοκή της μοριακής αυτής οδού στην αιτιοπαθογένεια των ΚΓΚ. Επιπλέον, έχουν αναφερθεί στο παρελθόν περιπτώσεις ΚΓΚ σε συσχέτιση με οδοντογενείς όγκους και σύμφωνα με μια άποψη το γεγονός αυτό παριστά ενεργοποίηση οδοντογενούς επιθηλίου από τα ίδια τα ΚΓΚ (Tosios και συν. 2008 [2]). Ανεύρεση μορίων τα οποία σχετίζονται με την εκτομεσεγγυματική προέλευση των οστών των γνάθων καθώς και με την βιολογική διαδικασία της οδοντογένεσης, θα μπορούσε να στηρίξει τις παραπάνω θεωρίες και να δώσει φως στους αιτιοπαθογενετικούς μηχανισμούς των ΚΓΚ.

Στον παρόν σύγγραμμα, αρχικά επιχειρείται μια βιβλιογραφική ανασκόπηση των νοσολογικών οντοτήτων που μελετώνται, δηλαδή των γιγαντοκυτταρικών κοκκιωμάτων των γνάθων, κεντρικών και περιφερικών, η οποία περιλαμβάνει στοιχεία σχετικά με την επιδημιολογία τους, την αιτιοπαθογένεια, την κλινική, ακτινογραφική και ιστολογική τους εικόνα καθώς και την πρόγνωση και αντιμετώπισή τους. Στην συνέχεια παρατίθενται βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την οδοντογένεση και το εκτομεσέγχυμα των γνάθων, καθώς και αναλυτικά ο ρόλος και η λειτουργία των δύο πρωτεϊνών που μελετήθηκαν, της *Pax9* και *Bmp4*. Στην επόμενη

ενότητα αναφέρονται το υλικό που χρησιμοποιήθηκε, η ακριβής μέθοδος που εφαρμόστηκε καθώς και τα αποτελέσματα που εξάχθηκαν, μέσα από μια σειρά εικόνων, πινάκων και γραφημάτων. Τέλος, στην ενότητα της συζήτησης αναλύονται τα συμπεράσματα της μελέτης και πιθανές προοπτικές για μελλοντικές εργασίες.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα καταρχήν να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή της Στοματολογίας, κο. Κωνσταντίνο Τόσιο, ο οποίος ως επιβλέπων της παρούσας διπλωματικής εργασίας, ενθάρρυνε και συνέβαλλε σημαντικά στην συγγραφή της με τις καίριες παρεμβάσεις και συμβουλές του.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ επίσης για την Διευθύντρια της Στοματολογίας, Καθηγήτρια κα. Αλεξάνδρα Σκλαβούνου η οποία στήριξε με την διδασκαλία της και την μεταλαμπάδευση της κλινικής της εμπειρίας την εκπαίδευσή μου, από τα πρώτα ακόμα βήματα της ενασχόλησής μου με την Στοματολογία, κατά την διάρκεια των φοιτητικών μου χρόνων, μέχρι και σήμερα.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον διδάκτορα της Στοματικής και Γναθοπροσωπικής χειρουργικής, κο. Κωνσταντίνο Χούπη του οποίου η διδακτορική διατριβή αποτέλεσε το έναυσμα και την έμπνευση για την ιδέα της εργασίας που θα παρατεθεί στην συνέχεια του παρόντος κειμένου. Αισθάνομαι βαθιά υποχρεωμένος στον προαναφερθέντα για την σημαντική συμβολή του στην εκτέλεση των πειραμάτων, χωρίς την οποία θα ήταν δύσκολο να ολοκληρωθούν. Σημαντική ήταν και τον ευχαριστώ για αυτό, η συμβολή του κου. Ιωάννη G. Koutla, Επίκουρου Καθηγητή του Τμήματος Παθολογίας Στόματος του Πανεπιστημίου της Minnesota για την παροχή πολύτιμου ιστοπαθολογικού υλικού.

Θα ήθελα τέλος να ευχαριστήσω το σύνολο των μελών ΔΕΠ και του προσωπικού του εργαστηρίου της Στοματολογίας για την συμβολή τους στην εκπαίδευσή μου αυτά τα 3 χρόνια, δίνοντας ιδιαίτερη έμφαση στους μεταπτυχιακούς συμφοιτητές μου με τους οποίους η συνεργασία σε όλα τα επίπεδα ήταν απρόσκοπτη, δημιουργική και παραγωγική.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.Κεντρικό Γιγαντοκυτταρικό Κοκκίωμα Γνάθων

1.1 Εισαγωγικά

Το 1953 ο Jaffe για πρώτη φορά περιέγραψε μια βλάβη των γνάθων, όμοια ιστολογικά με τον ΓΚΟΟ αλλά με διαφορετική κλινική συμπεριφορά, ονομάζοντάς την «επανορθωτικό γιγαντοκυτταρικό κοκκίωμα» [3]. Στην πρώτη εκείνη αναφορά ο Jaffe τονίζει ότι η βλάβη αυτή δεν είναι αληθές νεόπλασμα όπως ο ΓΚΟΟ, αλλά οφείλεται σε επανορθωτικές διαδικασίες των οστών των γνάθων. Επίσης, επισημαίνει ότι σε αντίθεση με τον ΓΚΟΟ δεν έχει μεγάλα ποσοστά υποτροπής ούτε μεταστατικό δυναμικό ενώ εφιστά την προσοχή ιδιαίτερα στην διαφορική διάγνωση του από τον φαιό όγκο του υπερπαραθυρεοειδισμού ο οποίος έχει διαφορετική αιτιολογία.

Ένα χρόνο αργότερα, οι Umiker και Gerry παρουσιάζουν δύο περιπτώσεις «επανορθωτικού γιγαντοκυτταρικού κοκκιώματος», αναφέροντάς τα ως «ψευδο-γιγαντοκυτταρικούς όγκους» [4]. Καταλήγουν επίσης σε σημαντικά συμπεράσματα όπως ότι είναι πολύ συχνότερο από τον ΓΚΟΟ, εμφανίζεται συχνά σε ηλικίες μικρότερες των 21 ετών και ότι ιστολογικά υπάρχουν κάποιες μικρές διαφορές μεταξύ των δύο βλαβών. Μάλιστα, στο άρθρο τους υπάρχει και ένας λεπτομερειακός συγκεντρωτικός πίνακας όλων των διαφορών μεταξύ ΓΚΟΟ και επανορθωτικού κοκκιώματος. Ο Abrams το 1974 [5], μελέτησε και συνέκρινε 10 περιπτώσεις βλαβών των γνάθων με ισάριθμους ΓΚΟΟ και βρήκε ότι τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα των τελευταίων είναι γενικά μεγαλύτερα σε διαστάσεις και με περισσότερους πυρήνες, ενισχύοντας έτσι την άποψη ότι πρόκειται περί ξεχωριστών οντοτήτων. Παρόλα αυτά επισημαίνει πως σε σημαντικό ποσοστό τα ιστολογικά χαρακτηριστικά είναι όμοια. Λίγα χρόνια αργότερα οι Franklin και συν. [6] αφού συνέκριναν με ιστολογικές μεθόδους τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τον ΓΚΟΟ με κεντρικά και περιφερικά επανορθωτικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα, χωρίς να βγάλουν ασφαλή συμπεράσματα, πρότειναν ότι η απάντηση στο ερώτημα της διαφορετικής τους βιολογικής συμπεριφοράς, ίσως να κρύβεται στα μονοπύρρηνα κύτταρα του στρώματος.

Ο Austin και συν. το 1959 έκαναν μια αναδρομική μελέτη των γιγαντοκυτταρικών βλαβών 50 χρόνων στην κλινική Mayo [7] των Η.Π.Α. Σημείωσαν την σπανιότητα του ΓΚΟΟ στις γνάθους αναφέροντας ότι αναγνώρισαν 2 αληθείς

τέτοιους όγκους σε σύνολο 64 περιπτώσεων επανορθωτικών γιγαντοκυτταρικών κοκκιωμάτων. Είναι όμως γεγονός ότι στην μελέτη αυτή υπάρχει μια ασάφεια σε ότι αφορά τα κριτήρια διάκρισης μεταξύ των δύο οντοτήτων και στην ταξινόμηση μεταξύ κεντρικών και περιφερικών γιγαντοκυτταρικών κοκκιωμάτων.

Αμέσως μετά την πρώτη περιγραφή των επανορθωτικών γιγαντοκυτταρικών κοκκιωμάτων, υπήρξε έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον γύρω από τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα και την πιθανή προέλευσή τους. Σε μια από τις πρώτες ερευνητικές μελέτες του Wertheimer το 1967 [8], μελετήθηκε πλήθος ιστοχημικών δεικτών και έγινε σύγκριση με την έκφραση των δεικτών αυτών σε άλλες βλάβες όπου κυριαρχούν τα γιγαντοκύτταρα καθώς και με τις φυσιολογικές οστεοκλάστες. Το συμπέρασμα στο οποίο καταλήγει είναι ότι η ενζυματική δραστηριότητα των πολυπύρρηνων γιγαντοκυττάρων στις βλάβες των γνάθων είναι παρόμοια με αυτήν των οστεοκλαστών, κάτι που για πρώτη ίσως φορά ενισχύει την σημερινή επικρατούσα άποψη για την οστεοκλαστική φύση των πολυπύρρηνων γιγαντοκυττάρων. Παρόλα αυτά, ήδη από νωρίς είχε διατυπωθεί η αντίπαλη θεωρία της φαγοκυτταρικής τους φύσης, με την ανεύρεση στο κυτταρόπλασμά τους κοκκίων αιμοσιδηρίνης καθώς και μεγάλων κυστιδίων, η φύση όμως των οποίων ήταν άγνωστη [9]. Οι Adkins και συν. το 1969 σε μια λεπτομερειακή ιστολογική μελέτη επανορθωτικών γιγαντοκυτταρικών κοκκιωμάτων [10], δεν βρήκαν στοιχεία φαγοκυτταρικής δραστηριότητας στα γιγαντοκύτταρα. Επίσης διατύπωσαν την άποψη ότι πιθανώς τα μονοπύρρηνα κύτταρα του στρώματος, τα οποία χαρακτήρισαν ως ινοβλάστες, έχουν παρόμοια κυτταροπλασματικά και πυρηνικά χαρακτηριστικά με τα γιγαντοκύτταρα και τα τελευταία πιθανώς να προκύπτουν από την σύντηξή τους. Την άποψη αυτή ενίσχυσαν με τις παρατηρήσεις τους οι Labban & Lee το 1983 [11], υποστηρίζοντας ότι τα μονοπύρρηνα του στρώματος έχουν μυοϊνοβλαστικούς χαρακτήρες και συντήκονται για να σχηματίσουν πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα.

Το βιολογικό υπόβαθρο και η ιστογενετική προέλευση των «επανορθωτικών γιγαντοκυτταρικών κοκκιωμάτων» των γνάθων παραμένει μέχρι σήμερα πεδίο ερευνών και αντιπαράθεσης. Πλέον έχει γίνει σαφές ότι οι βλάβες αυτές δεν είναι «επανορθωτικές» αλλά αντιθέτως οστεολυτικές, οπότε η λέξη αυτή έχει εξαιρεθεί και καλούνται πλέον κεντρικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα των γνάθων (ΚΓΚ). Εξάλλου συνήθως δεν συνοδεύονται από ιστορικό τραύματος. Οι σύγχρονες τεχνικές μοριακής βιολογίας έχουν δείξει επίσης, σε συμφωνία με την παραπάνω κλινική παρατήρηση, ότι τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα που χαρακτηρίζουν την βλάβη, έχουν χαρακτηριστικά οστεοκλαστών.

Πλέον, σύμφωνα με την σύγχρονη ταξινόμηση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO 2005), η κεντρική γιγαντοκυτταρική βλάβη ή κεντρικό γιγαντοκυτταρικό κοκκίωμα ή επανορθωτικό γιγαντοκυτταρικό κοκκίωμα των γνάθων, ορίζεται σαν μια εντοπισμένη καλοήθης και κάποιες φορές επιθετική βλάβη, αποτελούμενη από ινώδη ιστό με αιμορραγία και εναποθέσεις αιμοσιδηρίνης, παρουσία πολυπύρηνων γιγαντοκυττάρων του τύπου της οστεοκλάστης, καθώς και αντιδραστική παραγωγή οστού.

1.2 Επιδημιολογικά στοιχεία - εντόπιση

Τα ΚΓΚ αποτελούν περίπου το 7% των καλοήθων όγκων των γνάθων [12]. Σύμφωνα με τον Jaffe, ο οποίος πρώτος περιέγραψε τα ΚΓΚ, αυτά εμφανίζονται συχνότερα στις γυναίκες παρά στους άνδρες, συχνότερα στην κάτω παρά στην άνω γνάθο και σε ηλικίες από τα 10 έως τα 25 έτη [3]. Παρόμοιες παρατηρήσεις έχουν δημοσιευθεί και σε άλλες κλινικές μελέτες [9, 13-15]. Φυλετική προτίμηση δεν έχει αναφερθεί.

Η πρώτη μεγάλη επιδημιολογική μελέτη έγινε μόλις το 2004 σε γενικό πληθυσμό της Ολλανδίας [16]. Η επίπτωση υπολογίστηκε στις 1.10 νέες περιπτώσεις σε 10^6 άνθρωπο-έτη, ενώ συγκεκριμένα για άνδρες στις 1.05/ 10^6 άνθρωπο-έτη και για γυναίκες 1.25/ 10^6 άνθρωπο-έτη. Αναφορικά με την ηλικία η συχνότητα των ΚΓΚ των γνάθων ήταν υψηλότερη σε ηλικίες μεταξύ 10-14 ετών για τους άνδρες και 15-19 ετών για τις γυναίκες. Η εν λόγω μελέτη επίσης έδειξε ότι η συχνότητα εμφάνισης στην κάτω γνάθο είναι περίπου διπλάσια σε σχέση με την άνω. Μια άλλη μεγάλη επιδημιολογική έρευνα σε Ιρανικό πληθυσμό το 2007 έδειξε ότι το 62,87% των ΚΓΚ διαγνώσθηκαν σε άτομα που βρίσκονταν στην 2^η ή 3^η δεκαετία της ζωής με μέση ηλικία τα 23,72 έτη [17]. Από τους ασθενείς με ΚΓΚ οι γυναίκες αποτελούσαν το 63,75% δείχνοντας μια πιο εμφανή υπεροχή τους σε σχέση με την προαναφερθείσα Ολλανδική μελέτη.

Οι Kruse-Losler και συν. το 2006 σε μελέτη 26 περιπτώσεων βρήκαν ότι οι 22 από αυτές αφορούσαν άτομα μικρότερα των 40 ετών και μάλιστα ότι οι επιθετικές βλάβες είχαν μικρότερο ηλικιακό μέσο όρο από τις μη επιθετικές (8,6 έτη έναντι 15,3 έτη) [12]. Το ποσοστό των γυναικών ασθενών ήταν σχεδόν διπλάσιο από αυτό των ανδρών στην προαναφερθείσα μελέτη. Οι Sun και συν. σε μια πιο πρόσφατη αναφορά 22 περιπτώσεων επιβεβαίωσαν τα ήδη γνωστά ευρήματα αναφέροντας ότι οι μισές περιπτώσεις ΚΓΚ διαγιγνώσκονται σε ηλικίες μικρότερες των 30 ετών,

παρατηρώντας όμως ένα ποσοστό εμφάνισης 27% στην 4^η δεκαετία της ζωής και υποθέτοντας ότι πρόκειται για αργά αυξανόμενες ή παραμελημένες βλάβες [18].

Η πιο συχνή θέση εντόπισης είναι η περιοχή των προσθίων δοντιών της κάτω γνάθου σύμφωνα με τους περισσότερους συγγραφείς [19]. Μάλιστα, αναφέρεται ότι συνήθως η βλάβη εκτείνεται και στα δύο ημιμόρια.

1.3 Κλινική εικόνα

Τα ΚΓΚ εμφανίζονται κλινικά σαν αργά αυξανόμενες ασυμπτωματικές διογκώσεις των γνάθων οι οποίες εμφανίζονται αποκλειστικά στις οδοντοφόρες περιοχές τους και προκαλούν έκπτυξη των οστικών πετάλων. Σε άτομα παιδικής ηλικίας η ανάπτυξη ΚΓΚ των γνάθων μπορεί να συνοδεύεται από πρόωρη κινητικότητα και απόπτωση νεογιλών ή εγκλεισμό μονίμων δοντιών [20]. Σπανιότερα, οι βλάβες είναι πιο επιθετικές με ταχεία αύξηση του μεγέθους τους, διάτρηση του οστού, μετακίνηση δοντιών ή απορρόφηση των ριζών τους και συνοδό πόνο ή αισθητικές διαταραχές [21]. Υπάρχουν λοιπόν δυο διακριτές κλινικές μορφές, το μη επιθετικό και το επιθετικό ΚΓΚ. Περίπου το 1/3 των ΚΓΚ εμφανίζουν τοπικά επιθετική συμπεριφορά [22].

Πίνακας 1.3: Κριτήρια διάγνωσης επιθετικών ΚΓΚ [23]

Κριτήριο
• Μέγεθος > 5 cm • Ταχεία αύξηση • Υποτροπή • Διάτρηση ή λέπτυνση συμπαγών οστικών πετάλων • Απορρόφηση ή μετακίνηση ριζών

Οι Chuong και συν. το 1986, πρότειναν πέντε κλινικά κριτήρια για την διάκριση των επιθετικών ΚΓΚ (πίνακας 1.3) [23]. Βασιζόμενοι στα κριτήρια του Chuong, οι Ficarra, Kaban και Hansen, αναφέρουν ότι οι 10 από τις 32 περιπτώσεις ΚΓΚ που μελέτησαν μπορούν να χαρακτηριστούν ως επιθετικά [24]. Αντίστοιχα, ο Whitaker το 1993 αναφέρει ότι το 40% των 142 περιπτώσεων που μελέτησε ήταν επιθετικά ΚΓΚ [25]. Οι Theologie-Lygidakis και συν. σε μια σειρά 13 περιπτώσεων παιδιατρικών ασθενών αναφέρουν πέντε επιθετικούς όγκους, ποσοστό που συμφωνεί με τα προηγούμενα και υποδηλώνει ότι πιθανώς να μην υπάρχει σημαντική διαφορά στην βιολογική συμπεριφορά των όγκων κατά την παιδική ηλικία [26]. Οι Minic και Sajcic, το 1996 τόνισαν ιδιαίτερα την σημασία της διάτρησης των

συμπαγών οστικών πετάλων στην βιολογική συμπεριφορά των ΚΓΚ αποδεικνύοντάς την ιστολογικά σε όλους του όγκους της μελέτης τους που υποτροπίασαν [27].

Μονήρη ή συνηθέστερα πολλαπλά ΚΓΚ των γνάθων μπορούν να εμφανιστούν στο πλαίσιο διαφόρων συστηματικών νόσων ή συνδρόμων, τα οποία και πρέπει να αποκλειστούν κατά την διάγνωση. Η πιο συχνή νόσος που σχετίζεται με γιγαντοκυτταρικές βλάβες είναι ο υπερπαραθυρεοειδισμός, είτε πρωτοπαθής είτε δευτεροπαθής. Μάλιστα σε αυτήν την περίπτωση οι όγκοι αναφέρονται ως φαιοί όγκοι του υπερπαραθυρεοειδισμού. Υπολογίζεται ότι περίπου 5% των περιπτώσεων υπερπαραθυρεοειδισμού διαγιγνώσκονται από γιγαντοκυτταρικές βλάβες των γνάθων, όμως χάρη στην έγκαιρη διάγνωση της νόσου τις τελευταίες δεκαετίες, οι συχνότητα των φαιών όγκων έχει μειωθεί κατά πολύ [28]. Ο φαιός όγκος του υπερπαραθυρεοειδισμού δεν μπορεί να διαφοροδιαγνωστεί από το ΚΓΚ μόνο με την ιστοπαθολογική εξέταση καθώς εμφανίζει την ίδια ιστολογική εικόνα. Για τον λόγο αυτό, συνίσταται η κλινικοεργαστηριακή διερεύνηση για υπερπαραθυρεοειδισμό των ασθενών με κεντρικές γιγαντοκυτταρικές βλάβες των γνάθων και η οποία περιλαμβάνει απαραίτητως αιματολογική εκτίμηση των επιπέδων καλίου, νατρίου και αλκαλικής φωσφατάσης [29].

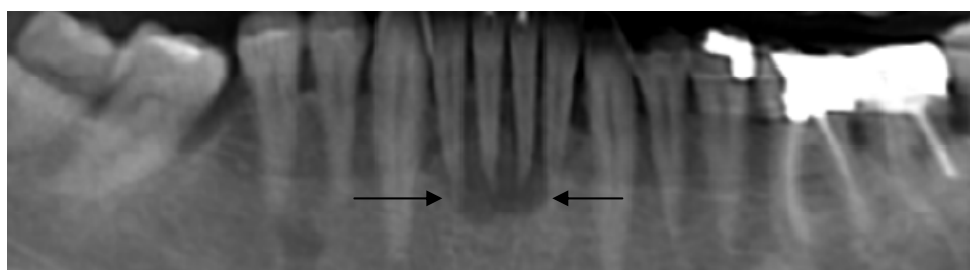
Το σύνδρομο Noonan είναι μια σχετικά συχνή γενετική νόσος με ποικίλη δεισδυτικότητα και φαινοτυπικό εύρος, η οποία χαρακτηρίζεται από κοντό ανάστημα, δυσμορφίες του προσώπου με χαρακτηριστικό προσωπείο, κοντό και φαρδύ λαιμό με πτερύγιο, δυσμορφίες του στέρνου, καρδιακές ανωμαλίες και κρυπτορχιδισμό [30]. Οι Cohen και Gorlin, πρώτοι το 1991 περιέγραψαν ένα σύνδρομο με παρόμοια κλινικά χαρακτηριστικά και επιπλέον ενδοστικές γιγαντοκυτταρικές βλάβες με ιστολογικά χαρακτηριστικά παρόμοια με αυτά των ΚΓΚ [31]. Πλέον, θεωρείται ότι αυτό συμπεριλαμβάνεται στο φάσμα του ίδιου του συνδρόμου Noonan καθώς υποκρύπτουν τις ίδιες ακριβώς γονιδιακές μεταλλάξεις [32].

Σπανιότερα το ΚΓΚ των γνάθων μπορεί να εμφανιστεί στα πλαίσια των ενδοστικών αλλοιώσεων της νευροϊνωμάτωσης τύπου Ι [33] και μάλιστα έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις όγκων επιθετικής βιολογικής συμπεριφοράς [34]. Οι Turkoglu και συν. αναφέρουν μια περίπτωση ανάπτυξης ΚΓΚ σε άτομο με σύνδρομο Kartagener, μια γενετική ανωμαλία με κύριο χαρακτηριστικό την δυσκινησία των κροσσών του αναπνευστικού επιθηλίου [35]. Οι συγγραφείς θεωρούν ότι η σπάνια αυτή συνύπαρξη δεν είναι τυχαία δεδομένου ότι έχουν αναφερθεί κατά καιρούς οστικές ανωμαλίες των γνάθων των ασθενών.

Σε αντιδιαστολή με τα προαναφερθέντα, έχουν περιγραφεί στην βιβλιογραφία μεμονωμένες περιπτώσεις ασθενών με πολλαπλούς όγκους, οι οποίοι ήταν κατά τα άλλα υγιείς [36-40]. Οι Curtis και Walker μάλιστα αναφέρουν έναν ασθενή ο οποίος εμφάνισε πολλαπλά επιθετικά ΚΓΚ σε διαφορετικούς χρόνους, τόσο στην άνω όσο και στην κάτω γνάθο [41]. Ο ασθενής αυτός δεν έπασχε από υπερπαραθυρεοειδισμό, ούτε από κάποιο γνωστό σύνδρομο και οι συγγραφείς, λαμβάνοντας υπόψη και το γεγονός ότι υπήρχε αντίστοιχο οικογενειακό ιστορικό, διατυπώνουν την υπόθεση της πιθανής ύπαρξης κάποιου άγνωστου συνδρόμου ή γενετικής μετάλλαξης.

1.4 Ακτινογραφική εικόνα

Αρχική ακτινογραφία εκλογής για τα ΚΓΚ είναι το ορθοπαντομογράφημα των γνάθων. Η ακτινογραφική εικόνα των βλαβών δεν είναι παθογνωμονική και μπορεί να προσομοιάζει με πλήθος άλλων ενδοστικών αλλοιώσεων, όπως οδοντογενείς κύστεις, οδοντογενείς όγκους και ινοοστικές βλάβες. Τα χαρακτηριστικά τους δεν είναι σταθερά και περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα στοιχείων. Μπορεί να είναι μονόχωρες ή πολύχωρες, με σαφή ή ασαφή, ομαλά ή ανώμαλα όρια, να περιέχουν εστίες ενασβεστίωσης και να προκαλούν απορρόφηση ή παρεκτόπιση ριζών (εικόνα 1.4.1).



Εικόνα 1.4.1: ΚΓΚ στην περιοχή των τομέων της κάτω γνάθου (πηγή: κλινική Στοματολογίας Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ).

Οι Kruse-Losler και συν., αναφέρουν ότι οι 15 από τις 26 περιπτώσεις τους ήταν μονόχωρες διαυγασίες, ενώ 11 βλάβες δεν ήταν καλά περιγεγραμμένες [12]. Σημαντικό ήταν το εύρημα της στατιστικά σημαντικής διαφοράς του μεγέθους των επιθετικών σε σχέση με τα μη επιθετικά ΚΓΚ, με μέση διάμετρο 33 και 56 mm αντίστοιχα. Ο Whitaker και συν., αναφέρουν στην μελέτη τους την ύπαρξη πολύχωρων διαυγασίων σε ποσοστό 61 % [25]. Στην ίδια μελέτη, μόνο το 19% των περιπτώσεων εμφάνιζε καλά περιγεγραμμένα όρια, ενώ στο 43% και 36% υπήρχαν απορροφημένες ή μετατοπισμένες ρίζες δοντιών, αντίστοιχα. Οι Cohen και Hertzanu,

αναφέρουν ύπαρξη πολύχρωμων βλαβών στο 50 % των περιπτώσεών τους, ενώ επίσης οι μισές βλάβες εμφάνιζαν σκοροφαγωμένα όρια [42]. Οι απώθηση ριζών ήταν πολύ συχνότερη (71%), ενώ λιγότερο συχνή ήταν η απορρόφησή τους (21%). Ένα σπάνιο εύρημα το οποίο παρατηρήθηκε σε 2 περιπτώσεις της ίδιας μελέτης, είναι η επέκταση της βλάβης στον κόνδυλο της κάτω γνάθου.

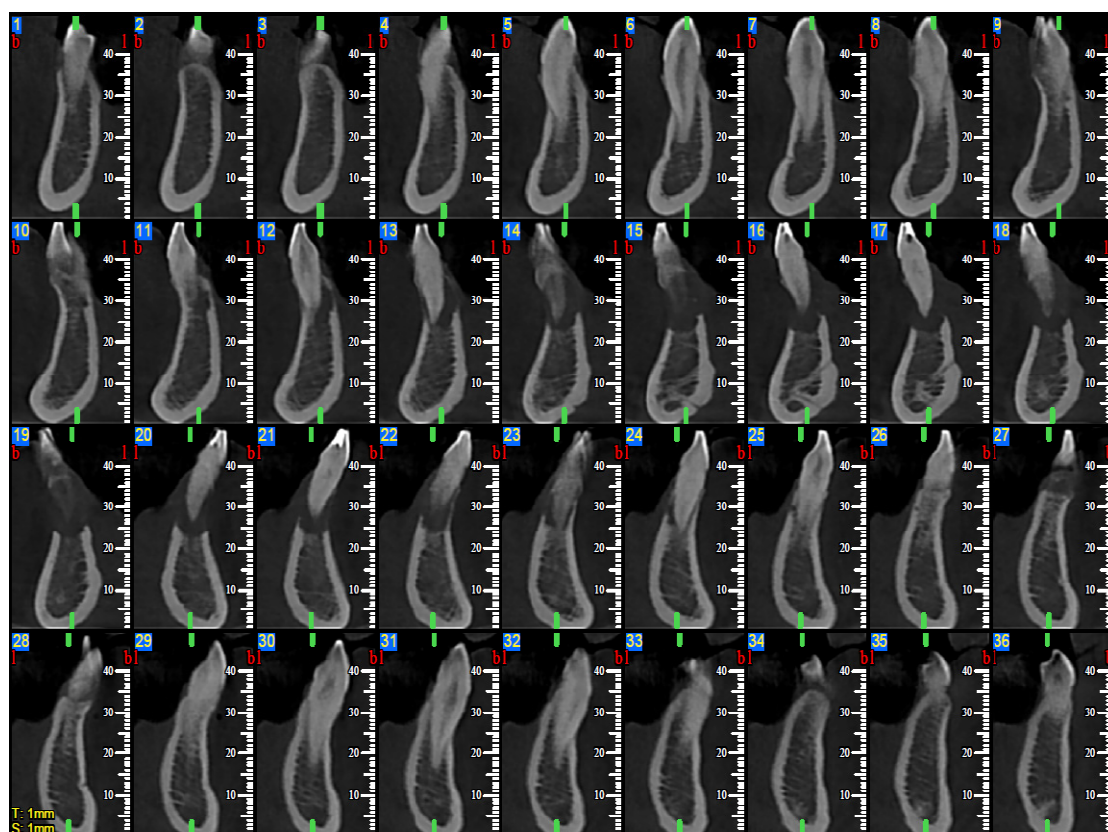
Σε μια μεγαλύτερη μελέτη 83 Ολλανδών ασθενών, βρέθηκε πολύ μικρότερο ποσοστό πολύχρωμων βλαβών σε σχέση με τις προαναφερθείσες μελέτες (15,7%) [43]. Επίσης το 13,5% των βλαβών εμφάνιζε απορρόφηση και το 18% μετατόπιση ριζών. Επίσης αξίζει να αναφερθεί ότι σε ποσοστό 9% οι όγκοι εμφανίζονταν σαν περιακρορριζική διαύγαση προσομοιάζουσα με οδοντικής αιτιολογίας βλάβη. Τέλος, ο Farrier και συν., στην δική τους μελέτη, επισημαίνουν τα συχνότερα ακτινογραφικά χαρακτηριστικά των ΚΓΚ ως διαύγαση (100%), έκπτυξη του συμπαγούς πετάλου της γνάθου (88,9%), πολύχρωμη διαύγαση (77,8%), μονόχρωμη διαύγαση (55,6%), καλά περιγεγραμμένα όρια (66,7%), ασαφή όρια (33,3%) [19].

Σπάνια το ΚΓΚ σε αρχικά στάδια μπορεί να εμφανιστεί ως μικρή, μονόχρωμη, καλά περιγεγραμμένη βλάβη σε σχέση με ακρορριζιο δοντιού [44, 45]. Αναφέρεται ότι σε συχνότητα έως και 20% μπορεί ένα ΚΓΚ να σχετίζεται με δόντι με νεκρό πολφό ή ενδοδοντικά θεραπευμένο [46]. Σε τέτοιες περιπτώσεις μπορεί να προκύψει διαφοροδιαγνωστικό πρόβλημα με ακρορριζική κύστη ή κοκκίωμα και η σωστή διάγνωση να καθυστερήσει αρκετά. Βεβαίως οι βλάβες αυτές δεν υποχωρούν ύστερα από συμβατική ενδοδοντική θεραπεία, κάτι που θα πρέπει να υποψιάσει τον κλινικό.

Όσο αφορά στους παιδιατρικούς ασθενείς οι πληροφορίες στην βιβλιογραφία είναι περιορισμένες, παρόλα αυτά δεν φαίνεται να υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην ακτινογραφική εικόνα σε σχέση με ενήλικες. Σε μια μελέτη που αφορούσε παιδιατρικούς ασθενείς, οι μισές ακριβώς βλάβες ήταν πολύχρωμες, ενώ το 60% των βλαβών ήταν καλά περιγεγραμμένες [47]. Στις περισσότερες βλάβες φαινόταν ακτινογραφικά μετατόπιση ριζών (80%), ενώ σε αντίθεση με ό,τι θα περίμενε κανείς, μόλις μια βλάβη προκάλεσε εγκλεισμό δοντιού.

Παρατηρώντας κανείς τα αντικρουόμενα και ποικίλα αποτελέσματα των προαναφερθέντων μελετών καταλήγει στο συμπέρασμα ότι η ακτινογραφική εικόνα των ΚΓΚ μπορεί να διαφέρει κατά πολύ ανάλογα με την περίπτωση. Συνεπώς πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στην διαφορική διάγνωση των περισσότερων διαυγαστικών ενδοστικών αλλοιώσεων των γνάθων, κυρίως σε νεαρής ηλικίας ασθενείς.

Πέρα από την κλασσική πανοραμική ακτινογραφία, μεγάλης διαγνωστικής αξίας είναι η υπολογιστική τομογραφία των γνάθων (dental scan) (εικόνα 1.4.2). Η λήψη της είναι απαραίτητη προεγχειρητικά, ώστε να αξιολογηθεί και να εκτιμηθεί με ακρίβεια η έκταση και η θέση της βλάβης και να σχεδιαστεί κατάλληλα η ενδεικνυόμενη χειρουργική τεχνική [48]. Σημαντικό πλεονέκτημα του dental scan είναι η απεικόνιση των μαλακών ιστών, οπότε μπορεί γίνει σαφής μια ενδεχόμενη επέκταση της βλάβης σε παρακείμενα ανατομικά μέρη όπως η ρινική κοιλότητα, το ιγμόρειο άντρο και η παρειά [42]. Σε μελέτη 7 περιπτώσεων με υπολογιστική τομογραφία, οι Nackos και συν., αναφέρουν ότι τα ΚΓΚ εμφανίζονται ως ετερογενείς μάζες μαλακού ιστού, συχνά με ενασβεστώσεις εσωτερικά, οστεολυτική δραστηριότητα και αναδόμηση του οστού στην περιφέρεια [49]. Επισημαίνουν βέβαια, ότι η εικόνα της υπολογιστικής τομογραφίας, όπως και της κλασσικής ακτινογραφίας, δεν είναι παθογνωμονική, και τον τελευταίο λόγο στην διάγνωση έχει η ιστοπαθολογική εξέταση.



Εικόνα 1.4.2: Υπολογιστική τομογραφία γνάθων. Παρατηρείται ΚΓΚ στην μεσότητα της κάτω γνάθου με διάτρηση του συμπαγούς οστικού πετάλου (πηγή: κλινική Στοματολογίας Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ).

Οι Kumar και συν. το 2000 αναφέρουν μια περίπτωση ασθενούς με υποτροπή ΚΓΚ της άνω γνάθου, η διάγνωση της οποίας έγινε με σπινθηρογράφημα ύστερα από ενδοφλέβια έγχυση ραδιενεργού τεχνήτιου [50]. Οι συγγραφείς τονίζουν την συμβολή της μεθόδου στην διαφορική διάγνωση της υποτροπής από μια πιθανή αβλαβή μετεγχειρητική ουλή και ίνωση στην περιοχή.

1.5.1 Ιστολογική εικόνα – Ανοσοϊστοχημική εικόνα - Ιστογένεση

Η ιστολογική εικόνα των ΚΓΚ είναι χαρακτηριστική και περιλαμβάνει ένα χαλαρό στρώμα από στρογγυλά/ωοειδή ή ατρακτοειδή μονοπύρρηνα κύτταρα με πλήθος διάσπαρτων άτακτα κατανεμημένων μεγάλων κυττάρων με πολλαπλούς πυρήνες (πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα) [3]. Συχνά παρατηρείται διάμεση αιμορραγία και νεόπλαστες οστικές δοκίδες. Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα της βλάβης διακρίνονται σε 2 τύπους [1]:

- Τύπου I: νεαρά ή δραστήρια κύτταρα, έχουν άφθονο βασεόφιλο ή αμφίφιλο κυτταρόπλασμα και πυρήνες ωοειδείς ή στρογγυλούς φουσαλιδώδεις με εμφανή πυρήνια.
- Τύπου II: ανενεργά ή αδρανή κύτταρα, έχουν μικρότερο μέγεθος, ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα και μικρούς πυκνωτικούς πυρήνες

Παρομοίως μπορεί κανείς να διακρίνει 2 τύπους κυττάρων του στρώματος:

- Μονοπύρρηνα με ελλειψοειδή ή ατρακτοειδή φουσαλιδώδη πυρήνια (προσομοιάζουν με ινοβλάστες).
- Μονοπύρρηνα με στρογγυλό βαθυχρωματικό πυρήνα (προσομοιάζουν με μονοκύτταρα του αίματος).

Ιστογενετικά, έχουν κατά καιρούς διατυπωθεί διάφορες απόψεις για τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα του ΚΓΚ. Τα κύτταρα αυτά λοιπόν έχουν θεωρηθεί ως:

1. Φαγοκύτταρα
2. Κύτταρα ξένου σώματος
3. Οστεοκλάστες

Ο Wertheimer το 1967 με μεθόδους ιστοχημείας διαπίστωσε την ενζυματική δραστηριότητα των πολυπύρρηνων γιγαντοκυττάρων, δείχνοντας ότι αυτή είναι παρόμοια με την αντίστοιχη των οστεοκλαστών [8]. Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα

των βλαβών είναι αρνητικά στην αλκαλική φωσφατάση, ένζυμο το οποίο παράγεται από τις οστεοβλάστες, ενώ δείχνουν ενζυματική δραστηριότητα παρόμοια με αυτήν των οστεοκλαστών η οποία περιλαμβάνει την όξινη φωσφατάση, διάφορες διϋδρογονάσες, εστεράση, διαφοράσες, κ.α. Πρώτοι ο Flanagan και συν. το 1988, βρήκαν σαφή χαρακτηριστικά οστεοκλαστών, όπως την ικανότητα των γιγαντοκυττάρων να απορροφούν το οστό, την αναστολή της δράσης αυτής από την καλσιτονίνη – γνωστό αναστολέα των οστεοκλαστών – και την ανοσοϊστοχημική θετικότητα σε μονοκλωνικά αντισώματα ειδικά για οστεοκλάστες [51]. Οι Liu και συν. το 2003 έδειξαν με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους ότι τα γιγαντοκύτταρα των ΚΓΚ καθώς και άλλων βλαβών όπως τα ΠΓΚ, οι ανευρυσματικές κύστες και ο χερουβισμός εκφράζουν πρωτεϊνικούς δείκτες χαρακτηριστικούς των οστεοκλαστών [52]. Στους δείκτες αυτούς περιλαμβάνονται οι TRAP, CD68, V-ATPάση, CA II, καθεψίνη K και MMP-9 ένζυμα που έχουν καθοριστικό ρόλο στην από-μεταλλικοποίηση του οστού και την αποδόμηση του κολλαγόνου. Επιπλέον, στην ίδια μελέτη βρέθηκε ότι στους παραπάνω δείκτες είναι θετικό κι ένα μικρότερο ποσοστό των μονοπυρήνων του στρώματος, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι είναι πιθανό αυτά να είναι οι πρόδρομοι των γιγαντοκυττάρων. Πειραματικά έχειδειχθεί επίσης ότι τα κύτταρα των ΚΓΚ εκφράζουν μια σειρά μεταλλοπρωτεϊνών οι οποίες πιθανώς εμπλέκονται στην οστεολυτική ικανότητα των όγκων [53]

Σύμφωνα λοιπόν με τις παραπάνω μελέτες, η επικρατούσα θεωρία είναι ότι τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα του ΚΓΚ έχουν φαινότυπο και ανοσοφαινότυπο οστεοκλαστών και προέρχονται από την σύντηξη των μονοπυρήνων του στρώματος τα οποία είναι μονοκυτταρικής – ιστιοκυτταρικής προέλευσης. Τα μονοπύρρηνα κύτταρα του ΚΓΚ που αποτελούν πρόδρομους των γιγαντοκυττάρων, είναι εκείνα που κυρίως έχουν πολλαπλασιαστικό δυναμικό και αποτελούν έναν ετερογενή πληθυσμό κυττάρων, δεδομένου ότι κάποια εκφράζουν πλήρως τον ανοσοφαινότυπο των μακροφάγων και άλλα όχι. Επίσης, έχουν δυναμικό διαφοροποίησης σε ινοβλάστες και οστεοβλάστες[54]. Αυτό μπορεί να εξηγήσει και την ήδη αναφερθείσα παρατήρηση ότι παρά τον οστεολυτικό χαρακτήρα των ΚΓΚ, συχνά ανευρίσκονται μέσα στις βλάβες νεόπλαστες οστικές δοκίδες.

Οι εργασίες των Itanaga και συν. το 2003 επιβεβαίωσαν ότι τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα έχουν ανοσοφαινότυπο οστεοκλαστών [54]. Είναι θετικά στην TRAP, ένζυμο των οστεοκλαστών που συμμετέχει στην απορρόφηση του οστού, και στην VNR, αντίσωμα ειδικό για οστεοκλάστες. Επίσης, ανταποκρίνονται στην ανασταλτική δράση της καλσιτονίνης και μπορούν να σχηματίσουν οστεολυτικά βοθρία. Ακόμα, τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα είναι θετικά στον χαρακτηριστικό δείκτη των

μακροφάγων CD68 [54, 55] καθώς και το κοινό λευκοκυτταρικό αντιγόνο CD45 [54], ο οποίος χαρακτηρίζει τόσο τα μακροφάγα όσο και τις οστεοκλάστες. Επιπλέον έχειδειχθεί ότι ένας πληθυσμός μονοπυρήνων του στρώματος αποτελούν μακροφάγα τα οποία δεν εκφράζουν πλήρως τους αντίστοιχους χαρακτηριστικούς δείκτες κάτι το οποίο έχειδειχθεί ότι ισχύει για κύτταρα προδρόμους των οστεοκλαστών. Τέλος, υπάρχει κι ένα ποσοστό κυττάρων στρώματος θετικών σε αλκαλική φωσφατάση και RANKL που έχουν την ικανότητα να επάγουν την οστεοκλαστογένεση. Η κυτοκίνη RANKL (receptor activator of NF-kappa B ligand), η οποία αποτελεί μέλος της οικογένειας των συνδεμάτων του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (Tumor Necrosis Factor – TNF), είναι σημαντική για την προαγωγή του σχηματισμού οστεοκλαστών από μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος που εκφράζουν στην κυτταρική μεμβράνη τους τον υποδοχέα RANK (receptor activator of NF-kappa-β). Η μεγάλη σημασία της RANKL για την οστεοκλαστογένεση έχειδειχθεί με πειραματικά δεδομένα [52]. Η πρωτεΐνη c-Src παίζει σημαντικό ρόλο επίσης καθώς συνδέεται με την πρωτεΐνη TRAF6 και στην συνέχεια επιτρέπει στην RANKL να επιτελέσει το έργο της προωθώντας την οστεοκλαστική διαφοροποίηση και την επιβίωση των οστεοκλαστών. Επίσης, οι πρωτεΐνες της οικογένειας Src έχειβρεθεί ότι συμβάλλουν στην προσκόλληση των οστεοκλαστών στην οστική επιφάνεια προς απορρόφηση [56]. Με μεθόδους ανοσοϊστοχημείας έχειβρεθεί αυξημένη έκφραση της c-Src στα ΚΓΚ, όπως επίσης στους ΓΚΟΟ και στον χερουβισμό [57]. Οι Houris και συν. το 2010 μελέτησαν την έκφραση σε ΚΓΚ της παραθυρεοειδούς ορμόνης (PTH) καθώς του λεγόμενου «πεπτιδίου σχετιζόμενου με την PTH» (PTHrP) [1]. Τα μόρια αυτά συνδέονται στον ίδιο υποδοχέα PTHR1 επάγοντας στην συνέχεια την RANKL. Με ανοσοϊστοχημείαδείχθηκε πως τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τόσο των ΚΓΚ όσο και των ΠΓΚ, εκφράζουν τις προαναφερθείσες πρωτεΐνες και τον υποδοχέα τους. Μάλιστα παρατήρησαν οι συγγραφείς πως αυξημένη έκφραση υπήρχε στα γιγαντοκύτταρα τύπου I παρά στα τύπου II, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι τα πρώτα έχουν οστεοκλαστικό φαινότυπο και είναι ανώριμα ή ώριμα/ενεργά ενώ τα δεύτερα βρίσκονται σε φάση εκφύλισης/αδρανοποίησης. Στην ίδια μελέτη, βρέθηκε επίσης έκφραση της πρωτεΐνης Msx1 τόσο στα γιγαντοκύτταρα τύπου II όσο και σε αρκετά μονοπύρρηνα του στρώματος. Η πρωτεΐνη αυτή έχει ρόλο στην εμβρυϊκή οστεογένεση αλλά και στην αλληλεπίδραση επιθηλίου-εκτομεσεγγύματος η οποία συμβαίνει στις γνάθους κατά την οδοντογένεση. Αυτό θα μπορούσε να σημαίνει ότι κάποια ανωμαλία κατά την οδοντογένεση συμβάλλει στην παθογένεια των ΚΓΚ κάτι που ενισχύεται από το γεγονός ότι αυτά εμφανίζονται σε οδοντοφόρες περιοχές μόνο και σε νεαρές ηλικίες.

Σε αντίθεση με τα προηγούμενα φαίνεται να έρχεται η ανακάλυψη ότι τόσο σε ΚΓΚ, όσο και σε ΠΓΚ, υπάρχει αυξημένη παραγωγή της ιντερλευκίνης-10 (IL-10) [58]. Η συγκεκριμένη κυτοκίνη σε καταστάσεις φλεγμονής αναστέλλει την σύντηξη των μακροφάγων καθώς και την οστεόλυση, οπότε θα περίμενε κανείς να έχει περιορισμένη έκφραση σε γιγαντοκυτταρικές βλάβες. Αυτό τονίζει την ανάγκη για ενδελεχή μελέτη προς την κατεύθυνση της ανεύρεσης κάποιου είδους μη φυσιολογικής λειτουργίας στην οδό των ιντερλευκινών. Οι Papanicolaou και συν., βρήκαν ότι σε ΚΓΚ και ΠΓΚ υπάρχει αυξημένη έκφραση της ιντερλευκίνης 6 (IL-6) και του TNF-α, σε αντίθεση με την μειωμένη έκφραση της IL-1β [59]. Άλλες κυτοκίνες που συμμετέχουν στην διαφοροποίηση των οστεοκλαστών και έχουν μελετηθεί στα ΚΓΚ είναι ο TNF-α και TGF-β, οι οποίες έχει βρεθεί ότι εκφράζονται και μάλιστα ισχυρότερα από ότι στα ΠΓΚ [60]. Το γεγονός αυτό πιθανώς αντικατοπτρίζει το περιορισμένο δυναμικό των ΠΓΚ να προκαλούν απορρόφηση οστού σε σχέση με τα ΚΓΚ. Οι κυτοκίνες αυτές εμπλέκονται στην οστεοκλαστογένεση και φαίνεται ότι συμμετέχουν με κάποιον τρόπο στην παθογένεια των γιγαντοκυτταρικών βλαβών. Η προέλευση των μονοπύρηνων κυττάρων από τα μονοκύτταρα του αίματος, είναι πιθανό να σημαίνει πως στους ασθενείς με ΚΓΚ υπάρχουν φαινοτυπικές αλλοιώσεις σε κυκλοφορούντα λευκοκύτταρα. Όντως σε μελέτες ανοσοφθορισμού έχουν βρεθεί φαινοτυπικές αλλοιώσεις περιφερικών λεμφοκυττάρων και μονοκυττάρων συμβατές με την ενεργοποίησή τους και την μετανάστευσή τους σε θέσεις φλεγμονής [61], γεγονός που υπογραμμίζει τον ρόλο της φλεγμονώδους απόκρισης στην παθογένεια των ΚΓΚ.

Ένα χαρακτηριστικό των ΚΓΚ είναι η άφθονη παρουσία εξαγγειωθέντων ερυθρών αιμοσφαιρίων, διάμεσης αιμορραγίας και κοκκίων αιμοσιδηρίνης μέσα στην μάζα του όγκου. Οι Lim και Gibbins κάνοντας ένα πάνελ ανοσοϊστοχημικών δεικτών, αφού επιβεβαίωσαν για άλλη μια φορά ότι τα γιγαντοκύτταρα είναι οστεοκλάστες και τα μονοπύρρηνα κύτταρα προέρχονται από τα μονοκύτταρα του αίματος, διαπίστωσαν ότι στο κέντρο των βλαβών, παρά το πλήθος των ερυθροκυττάρων, δεν υπάρχει σαφής οργάνωση αγγείων με ενδοθηλιακή επένδυση [62]. Το γεγονός αυτό που έρχεται σε αντίθεση με την κλινική παρατήρηση της μεγάλης αγγειοβρίθειας των ΚΓΚ, πιθανώς να έχει κάποια σημασία για την παθογένειά τους. Οι Vered και συν. με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους έδειξαν ότι η αγγειογενετική δραστηριότητα στα ΚΓΚ είναι χαμηλή, καταρρίπτοντας έτσι την άποψη ορισμένων μελετητών ότι πιθανώς αποτελούν βλάβες του αγγειακού ιστού [63]. Παρόλα αυτά βρήκαν ότι τα μονοπύρρηνα του στρώματος και τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα είναι εν πολλοίς

θετικά στους αγγειακούς δείκτες VEGF και bFGF και προτείνουν ότι αυτοί εμπλέκονται στην διαδικασία της οστεοκλαστογένεσης.

Η πρωτεΐνη MDM2 έχει την ιδιότητα να αναστέλλει την ογκοκατασταλτική δράση της p53 και έχειδειχθεί σε διάφορα νεοπλάσματα ότι η πρώτη έχει αυξημένη έκφραση ενώ η δεύτερη μειωμένη. Έχειδειχθεί με ανοσοϊστοχημικές μελέτες ότι τα ΚΓΚ ακολουθούν αυτό ακριβώς το πρότυπο έκφρασης, συνεπώς η οδός MDM2-p53 πιθανώς εμπλέκεται στην αιτιοπαθογένειά τους [64]. Μάλιστα, παρόμοια είναι η έκφραση των παραπάνω πρωτεϊνών στους ΓΚΟΟ και στα ΠΓΚ [65].

Λόγω τις ιστολογικής ομοιότητας του ΚΓΚ με τον χερουβισμό, κάποιοι μελετητές προσπάθησαν να βρουν στους όγκους την μετάλλαξη του γονιδίου SH3BP2 που είναι υπεύθυνη για τον χερουβισμό. Ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι δεν υπάρχουν τέτοιες μεταλλάξεις οπότε θα μπορούσε να θεωρήσει κανείς ότι δεν υπάρχει παθογενετική συσχέτιση μεταξύ των δύο οντοτήτων [66, 67]. Παρόλα αυτά ο Carvalho και συν. το 2009, βρήκαν σε μια περίπτωση ΚΓΚ που εξέτασαν, μετάλλαξη στο γονίδιο αυτό και προτείνουν ότι ίσως οι δύο οντότητες να συνδέονται τελικά [68]. Η ίδια ομάδα συγγραφέων μελέτησε και συνέκρινε την έκφραση των πρωτεϊνών NFATc1 και TNF- α , οι οποίες ελέγχονται από την πρωτεΐνη SH3BP2, σε ΚΓΚ, ΠΓΚ και χερουβισμό [69]. Η υπερέκφραση της πρωτεΐνης NFATc1 που παρατηρήθηκε και στις 3 κατηγορίες γιγαντοκυτταρικών βλαβών πιθανώς συνδέεται με την ωρίμανση και διαφοροποίηση των μονοκυττάρων του στρώματος σε οστεοκλάστες. Το γονίδιο του χερουβισμού SH3BP2 φαίνεται επίσης ότι επηρεάζει την έκφραση της πρωτεΐνης Mx1, η οποία έχειδειχθεί ότι υπερεκφράζεται σε ΚΓΚ και ΠΓΚ [1]. Η ανεύρεση σωματικών μεταλλάξεων ως παθογενετικός μηχανισμός των ΚΓΚ συνηγορεί υπέρ της νεοπλασματικής φύσης τους, παρά της επανορθωτικής/φλεγμονώδους. Σύμφωνα με την κλασική θεωρία της καρκινογένεσης, μια νεοπλασματική βλάβη, καλοήθης ή κακοήθης, αποτελείται από κύτταρα που προέρχονται από ένα αρχικό κύτταρο το οποίο φέρει γενετικές μεταλλάξεις, είναι δηλαδή μονοκλωνική. Σε μια μόνο μελέτη μέχρι σήμερα έχειδιερευνηθεί η μονοκλωνικότητα ΚΓΚ και ΠΓΚ [70]. Οι συγγραφείς μελέτησαν 6 ΠΓΚ εκ των οποίων 3 ήταν μονοκλωνικής προέλευσης και 5 ΚΓΚ εκ των οποίων επίσης 3 εμφάνισαν μονοκλωνικότητα. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν για άλλη μια φορά την πολυπλοκότητα του παθογενετικού μηχανισμού καθώς και την ετερογένεια των γιγαντοκυτταρικών κοκκιωμάτων των γνάθων.

Η κλινική παρατήρηση ότι τα ΚΓΚ είναι συχνότερα σε γυναίκες παρά σε άνδρες και κυρίως σε νεαρές ηλικίες εγείρει ερωτήματα για την πιθανή εμπλοκή γυναικείων ορμονών στην παθογένειά τους. Επίσης έχουν αναφερθεί περιπτώσεις

βλαβών που υποτροπίασαν κατά την εγκυμοσύνη [71, 72]. Η ανοσοϊστοχημική μελέτη των υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης σε 10 περιπτώσεις ΚΓΚ από τους Whitaker και Bouquot όμως ήταν εντελώς αρνητική [73]. Παρομοίως αρνητική ήταν και η μελέτη των Kamel και Elsharkawy για υποδοχείς οιστρογόνων [74]. Συνεπώς, φαίνεται ότι τα ΚΓΚ μάλλον δεν βρίσκονται υπό την επίδραση ορμονών του φύλλου, αν και αυτή θα μπορούσε να είναι έμμεση παρά άμεση με απευθείας σύνδεση οιστρογόνων και προγεστερόνης σε υποδοχείς επιφανείας των κυττάρων της βλάβης.

Σπάνια, το ΚΓΚ συνυπάρχει με άλλες βλάβες των οστών των γνάθων, χωρίς να είναι πάντα σαφής η συσχέτιση μεταξύ τους. Έχει αναφερθεί περίπτωση 29χρονου άνδρα με οδοντογενή κερατινοκυστικό όγκο, μέσα στον οποίο υπήρχαν ιστολογικά πολυάριθμες εστίες όμοιες με ΚΓΚ [75]. Η χρονική αλληλουχία των δύο βλαβών καθώς και οποιαδήποτε άλλη μεταξύ τους συσχέτιση δεν μπόρεσε να διαπιστωθεί με βεβαιότητα από τους συγγραφείς, συνεπώς θα μπορούσε να πρόκειται και για μια τυχαία συνύπαρξη. Επίσης, έχουν αναφερθεί στην βιβλιογραφία περιπτώσεις με ΚΓΚ και ταυτόχρονη ανάπτυξη ινώδους δυσπλασίας των γνάθων [2, 76]. Έχει διατυπωθεί η άποψη πως με κάποιον τρόπο προκαλείται αντίδραση του στρώματος της ινώδους δυσπλασίας με αποτέλεσμα την συγκέντρωση και διαφοροποίηση γιγαντοκυττάρων, αλλά και πάλι η συνύπαρξη μπορεί να είναι τυχαία. Λίγο πιο συχνό είναι το εύρημα της συνύπαρξης ΚΓΚ με οδοντογενές ίνωμα. Συνολικά έχουν δημοσιευθεί μέχρι σήμερα 30 περιπτώσεις [2, 77, 78]. Οι θεωρίες που έχουν διατυπωθεί είναι τρεις. Σύμφωνα με την πρώτη, πρόκειται για τυχαία συνύπαρξη, κάτι μάλλον απίθανο λόγω της μεγάλης σπανιότητας των δύο όγκων αλλά και επειδή έχουν αναφερθεί περιπτώσεις υποτροπών που είχαν και πάλι ιστολογικά χαρακτηριστικά και των δύο όγκων [77, 78]. Η δεύτερη θεωρία υποστηρίζει ότι πρώτα αναπτύσσεται το οδοντογενές ίνωμα και στην συνέχεια για κάποιον άγνωστο λόγο συμβαίνει γιγαντοκυτταρική αντίδραση. Αυτή η θεωρία μπορεί να υποστηριχθεί από το σπάνιο εύρημα ανάπτυξης γιγαντοκυτταρικής βλάβης σε αδαμαντινοβλαστώματα [79, 80] καθώς και της εμφάνισης ανευρυσματικών κύστεων, οι οποίες περιέχουν γιγαντοκύτταρα, δευτερευόντως σε διάφορες βλάβες των οστών [80-82]. Η τελευταία θεωρία αναφέρει ότι η γιγαντοκυτταρική βλάβη επάγει δευτερευόντως το οδοντογενές επιθήλιο και εκτομεσέγχυμα προς τον σχηματισμό του οδοντογενούς ινώματος. Οι Tosios και συν αναφέρουν ότι αυτό είναι πιθανό να μπορεί να συμβεί μέσω του πολυδύναμου μονοκυτταρικού πληθυσμού του στρώματος των ΚΓΚ [2]. Αυτή η ιδιάζουσα σχέση μεταξύ ΚΓΚ και οδοντογενών όγκων προβληματίζει σχετικά με την παθογένεια των πρώτων και είναι πιθανό να

σχετίζεται με την αποκλειστική εντόπισή τους σε οδοντοφόρες περιοχές των γνάθων καθώς και με την διαφορετικότητά τους σε σχέση με τους ΓΚΟΟ.

1.5.2 Συγκριτικές ιστολογικές μελέτες μεταξύ ΚΓΚ και ΓΚΟΟ

Τα ΚΓΚ και ο ΓΚΟΟ, όπως έχει ήδη αναφερθεί, είναι βλάβες με παρόμοια ιστολογική εικόνα. Παρόλα αυτά, η εντελώς διαφορετική τους βιολογική συμπεριφορά έχει κατευθύνει την έρευνα προς την ανεύρεση των χαρακτηριστικών εκείνων που διαφοροποιούν τις οντότητες αυτές.

Ο Umiker το 1954 [4] παρατήρησε τις ιστολογικές διαφορές μεταξύ του ΓΚΟΟ και του ΚΓΚ, αναφέροντας ότι το ατρακτοκυτταρικό στοιχείο του πρώτου δείχνει πιο επιθετικό και προσομοιάζει με κυτταροβριθές ίνωμα ή ινοσάρκωμα. Επίσης, αναφέρει ότι τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα είναι ομοιόμορφα κατανεμημένα στην βλάβη. Αντίθετα, στο ΚΓΚ, τα γιγαντοκύτταρα φαίνεται να αθροίζονται περισσότερο σε περιοχές διάμεσης αιμορραγίας, ενώ η όλη βλάβη μοιάζει περισσότερο με επανορθωτική εξεργασία παρά με νεόπλασμα [4]. Το 1957 οι Radcliffe και Friedman προσπαθούν να διατυπώσουν σαφώς τις ιστολογικές διαφορές μεταξύ των δύο βλαβών [83]. Αναφέρουν λοιπόν στα ΚΓΚ την ύπαρξη εστιακά κοκκιωμάτων που προσομοιάζουν με αυτά της φυματίωσης, με απουσία φυσικά τυροειδούς νέκρωσης, και διαχωρίζονται μεταξύ τους από ινώδες στρώμα σε αντίθεση με την πιο ομοιόμορφη και μονότονη εικόνα του ΓΚΟΟ. Αυτό προφανώς αντικατοπτρίζει την τάση των γιγαντοκυττάρων του ΚΓΚ να σχηματίζουν εστίες ή φωλιές και να συγκεντρώνονται σε περιοχές διάμεσης αιμορραγίας όπως επανειλημμένα έχει παρατηρηθεί. Επίσης, στο ΚΓΚ τα κύτταρα του στρώματος έχουν αφθονότερο κυτταρόπλασμα και μικρότερους πυρήνες, ενώ τα γιγαντοκύτταρα δεν είναι πάντα πολυάριθμα και ομοιόμορφα κατανεμημένα. Ο ΓΚΟΟ δεν εμφανίζει εστίες διάμεσης αιμορραγίας, ούτε δημιουργία οστεοειδούς και νεαρών οστικών δοκίδων. Αργότερα αναφέρθηκε ότι η ύπαρξη οστού εντός των βλαβών μπορούσε να απαντηθεί έως και στο 50% των περιπτώσεων, ενώ τα ατρακτοειδή κύτταρα του στρώματος δεν εμφανίζουν καθόλου πλειομορφία και έχουν ελάχιστη έως καθόλου μιτωτική δραστηριότητα [7]. Ακόμη, έχει παρατηρηθεί πως τα γιγαντοκύτταρα των όγκων των μακρών οστών έχουν μεγαλύτερη κυτταροπλασματική διάμετρο και μεγαλύτερο αριθμό πυρήνων από τα αντίστοιχα του ΚΓΚ [5]. Παρόμοια αποτελέσματα αλλά με μικρότερες διαφορές μεταξύ των δύο κατηγοριών βλαβών, δημοσίευσαν οι Atkins, Martinez και Robinson το 1969 [10]. Οι Auclair και συν. το 1988, επανέλαβαν

παρόμοιες μελέτες και συμπέραναν ότι το μέσο μέγεθος των γιγαντοκυττάρων δεν είναι αξιόπιστος διαφοροδιαγνωστικός δείκτης και ότι υπάρχει από αυτήν την άποψη μεγάλη αλληλοεπικάλυψη μεταξύ ΚΓΚ και ΓΚΟΟ [84]. Στατιστικά σημαντική διαφορά βρέθηκε στον αριθμό των πυρήνων, και πάλι όμως υπήρχε αξιοπρόσεκτη αλληλοεπικάλυψη. Σημαντικότερες διαφορές βρήκαν οι μελετητές αυτοί στην διάταξη των γιγαντοκυττάρων η οποία ήταν ποιο ομοιόμορφη στους ΓΚΟΟ, ενώ οι τελευταίοι είχαν επίσης πολλές περιοχές νέκρωσης σε αντίθεση με τα ΚΓΚ. Επίσης αναφέρουν μεγάλη διαφορά στην κυτταροβρίθεια του στρώματος μεταξύ των δύο οντοτήτων, με τον ΓΚΟΟ να υπερισχύει εμφανώς. Φαίνεται λοιπόν όχι μόνο από τα κλινικά και επιδημιολογικά χαρακτηριστικά αλλά και από τα ιστοπαθολογικά, ότι το ΚΓΚ είναι ιδιαίτερη βλάβη, διαφοροποιημένη από τον ΓΚΟΟ, δεν είναι όμως ιδιαίτερα εύκολη η διάκρισή τους από την ιστολογική εικόνα μόνο. Μάλιστα ήδη στην πολύ πρώιμη βιβλιογραφία, όταν άρχισαν να διαφαίνονται οι διαφορές και επαναξιολογήθηκαν παλιότεροι όγκοι διαγνωσμένοι ως ΓΚΟΟ, διατυπώθηκε η άποψη πως αληθείς ΓΚΟΟ στις γνάθους δεν υφίστανται, εκτός ίσως σε συσχέτιση με νόσο Paget των οστών [85].

1.6 Διαφορική διάγνωση

Το ΚΓΚ πρέπει να διαφοροδιαγνωστεί από διάφορες άλλες βλάβες που έχουν παρόμοια εικόνα κλινικά, ακτινογραφικά ή ιστολογικά [86]

Στην κατηγορία των γιγαντοκυτταρικών βλαβών των γνάθων, εκτός από τα ΚΓΚ, ανήκει και ο φαιός όγκος του υπερπαραθυρεοειδισμού, η ανευρυσματική κύστη και ο χερουβισμός. Ο εργαστηριακός έλεγχος παραθορμόνης, ασβεστίου, φωσφόρου και αλκαλικής φωσφατάσης στον ορό είναι απαραίτητος ώστε να αποκλειστεί η διάγνωση του φαιού όγκου. Στην περίπτωση της ανευρυσματικής κύστης, η ιστολογική εικόνα είναι όμοια με αυτή του ΚΓΚ εκτός από το σύνηθες εύρημα των λιμνών αίματος μέσα στην βλάβη, δηλαδή περιοχών με αθροίσεις πολυάριθμων ερυθροκυττάρων. Τέλος, ο χερουβισμός διαγιγνώσκεται κυρίως από το ιστορικό και την κλινική και ακτινογραφική εικόνα. Οι ασθενείς βρίσκονται στην παιδική ή εφηβική ηλικία, οι γιγαντοκυτταρικές βλάβες είναι αμφοτερόπλευρες και συχνά προσβάλουν και τις δύο γνάθους, ενώ συνυπάρχει και το κλασσικό προσωπείο με τους οφθαλμικούς βολβούς να στρέφονται προς τα άνω. Ο χερουβισμός είναι κληρονομική νόσος η οποία μεταβιβάζεται με τον αυτοσωμικό επικρατή τύπο, οπότε συνήθως υπάρχει και οικογενειακό ιστορικό.

Κλινικά και ακτινογραφικά, το ΚΓΚ μπορεί να προσομοιάζει με πλήθος άλλων βλαβών, εκτός από τις προαναφερθέντες. Πρέπει να διαφοροδιαγνωστεί λοιπόν από διάφορους οδοντογενείς όγκους, κυρίως από το αδαμαντινοβλάστωμα και το οδοντογενές μύξωμα λόγω της σύνθετης, συχνά πολύχρωρης και ασαφούς ακτινογραφικής τους εικόνας. Επίσης από καλοήθεις ινοοστικές βλάβες, κυρίως την ινώδη δυσπλασία λόγω εντόπισης και του νεαρού της ηλικίας των ασθενών. Τέλος από πλήθος άλλων καλοήθων και κακοήθων όγκων όπως το κεντρικό αιμαγγείωμα και το ενδοστικό βλεννοεπιδερμοειδές καρκίνωμα. Η τελική διάγνωση πάντα δίνεται από την βιοψία και την ιστοπαθολογική εξέταση.

1.7 Θεραπεία – Πρόγνωση

Θεραπεία εκλογής των ΚΓΚ θεωρείται η ολική χειρουργική εκτομή χωρίς περιφερική αφαίρεση υγιούς οστού και είναι σήμερα η πιο συχνά εφαρμοζόμενη μέθοδος [87]. Ο χειρουργός θα πρέπει να διαφυλάσσει όσο το δυνατόν περισσότερους υγιείς ιστούς και να φροντίζει για την διατήρηση της συνέχειας τον συμπαγών οστικών πετάλων των γνάθων. Περισσότερο επιθετική αφαίρεση με περιφερική οστεκτομή πραγματοποιείται σε επιθετικές βλάβες ή υποτροπές και πάντα ανάλογα με την εκάστοτε περίπτωση. Η ακτινοθεραπεία δεν ενδείκνυται σε καμία περίπτωση λόγω της πιθανότητας κακοήθους εξαλλαγής [88]. Μάλιστα έχει αναφερθεί περίπτωση υποτροπιάζοντος επιθετικού ΚΓΚ σε θέση προηγούμενης ακτινοβολήσης στην άνω γνάθο για άλλη νεοπλασία [89].

Τα ποσοστά υποτροπής της χειρουργικής θεραπείας των ΚΓΚ εκτείνονται από 11-49% ανάλογα με την μελέτη [9, 13, 14, 16, 23, 25, 43, 90, 91]. Αυτό που κυρίως καθορίζει την πιθανότητα υποτροπής των ΚΓΚ είναι τα διάφορα κλινικά και ακτινογραφικά στοιχεία που έχουν ήδη αναφερθεί και τα κατατάσσουν σε επιθετικά και μη επιθετικά, με μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπής προφανώς για τα δεύτερα.

Οι πρώτη μεγάλη σειρά περιπτώσεων ΚΓΚ το 1959, αναφέρει 34 όγκους οι οποίοι αντιμετωπίστηκαν με συντηρητική χειρουργική εκτομή και εκ των οποίων υποτροπίασαν μόλις δύο [7]. Οι Schlorf και Koop αναφέρουν το 1977 ότι η απλή εκπυρήνιση των βλαβών είναι συνήθως αρκετή για την θεραπεία τους, ενώ ευρύτερη χειρουργική εκτομή ενδείκνυται ίσως μόνο σε περιπτώσεις υποτροπών [85]. Ο Chuong πρώτος έκανε διαχωρισμό μεταξύ επιθετικών και μη επιθετικών ΚΓΚ επισημαίνοντας ότι τα πρώτα έχουν πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα να υποτροπιάσουν μετά την χειρουργική αφαίρεση [23]. Οι Whitaker και Waldron αναφέρουν 47 περιπτώσεις με επαρκές follow-up εκ των οποίων υποτροπίασαν οι 23 (49%) [25].

Από αυτούς οι 12 είχαν από την στιγμή της διάγνωσης κλινικά και ακτινολογικά στοιχεία που θεωρήθηκαν δυσμενή για την βιολογική συμπεριφορά των όγκων τους, κατατάσσοντας τους δηλαδή στην ομάδα των επιθετικών ΚΓΚ.

Οι Bataineh και συν. αναφέρουν ότι από τις 18 περιπτώσεις ΚΓΚ κάτω γνάθου που χειρουργήσαν, υποτροπίασε η μία, δύο ασθενείς απέκτησαν μη αναστρέψιμη αναισθησία του κάτω χείλους και κανείς δεν είχε εμφανείς δυσμορφίες στο πρόσωπο μετεγχειρητικά [91]. Η ίδια ομάδα επιστημόνων λίγα χρόνια μετά δημοσιεύουν μελέτη μιας ομάδας 12 ασθενών με ΚΓΚ της άνω γνάθου αυτή τη φορά [90]. Από τις περιπτώσεις αυτές υποτροπίασαν οι δύο, ενώ τρεις ασθενείς εμφάνισαν παραισθησία τις περιοχής του άνω χείλους οι οποία αποκαταστάθηκε πλήρως σε άλλοτε άλλο χρόνο.

Αναφορικά με την θεραπεία των επιθετικών ΚΓΚ, οι απόψεις δίστανται. Οι Roberts και συν. αναφέρουν ότι συντηρητική χειρουργική θεραπεία και συμπληρωματική έγχυση κορτικοστεροειδών στην περιοχή της βλάβης ίσως να μην είναι αρκετή σε ορισμένες περιπτώσεις, οπότε η ευρεία χειρουργική εκτομή ενδείκνυται [92].

Πλήθος μελετών έχουν γίνει προς την κατεύθυνση της πρόβλεψης της βιολογικής συμπεριφοράς των ΚΓΚ μέσω ιστολογικών χαρακτηριστικών ή μοριακών δεικτών. Οι Ficarra, Kaban και Hansen το 1987 επιχείρησαν να συγκρίνουν ιστολογικές παραμέτρους μεταξύ επιθετικών και μη επιθετικών ΚΓΚ ώστε να βρουν χαρακτηριστικά προγνωστικά της βιολογικής τους συμπεριφοράς [24]. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι επιθετικές βλάβες έχουν στατιστικά μεγαλύτερο αριθμό γιγαντοκυττάρων ανά οπτικό πεδίο, ενώ καταλαμβάνουν επίσης μεγαλύτερο εμβαδό της βλάβης. Ωστόσο, τα στοιχεία αυτά δεν επαρκούν συνήθως για σαφή διαφοροδιάγνωση επιθετικών από μη επιθετικών όγκων. Ο Auclair προσπάθησε επίσης να βρει προγνωστικούς ιστολογικούς δείκτες, με τον μόνο στατιστικά σημαντικό να είναι ο μειωμένος μέσος αριθμός πυρήνων στις υποτροπιάζουσες βλάβες, κάτι που βέβαια φαντάζει παράδοξο και σίγουρα δεν έχει ιδιαίτερη προγνωστική ισχύ [84].

Οι Eckardt και συν. επιχείρησαν να συσχετίσουν την ποσοτική περιεκτικότητα σε DNA των πυρήνων των γιγαντοκυττάρων με την βιολογική τους συμπεριφορά [93]. Δεν βρήκαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ επιθετικών και μη επιθετικών βλαβών, συνεπώς δεν μπορεί κάτι τέτοιο να αποτελέσει προγνωστικό δείκτη. Τέτοιοι δείκτες όμως θα μπορούσαν να είναι διάφορες μεταλλοπρωτεΐνες, οι οποίες έχουν την ικανότητα να προκαλούν λύση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, άρα

οστεόλυση. Συγκεκριμένα οι μεταλλοπρωτεϊνάσες MMP-1 και MMP-9, ενώ δεν εκφράζονται σχεδόν καθόλου σε φυσιολογικούς ιστούς, παίζουν σημαντικό ρόλο σε διαδικασίες αναδιαμόρφωσης των οστών καθώς και στο δυναμικό για διήθηση διάφορων κακοήθων νεοπλασμάτων. Σε μελέτη του 2010, δείχθηκε ανοσοϊστοχημικά ότι η έκφραση των πρωτεϊνών αυτών είναι μεγαλύτερη σε επιθετικά ΚΓΚ σε σχέση με μη επιθετικά [53]. Έχει αναφερθεί επίσης αυξημένη ανοσοϊστοχημική χρώση για την μεταλλοπρωτεϊνάση-9, ταυτόχρονα με αύξηση του επαγόμενου από αυτήν παράγοντα VEGF, ο οποίος προάγει την αγγειογένεση και την οστεοκλαστογένεση [94].

Ο Whitaker και συν. προσπάθησαν να συσχετίσουν την βιολογική συμπεριφορά των ΚΓΚ με την ποσότητα των αργυρόφιλων κοκκίων (AgNOR) στον πυρήνα των γιγαντοκυττάρων και των μονοκυττάρων [95]. Οι αργυρόφιλες αυτές περιοχές, γνωστές ως nucleolar organizer regions (AgNORs), αντιστοιχούν σε θηλιές του DNA που μεταγράφονται σε ριβοσωμικό RNA και έχειδειχθεί ότι είναι περισσότερες σε επιθετικά ή κακοήγη νεοπλάσματα σε σχέση με καλοήγη. Επίσης, θεωρείται ότι ο αριθμός τους αποτελεί στην ουσία δείκτη του πολλαπλασιαστικού δυναμικού μιας βλάβης. Στην προαναφερθείσα μελέτη λοιπόν, βρέθηκε όντως ότι τα ΚΓΚ που υποτροπίασαν είχαν μεγαλύτερο αριθμό AgNORs από τα αυτά που δεν υποτροπίασαν, ενώ τα επιθετικά ΚΓΚ είχαν μεγαλύτερο αριθμό AgNORs και από τα δύο. Σε αντίθεση με το προηγούμενο εύρημα, ο κλασσικός δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67 δεν έχειδειχθεί ότι είναι μεγαλύτερος στα επιθετικά ΚΓΚ σε στατιστικά σημαντικό βαθμό [96]. Μια ακόμα έρευνα έχειδειξει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στον αριθμό των AgNORs μεταξύ ΚΓΚ, ανευρυσματικών κύστεων, χερουβισμού και φαιού όγκου [67]. Ο δείκτης Ki-67 έχει μεγαλύτερη όμως έκφραση σε σχέση με τους ΓΚΟΟ [64] αλλά μικρότερη σε σχέση με τα ΠΚΓ [65]. Όλες οι προαναφερθείσες μελέτες έδειξαν ότι ο κυτταρικός πληθυσμός που πολλαπλασιάζεται είναι μάλλον τα μονοπύρηνα του στρώματος παρά τα πολυπύρηνα γιγαντοκύτταρα.

Η αυξημένη έκφραση του δείκτη Ki-67 συχνά αντικατοπτρίζει διαταραχές στις πρωτεΐνες ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου, γνωστές ως κυκλίνες. Σε μια συγκριτική μελέτη μεταξύ ΚΓΚ και ΓΚΟΟ έχει βρεθεί με την χρήση ανοσοϊστοχημικών τεχνικών και PCR παρόμοια έκφραση των κυκλινών D1 και B, καθώς και του Ki-67. Η κυκλίνη D1 είχε αυξημένη έκφραση στα πολυπύρηνα γιγαντοκύτταρα, ενώ η κυκλίνη B και η Ki-67 είχαν ελαφρώς αυξημένη έκφραση στα μονοκύτταρα του στρώματος [97]. Ο συγκεκριμένος τρόπος έκφρασης ίσως είναι σημαντικός για την παθογένεια της βλάβης, ενώ οι ομοιότητες μεταξύ ΚΓΚ και ΓΚΟΟ δείχνουν ότι πρόκειται για

συγγενικές βλάβες. Η μοναδική μέχρι σήμερα μελέτη στην οποία έχει επιχειρηθεί να γίνει με την μέθοδο των micro-arrays ένα γενετικό προφίλ των ΚΓΚ, δείχνει αυξημένη έκφραση αρκετών πρωτεϊνών που σχετίζονται με τον κυτταρικό κύκλο [98].

1.7.1 Κορτικοστεροειδή

Τα γλυκοκορτικοειδή έχουν ως κύρια δράση την καταστολή της φλεγμονώδους απόκρισης του οργανισμού, μέσω πολύπλοκων μηχανισμών που περιλαμβάνουν την μεταγραφική ρύθμιση ουσιών που εμπλέκονται στην φλεγμονή και στην ανοσία, για παράδειγμα χημειοκίνες, κυτταροκίνες, κ.α. Στην φαρμακολογία χρησιμοποιούνται σαν θεραπεία υποκατάστασης, σαν αντιφλεγμονώδη φάρμακα στην αντιμετώπιση κυρίως αυτοάνοσων νοσημάτων και στην ανακούφιση των συμπτωμάτων των αλλεργικών αντιδράσεων. Τα γλυκοκορτικοειδή μπορούν επίσης να αναστέλλουν την οστεόλυση ρυθμίζοντας την παραγωγή και απελευθέρωση λυσοσωμικών πρωτεασών.

Μια εναλλακτική μη επεμβατική θεραπεία για τα ΚΓΚ με καλά αποτελέσματα είναι η ενδοβλαβική έγχυση κορτικοστεροειδών. Πρώτος ο Jacoway εφάρμοσε τη μέθοδο και ανακοίνωσε 3 περιπτώσεις στο “42nd annual meeting of the American Academy of Oral Pathology”, διατυπώνοντας παράλληλα και το πρωτόκολλο το οποίο θα πρέπει να εφαρμόζεται. Το χρησιμοποιούμενο διάλυμα παρασκευάζεται από την ανάμιξη ίσων ποσοτήτων διαλύματος ακετονιδίου της τριαμσινολόνης 10mg/ml και αναισθητικού βουπιβακαΐνης. Γίνεται ενδοβλαβική έγχυση 2 ml διαλύματος ανά 2 εκατοστά βλάβης. Η θεραπεία συνεχίζεται σε εβδομαδιαία βάση για τουλάχιστον 6 εβδομάδες και μέχρι να είναι ορατή ακτινογραφικά η εναπόθεση οστού ή να είναι αδύνατη η εισχώρηση της βελόνας στην βλάβη λόγω σχηματισμού οστού. Τυχόν διαυγασίες που παραμένουν ακτινογραφικά, μπορούν να αντιμετωπιστούν χειρουργικά σε δεύτερο χρόνο, συνήθως όμως αποδεικνύεται ότι αντιστοιχούν σε ινώδη ιστό χωρίς την παρουσία γιγαντοκυττάρων. Οι ασθενείς του Jacoway δεν έδειξαν σημεία υποτροπής μετά από παρακολούθηση 2 ετών. Οι Kermer και συν. λίγα χρόνια αργότερα εγχέουν διάλυμα με την ίδια δραστική ουσία σε μια δική τους περίπτωση [99]. Οι εγχύσεις σταματούν 6 εβδομάδες μετά, οπότε πλέον δεν υπάρχει θέση διάτρησης του πετάλου ώστε να εισαχθεί η βελόνα. Η βλάβη υποτροπίασε 14 μήνες μετά, νέες εγχύσεις ακολούθησαν και 3 χρόνια αργότερα ο ασθενής ήταν υγιής. Έκτοτε έχουν αναφερθεί αρκετές περιπτώσεις ασθενών που αντιμετωπίστηκαν με το ίδιο πρωτόκολλο και με πολύ καλά αποτελέσματα [100-104]. Οι Comerf και συν. παρόλα αυτά έκαναν χρήση πρεδνιζόνης αντί για τριαμσινολόνη σε παιδί 10

ετών με το σκεπτικό ότι είναι ασφαλέστερη για τέτοιες ηλικίες και είχαν επίσης καλά αποτελέσματα [103].

Η μεγαλύτερη μέχρι σήμερα κλινική μελέτη της αποτελεσματικότητας των κορτικοστεροειδών έγινε το 2010 από τους Nogueira και συν. σε 21 ασθενείς με την χρήση εξακετονιδίου της τριαμσινολόνης [105], επιβεβαιώνοντας εν πολλοίς τις μέχρι τότε παρατηρήσεις. Μόλις δύο ασθενείς, των οποίων οι όγκοι ήταν μάλιστα επιθετικοί, δεν ανταποκρίθηκαν καθόλου στην θεραπεία. Τα υπόλοιπα οκτώ επιθετικά ΚΓΚ και όλα τα μη επιθετικά είχαν θετική ανταπόκριση. Οι τρεις περιπτώσεις στις οποίες χρειάστηκε συμπληρωματική χειρουργική θεραπεία, εμφάνισαν ιστολογικά αντικατάσταση της γνωστής εικόνας του ΚΓΚ από ινώδη κολλαγονοποιημένο συνδετικό ιστό με λίγα ή καθόλου γιγαντοκύτταρα. Οι συγγραφείς θεωρούν ότι η μέθοδος είναι καλά τεκμηριωμένη και πρέπει να λαμβάνεται υπόψη θεραπευτικά.

Η μέθοδος της ενδοϊστικής έγχυσης προτιμάται από την συστηματική χορήγηση ώστε να διατηρούνται υψηλές συγκεντρώσεις του φαρμάκου απευθείας στον ιστό που πάσχει. Επίσης περιορίζονται οι συστηματικές παρενέργειες και δεν έχει αναφερθεί στην βιβλιογραφία σημαντική καταστολή των επινεφριδίων των ασθενών [102, 105] λόγω της χρήσης των κορτικοστεροειδών. Γενικά, τα κορτικοστεροειδή έχουν πλεονεκτήματα με κυριότερο την αποφυγή πιθανών δυσμορφιών του προσώπου μετεγχειρητικά σε μεγάλες βλάβες. Επίσης, είναι εύκολη, γρήγορη, ο ασθενής ταλαιπωρείται ελάχιστα και το κόστος είναι πολύ χαμηλό.

Ο ακριβής μηχανισμός δράσης των κορτικοστεροειδών στην θεραπεία των ΚΓΚ δεν είναι γνωστός. Οι τρεις πιθανές θεωρίες είναι οι εξής [102, 105]:

1. Αναστολή της παραγωγής λυσοσωματικών ενζύμων που προκαλούν απορρόφηση του οστού από τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα.
2. Απόπτωση των πολυπύρηνων γιγαντοκυττάρων.
3. Αναστολή μεταγραφικών παραγόντων που σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό των γιγαντοκυττάρων ή των πρόδρομων μορφών τους.

Και οι τρεις παραπάνω μηχανισμοί ουσιαστικά αναστέλλουν την οστεολυτική δράση του όγκου και δίνουν την ευκαιρία στο υγιές οστό να αναδομηθεί. Τέλος, έχει βρεθεί με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους ότι τόσο τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα όσο και τα μονοπύρρηνα κύτταρα του στρώματος εκφράζουν υποδοχείς πρόσδεσης των

γλυκοκορτικοειδών και συγκεκριμένα του GRα [106]. Η σύνδεσή τους σε αυτούς οδηγεί σε απόπτωση των κυττάρων και εξηγεί την θεραπευτική τους δράση.

1.7.2 Καλσιτονίνη

Η καλσιτονίνη είναι ορμόνη η οποία παράγεται φυσιολογικά στον άνθρωπο από τα παραθυλακίωδη κύτταρα του θυρεοειδούς αδένος. Η δράση της είναι ανταγωνιστική της παραθορμόνης (PTH) και έχει σκοπό την μείωση των επιπέδων του ασβεστίου στο αίμα. Συγκεκριμένα, αναστέλλει την οστεοκλαστική δραστηριότητα, την απορρόφηση του ασβεστίου από τον γαστρεντερικό σωλήνα και την επαναρρόφησή του από τα σωληνάρια των νεφρών. Σαν φαρμακευτική ουσία χρησιμοποιείται σε ασθενείς με οστεοπόρωση, υπερασβεσταιμία, νόσο του Paget και οστικές μεταστάσεις κακοήθων νεοπλασμάτων.

Ο Harris το 1993 για πρώτη φορά χορήγησε υποδόρια καλσιτονίνη για την θεραπεία ΚΓΚ των γνάθων [107]. Έκτοτε αναφέρονται στην βιβλιογραφία αρκετές περιπτώσεις ασθενών στους οποίους χορηγήθηκε καλσιτονίνη υπό μορφή ρινικού εκνεφώματος ή υποδόριων ενέσεων με ικανοποιητικά αποτελέσματα [108, 109], ακόμα και πλήρη ύφεση των όγκων [110]. Η πρώτη τυχαιοποιημένη κλινική έρευνα έγινε από τους de Lange και συν. το 2006 [111], σε μικρό δείγμα ασθενών και χωρίς να δείξει στατιστικά σημαντική διαφορά στην μείωση του μεγέθους των όγκων μεταξύ της ομάδας που έλαβε το φάρμακο και εκείνης που έλαβε placebo, λόγω κυρίως της μικρής περιόδου χορήγησης του placebo. Παρόλα αυτά παρατηρήθηκε ανταπόκριση στην θεραπεία στις μισές περιπτώσεις. Οι Borges και συν. αναφέρουν πως η χρήση της καλσιτονίνης έχει καλά αποτελέσματα και περιορίζει τα σοβαρά αισθητικά προβλήματα που έχουν μετά την χειρουργική αφαίρεση ασθενείς με ευμεγέθεις όγκους [112]. Στις μέχρι σήμερα δημοσιευμένες μελέτες, η δοσολογία της καλσιτονίνης που χρησιμοποιείται κυμαίνεται από 100 έως 400 μονάδες ημερησίως και η θεραπεία είναι ιδιαίτερως μακροχρόνια, από 6 μήνες έως 5 έτη [113].

Οι Vered, Buchner και Dayan το 2006 έκαναν μια ενδιαφέρουσα ανοσοϊστοχημική μελέτη των υποδοχέων κορτικοστεροειδών και καλσιτονίνης σε 41 περιπτώσεις επιθετικών και μη επιθετικών ΚΓΚ [114]. Βρήκαν ότι όλοι οι όγκοι ήταν θετικοί στον ένα ή στον άλλο υποδοχέα ή και στους δύο με διαφορετικό προφίλ θετικότητας ακόμα και στα διάφορα κύτταρα της βλάβης. Καταλήγουν λοιπόν στο συμπέρασμα ότι τα ΚΓΚ είναι ετερογενείς βλάβες, με διαφορετική ανάλογα με την περίπτωση ανταπόκριση στην θεραπεία με κορτικοστεροειδή ή καλσιτονίνη και θα πρέπει να γίνεται μοριακή διερεύνηση κάθε ασθενή για να επιλεγεί η κατάλληλη

θεραπεία. Η ετερογένεια αυτή είναι σημαντική ακόμα και για την παθογένεια της βλάβης και μπορεί να σημαίνει ότι δεν έχουν όλοι οι όγκοι την ίδια ακριβώς ιστογενετική προέλευση, ακόμα και ότι ίσως κάποιοι είναι αληθή νεοπλάσματα ενώ άλλοι όχι.

1.7.3 Ιντερφερόνη α

Η ιντερφερόνη είναι ένας αντιϊκός και αντιαγγειογενετικός φαρμακευτικός παράγοντας που χρησιμοποιείται σε πλήθος οντοτήτων όπως λοιμώξεις από τους ιούς της ηπατίτιδας και διάφορους κακοήθεις όγκους με δυναμικό νεοαγγειογένεσης. Η χρήση της σε ΚΓΚ στηρίχθηκε αρχικά στην παρατήρηση ότι κυρίως οι επιθετικοί όγκοι εμφανίζουν μεγάλη αγγειοβρίθεια. Μάλιστα, κάποιοι ερευνητές διατύπωσαν την θεωρία ότι ουσιαστικά τα ΚΓΚ είναι όγκοι του αγγειακού ιστού. Αυτό βέβαια έχει αποδειχθεί πως δεν ισχύει, όμως διάφοροι αγγειογενετικοί παράγοντες έχουν σημαντικό ρόλο στην οστεοκλαστική διαφοροποίηση των κυττάρων της βλάβης [87].

Οι Kaban και συν. αναφέρουν μια περίπτωση 5χρονου κοριτσιού με ΚΓΚ το οποίο υποτροπίασε δυο φορές μετά από χειρουργική εκτομή [115]. Η παρατήρηση της αύξησης στα ούρα της ασθενούς της αγγειογενετικής πρωτεΐνης bFGF οδήγησε τους συγγραφείς στην σκέψη της χρήσης της ιντερφερόνης-α2, ως γνωστού αναστολέα της προαναφερθείσας πρωτεΐνης. Η θεραπεία οδήγησε σε υποστροφή του ΚΓΚ και επαναφορά της bFGF σε φυσιολογικά επίπεδα. Στην συνέχεια οι ίδιοι συγγραφείς, στηριζόμενοι στην υπόθεση ότι τα ΚΓΚ είναι κατά βάση όγκοι με ισχυρό αγγειογενετικό δυναμικό, δημοσιεύουν μια σειρά οκτώ περιπτώσεων οι οποίες αντιμετωπίστηκαν με υποδόριες ενέσεις ιντερφερόνης-α2, ύστερα από συντηρητική εκπυρήνιση των βλαβών [116]. Όλοι οι ασθενείς ολοκλήρωσαν επιτυχώς την θεραπεία και τέσσερις από αυτούς έμειναν σε πρόγραμμα παρακολούθησης μεγαλύτερο των 2 ετών χωρίς υποτροπές. Μεμονωμένες περιπτώσεις ασθενών οι οποίοι δεν ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία με κορτικοστεροειδή ή καλσιτονίνη και τελικά αντιμετωπίστηκαν επιτυχώς με ιντερφερόνη επίσης αναφέρονται [117, 118].

Η ιντερφερόνη α είναι ένας πολλά υποσχόμενος θεραπευτικός παράγοντας, με λίγες αλλά καλά τεκμηριωμένες περιπτώσεις να υποστηρίζουν την αποτελεσματικότητά της. Παρόλα αυτά, η χρήση της απαιτεί σχεδόν πάντα συμπληρωματική συντηρητική χειρουργική αντιμετώπιση. Αυτό οφείλεται πιθανότατα στο γεγονός ότι η δράση της είναι κυρίως έμμεση στην αγγειογένεση και όχι άμεση στην οστεοκλαστογένεση, οπότε μειώνει μάλλον το μέγεθος των όγκων παρά οδηγεί σε πλήρη υποστροφή τους.

1.7.4 Άλλοι πιθανοί θεραπευτικοί παράγοντες

Τα γιγαντοκύτταρα του ΚΓΚ έχει αποδειχθεί ότι είναι οστεοκλάστες, συνεπώς ουσίες οι οποίες αναστέλλουν την οστεοκλαστογένεση είναι πιθανοί θεραπευτικοί παράγοντες. Η πρωτεΐνη RANKL έχει δείχθει ότι εκφράζεται στα γιγαντοκύτταρα των ΚΓΚ [52] και είναι γνωστό ότι έχει ρόλο στην διαφοροποίηση των οστεοκλαστών και στην προαγωγή της οστεοκλαστικής δραστηριότητας [119].

Η οστεοπρωτεγερίνη σαν αναστολέας της RANKL καθώς και ένα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι αυτής, με το όνομα AMG 162, δοκιμάζονται για θεραπευτική χρήση στην οστεοπόρωση [120, 121]. Δεδομένης της αντι-οστεοκλαστικής τους δράσης, θα μπορούσαν να δοκιμαστούν και στην θεραπεία των ΚΓΚ.

Η ιματινίμπη, είναι ένα χημειοθεραπευτικό φάρμακο που πρόσφατα έφερε επανάσταση στην αντιμετώπιση της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας και έχει δείχθει ότι αναστέλλει την RANKL επιδρώντας στην οστεοκλαστική δραστηριότητα [122]. Η δράση αυτή είναι πολλά υποσχόμενη για την αντιμετώπιση νόσων με κύριο χαρακτηριστικό την απορρόφηση του οστού, όπως είναι και τα ΚΓΚ.

2. Περιφερικό γιγαντοκυτταρικό κοκκίωμα

2.1 Εισαγωγικά

Οι Bernier και Cahn το 1954, πρότειναν τον όρο «περιφερικό επανορθωτικό γιγαντοκυτταρικό κοκκίωμα, στην περιφερική βλάβη αντίστοιχη του κεντρικού επανορθωτικού γιγαντοκυτταρικού κοκκιώματος που περιέγραψε ο Jaffe [123]. Βέβαια πλέον είναι ευρέως αποδεκτό ότι και αυτή η οντότητα δεν είναι επανορθωτική, έτσι χρησιμοποιείται ο όρος «περιφερικό γιγαντοκυτταρικό κοκκίωμα» (ΠΓΚ).

Το ΠΓΚ είναι μια σχετικά συχνή αντιδραστική βλάβη του στόματος η οποία εμφανίζεται αποκλειστικά στα ούλα ή στην νωδές φατνιακές ακρολοφίες. Ως εκλυτικός παράγοντας αναφέρεται ο τοπικός ερεθισμός από την οδοντική τρυγία ή κακότεχνες οδοντιατρικές εργασίες και το χρόνιο τραύμα. Η βλάβη θεωρείται ότι προέρχεται από κύτταρα της περιοδοντικής μεμβράνης ή του περιοστέου, κάτι που δικαιολογεί την εμφάνισή της στα ούλα και μόνον. Η περιστασιακή ανεύρεσή της στις νωδές φατνιακές ακρολοφίες οφείλεται πιθανότατα στην παραμονή υπολειμματικών κυττάρων του περιοδοντίου μετά από εξαγωγή. Μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε ηλικία αλλά συχνότερα κατά την 5^η και 6^η δεκαετία της ζωής, με ελαφρά προτίμηση στο γυναικείο φύλο. Συνήθως το υποκείμενο οστό δεν εμπλέκεται αλλά μπορεί να παρατηρηθεί επιφανειακή κυπελλοειδής απορρόφηση.

Ιστολογικά το ΠΓΚ είναι παρόμοιο με το ΚΓΚ, δηλαδή διάσπαρτα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα σε στρώμα από ατρακτοειδή ή στρογγυλά/ωοειδή μονοπύρρηνα κύτταρα. Παρόλα αυτά, οι δύο βλάβες έχουν διαφορετική βιολογική συμπεριφορά, γεγονός που τις καθιστά μάλλον διαφορετικές σαν οντότητες και όχι απλά κεντρικό και περιφερικό υπότυπο της ίδιας.

2.2 Επιδημιολογικά στοιχεία - εντόπιση

Το ποσοστό των ΠΓΚ σε σχέση με το σύνολο των αντιδραστικών βλαβών των ούλων ποικίλει μεταξύ των διάφορων μελετητών και είναι σχετικά χαμηλό. Οι Kfir και συν. αναφέρουν ποσοστό 5,1% [124], οι Macleod & Soames 6,7% [125], οι Daley και συν. 7% [126], οι Zarei και συν. 18% [127], οι Aghabali και συν. 32% [128], ενώ οι Amirchaghmaghi και συν. 27% [129]. Γενικά, θεωρείται ότι τα ΠΓΚ είναι συχνότερα από τα ΚΓΚ αν και αυτό δύσκολα προσδιορίζεται ακριβώς από την βιβλιογραφία. Οι Mighell και συν. εκτιμούν ότι τα ΠΓΚ είναι 3-4 φορές συχνότερα [130].

Η μεγαλύτερη μελέτη περιπτώσεων που έχει δημοσιευθεί στην βιβλιογραφία είναι των Katsikeris και συν. το 1988 [131], οι οποίοι παρουσίασαν 224 περιπτώσεις πλαισιωμένες από μια ανασκόπηση 956 παλαιότερων. Επιβεβαιώνουν λοιπόν οι συγγραφείς ότι η αναλογία γυναικών/ανδρών είναι περίπου 3/2 και ότι συχνότερα προσβάλλονται άτομα που βρίσκονται στην 5^η και 6^η δεκαετία της ζωής. Σε λίγες μελέτες παρόλα αυτά φαίνεται ελαφρά υπεροχή των ανδρών [127, 132], ενώ σε κάποιες άλλες τα ποσοστά είναι σχεδόν ίδια [133]. Οι Χούπης και συν. αναφέρουν ότι η εμφάνιση των ΠΓΚ παρουσιάζει έξαρση μεταξύ 5^{ης} και 7^{ης} δεκαετίας με υπεροχή των γυναικών (57%) [134]. Η βλάβη έχει εμφανή προτίμηση στην κάτω γνάθο (64%) και μάλιστα στις περιοχές γομφίων και προγομφίων. Αντίθετα, οι βλάβες στην άνω γνάθο εμφανίζονται συχνότερα στην περιοχή των προσθίων δοντιών [133]. Δεν έχει αναφερθεί κάποια ιδιαίτερη φυλετική προτίμηση [130].

Στα παιδιά αναφέρεται ότι τα ΠΓΚ αποτελούν περίπου το 7% των όγκων των μαλακών μορίων του στόματος [135, 136]. Είναι όμως εξαιρετικά σπάνια σε ηλικίες μικρότερες των 5 ετών. Κάποιοι συγγραφείς θεωρούν ότι στις μικρότερες ηλικίες τα ΠΓΚ έχουν επιθετικότερη βιολογική συμπεριφορά με μεγαλύτερο αυξητικό δυναμικό, περισσότερες υποτροπές και συχνά προκαλούν μετατόπιση των δοντιών [137-139]. Δυστυχώς οι περιπτώσεις που αναφέρονται στην βιβλιογραφία είναι πολύ λίγες για να εξαγεί κανείς ασφαλή συμπεράσματα.

2.3 Αιτιολογία – παθογένεια

Το ΠΓΚ του στόματος θεωρείται αντιδραστικής φύσης βλάβη. Στην βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί διάφοροι τοπικοί ερεθιστικοί και τραυματογόνοι παράγοντες που συμβάλλουν στην ανάπτυξη του, όπως η οδοντική τρυγία, εξαγωγές, κακότεχνες οδοντιατρικές εργασίες, χρόνιες τοπικές λοιμώξεις/φλεγμονές και πρόσκρουση τροφών [140]. Οι Katsikeris και συν. [131] αναφέρουν ότι το 8% των βλαβών της μελέτης τους σχετίζονται με πρόσφατη εξαγωγή, γεγονός που επιβεβαιώνει εν μέρει την αντιδραστική φύση των ΠΓΚ. Σε άλλη μελέτη η συχνότητα αυτή είναι 11% [130]. Δεδομένου όμως ότι το στόμα είναι μια ανοικτή κοιλότητα που πολύ συχνά υπόκειται σε τραύμα ή ερεθισμό, είναι δύσκολο να συσχετίσει κανείς σαφώς την εμφάνιση του ΠΓΚ με τέτοιου είδους αίτια. Παρόλα αυτά έχει αναφερθεί ότι ασθενείς με μεγαλύτερες βλάβες έχουν χειρότερη στοματική υγιεινή και μεγαλύτερη συσσώρευση οδοντικής μικροβιακής πλάκας, γεγονός που επίσης ενισχύει την αντίληψη ότι πρόκειται για αντιδραστική βλάβη [141]. Επίσης έχει παρατηρηθεί στατιστικά σημαντική αύξηση της συχνότητας της ξηροστομίας μεταξύ των ασθενών με μεγαλύτερου μεγέθους βλάβες [141]. Αναμφίβολα η ξηροστομία

είναι παράγοντας που μπορεί να δημιουργήσει συνθήκες χρόνιου ερεθισμού στο στόμα λόγω της έλλειψης της λιπαντικής δράσης του σιέλου.

Σε μια αναφορά 123 περιπτώσεων από το Ιράν επιχειρήθηκε να βρεθεί η πιθανή συσχέτιση των βλαβών με τραυματογόνους ή ερεθιστικούς παράγοντες [133]. Στο 40% των περιπτώσεων δεν υπήρχε εμφανής αιτιολογικός παράγοντας. Η οδοντική τρυγία θεωρήθηκε ως αίτιο στο 31% των περιπτώσεων και ήταν το συχνότερο. Άλλη λιγότεροι συχνοί ήταν κακότεχνες εμφράξεις, τραύμα από ακίνητες και κινητές προσθετικές εργασίες και κατάγματα δοντιών.

Περιστασιακά μπορεί το ΠΓΚ να εμφανιστεί σε εγκύους γυναίκες [142]. Οι Daley και Wysocki παρόλα αυτά πιστεύουν ότι τα ΠΓΚ δεν επηρεάζονται από την εγκυμοσύνη, στηρίζοντας την άποψή τους αυτή στο γεγονός ότι δεν παρατήρησαν διαφορές στην συχνότητα μεταξύ εγκύων και μη [143], σε αντίθεση με ό, τι συμβαίνει με ορισμένα πυογόνα κοκκιώματα, γνωστά και ως όγκους κύησης. Το γεγονός ότι το ΠΓΚ είναι συχνότερο σε γυναίκες εγείρει το ερώτημα αν οι γυναικείες ορμόνες το επηρεάζουν. Οι Gunhan και συν. μελέτησαν ανοσοϊστοχημικά την έκφραση οιστρογόνων, προγεστερόνης και των αντίστοιχων υποδοχέων τους [144]. Καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι είναι πιθανό να είναι ορμονοεξαρτώμενοι τουλάχιστον κάποιοι όγκοι.

2.4 Κλινική εικόνα

Το ΠΓΚ εμφανίζεται ως ελαστικό ογκίδιο των ούλων με ερυθρή ή κυανή χροιά, ευρεία ή μισχωτή βάση και λεία ή εξελκωμένη επιφάνεια [131] (εικόνα 2.4). Οι Anneroth και Sigurdson αναφέρουν ότι συχνότερα η βάση είναι ευρεία ή με παχύ παρά με λεπτό μίσχο [145]. Επίσης, αναφέρουν συχνότερα μαλακή ή σχεδόν ελαστική/συμπαγή σύσταση παρά σαφώς ελαστική. Τέλος, σε αντίθεση με την γενική άποψη, αναφέρουν συχνότερα φυσιολογική χροιά. Η διάρκειά τους ποικίλει από 1 μήνα μέχρι περισσότερο από 1 χρόνο. Οι Shadman και συν. σε σύνολο 123 περιπτώσεων βρήκαν ότι το 60% είχαν μίσχο διαφόρου πάχους [133]. Σε αναφορά 224 περιπτώσεων του 1988, αναφέρεται ότι σε συχνότητα 63,6% εμφανίζουν ερυθρό χρώμα και σε ποσοστό 61,5% λεία επιφάνεια [131]. Στην ίδια μελέτη αναφέρονται ως μέση διάρκεια οι 6 μήνες. Όσο αφορά στο μέγεθος των ογκιδίων, αναφέρεται ότι το 90-95% περίπου είναι μικρότερα των 2 cm [124, 130], ενώ είναι εξαιρετικά σπάνιο να υπερβούν τα 3 cm.

Το ΠΓΚ είναι ανώδυνο. Ο ασθενής συνήθως αναζητά ιατρική βοήθεια όταν αντιληφθεί διόγκωση ή όταν παρατηρήσει αισθητικό πρόβλημα. Σπανιότερα συμβαίνει αιμορραγία της βλάβης κατά την ομιλία ή την μάσηση λόγω τραυματισμού καθώς και της αγγειοβρίθειας της. Εξαιτίας της σχετικής έλλειψης συμπτωμάτων είναι επίσης δύσκολο να προσδιοριστεί σαφώς η διάρκεια και το αυξητικό δυναμικό των βλαβών μέσα στον χρόνο.

Συχνά, τα δόντια με τα οποία σχετίζεται η βλάβη έχουν διαφόρου βαθμού κινητικότητα. Μάλιστα, παλιότερα υπήρχε η πεποίθηση ότι πρέπει να αφαιρούνται τα υπεύθυνα δόντια ώστε να αποφευχθεί πιθανή υποτροπή. Κάτι τέτοιο βέβαια σήμερα δεν συνίσταται, αντιθέτως λαμβάνεται κάθε φροντίδα για την διατήρηση των δοντιών στον φραγμό [146]. Σπανιότερα μπορεί τα παρακείμενα δόντια να μεταξύ τους με συνέπεια την δημιουργία διαστήματος [127].



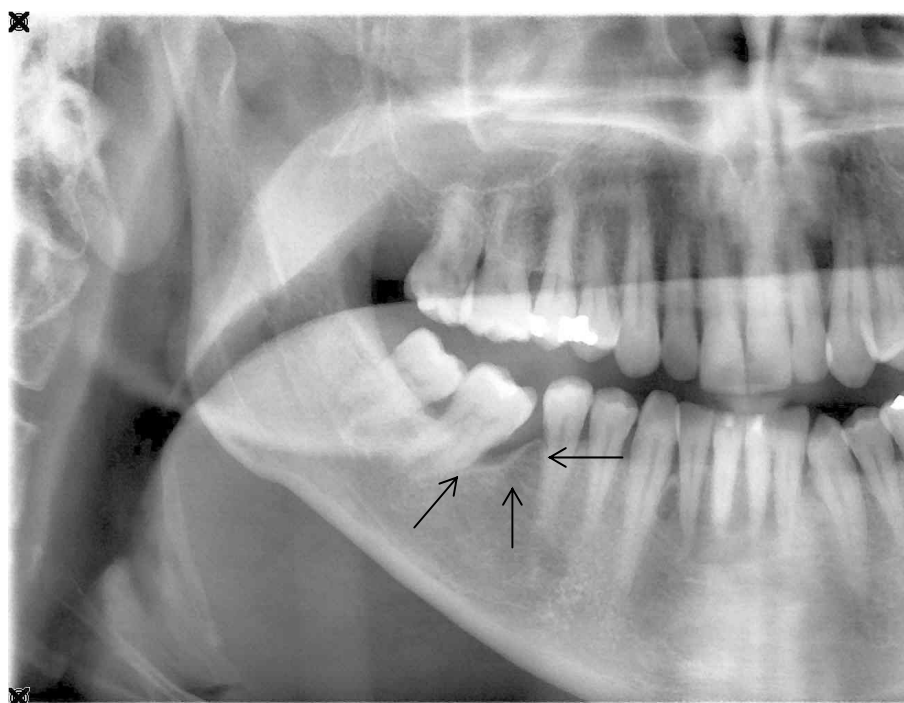
Εικόνα 2.4: Περιφερικό γιγαντοκυτταρικό κοκκίωμα, εντοπιζόμενο γλωσσικά των #42-43 και σχετιζόμενο με έντονη εναπόθεση οδοντικής τρυγίας (πηγή: κλινική Στοματολογίας Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ)

2.5 Ακτινογραφική εικόνα

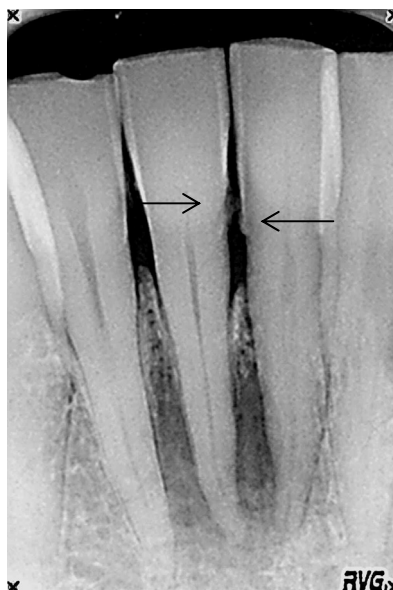
Η λήψη οπισθοφατνιακής ακτινογραφίας στην θέση όπου έχει αναπτυχθεί μια επουλίδα είναι πολύ σημαντική για την διαφοροδιάγνωσή της από κεντρικές βλάβες που έχουν προκαλέσει διάτρηση του συμπαγούς οστικού πετάλου των γνάθων και μπορεί κλινικά να φαίνονται σαν περιφερικές. Εξ' ορισμού μια περιφερική βλάβη δεν περιλαμβάνει προσβολή του οστού. Παρόλα αυτά πολλές βλάβες των ούλων, όπως και το ΠΓΚ, μπορεί να προκαλέσουν επιφανειακή κυτταροειδή απορρόφηση του

υποκείμενου οστού (εικόνα 2.5.1). Το ποσοστό προσβολής του οστού για τα ΠΓΚ είναι 26-28% περίπου [130]. Παρόλα αυτά δεν είναι πάντα σαφές αν η απορρόφηση αυτή οφείλεται στην βλάβη ή σε περιοδοντική νόσο. Επίσης, δεν είναι πάντα ορατή ακτινογραφικά, ιδίως όταν είναι μικρή ή βρίσκεται στο παρειακό ή γλωσσικό συμπαγές πτέαλο των γνάθων.

Οι Anneroth και Sigurdson αναφέρουν ότι το ΠΓΚ είναι η επουλίδα που συχνότερα προκαλεί απορρόφηση του οστού [145]. Συγκεκριμένα, στην έρευνά τους το 65% των αντιδραστικών βλαβών των ούλων που προσβάλλουν το υποκείμενο οστό είναι ΠΓΚ. Ακτινοσκοπικές περιοχές αναφέρονται περιστασιακά στα ακτινογραφικά ευρήματα. Ο Andersen αναφέρει συχνότητα 16% [13]. Επίσης, έχουν αναφερθεί σπάνιες περιπτώσεις απορρόφησης της ρίζας των εμπλεκόμενων δοντιών [146]. Η απορρόφηση είναι ομαλή και αναχαιτίζεται μετά την χειρουργική αφαίρεση του ΠΓΚ [147]. Παρόλα αυτά, δεν είναι πάντα σαφές εάν πρόκειται όντως για απορρόφηση οφειλόμενη στον όγκο ή εμπλέκονται άλλοι παράγοντες (π.χ. τερηδόνα, ορθοδοντική θεραπεία). Περιστασιακά μπορεί να είναι ορατή στο ακτινογράφημα έντονη συσσώρευση οδοντικής τρυγίας σε σχέση με την βλάβη (εικόνα 2.5.2) [141]. Τέλος, συχνά αναφέρεται παθολογική διεύρυνση του περιρριζικού χώρου η οποία μπορεί να συνοδεύεται και από κινητικότητα του αντίστοιχου δοντιού [148].



Εικόνα 2.5.1: Κυπελλοειδής απορρόφηση του οστού των γνάθων αντίστοιχα με τον #47 από υπερκείμενο ΠΓΚ (βέλη) (πηγή: κλινική Στοματολογίας Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ)



Εικόνα 2.5.2: ΠΚΓ, παρατηρούνται εναποθέσεις τρυγίας στους #31-41 (βέλη) καθώς και ήπια απορρόφηση του υποκείμενου οστού (πηγή: κλινική Στοματολογίας Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ)

2.6 Ιστολογική εικόνα

Γενικά, η ιστολογική εικόνα του ΠΓΚ είναι όμοια με αυτήν του ΚΓΚ, δηλαδή πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα διάσπαρτα κατανεμημένα σε στρώμα μονοπύρηνων κυττάρων. Συχνά παρατηρούνται μιτώσεις στο στρώμα καθώς και άφθονη αιμορραγική διαπότιση μαζί με κοκκία αιμοσιδηρίνης. Στο 50% περίπου των βλαβών το υπερκείμενο επιθήλιο είναι εξελκωμένο, ενώ μεταξύ αυτού και της κυρίως βλάβης υπάρχει συνήθως μια ζώνη πυκνού κολλαγονοποιημένου ινώδη συνδετικού ιστού [131].

Αρκετά συχνά σε ιστολογικές τομές ΠΓΚ ανευρίσκεται ενασβεστιωμένο υλικό. Οι Dayan και συν. το 1990 σε σύνολο 62 περιπτώσεων που μελέτησαν βρήκαν ενασβεστιωμένο υλικό στο 35% [149]. Εξ' αυτών το 82% περιλάμβανε δικτυωτού (woven) τύπου οστό, μόνο του ή συνδυασμό με πεταλιώδες (lamellar) οστό, ενώ στις υπόλοιπες περιπτώσεις υπήρχαν δυστροφικές ενασβεστιώσεις. Οι συγγραφείς δεν βρήκαν καθόλου υλικού το οποίο να μοιάζει με οστεΐνη σε αντίθεση με ό, τι συμβαίνει σχετικά συχνά σε περιφερικά οστεοποια ινώματα. Οι Katsikeris και συν. στην δική τους μελέτη βρήκαν οστεοειδές ή ώριμο οστό στο 44,6% των περιπτώσεων, ενώ άμορφες ενασβεστιώσεις στο 4,9% [131].

2.7 Διαφορική διάγνωση

Το ΠΓΚ είναι ανάγκη να διαφοροδιαγνωστεί από πλήθος άλλων όγκων με παρόμοια κλινική εικόνα [150]. Σε αυτούς περιλαμβάνεται το ΚΓΚ όταν αυτό έχει προκαλέσει διάτρηση των οστικών πετάλων και προβάλλει στα ούλα, το πυογόνο ή αιμαγγειωματοειδές κοκκίωμα, το κοκκίωμα συριγγίου, το περιφερικό ίνωμα των ούλων, το περιφερικό οστεοποϊό ίνωμα, οι διάφορες αγγειακές δυσπλασίες, τα μεταστατικά καρκινώματα και η πτυχωτή ινώδης υπερπλασία από οδοντοστοιχίες [140].

Στην διαφορική διάγνωση από το ΚΓΚ είναι προφανές ότι τον πρώτο λόγο έχει η ακτινογραφία και η προσβολή του οστού, οπότε παρόλο που η ιστολογική τους εικόνα είναι ίδια δεν είναι εύκολο να γίνει λάθος. Το πυογόνο κοκκίωμα συνήθως είναι περισσότερο αιμορραγικό και έχει φωτεινό κόκκινο χρώμα σε αντίθεση με το συνήθως πιο βαθύ ή και κυανό χρώμα του ΠΓΚ. Το κοκκίωμα συριγγίου σχετίζεται με νεκρό δόντι το οποίο μπορεί κανείς να βρει εύκολα προωθώντας έναν κώνο γουταπέρκας δια του στομίου του. Το περιφερικό ίνωμα των ούλων ή περιφερικό οστεοποϊό ίνωμα συνήθως έχει λεία επιφάνεια φυσιολογικού χρώματος και είναι η συχνότερη αντιδραστική βλάβη των ούλων. Οι διάφορες αγγειακές δυσπλασίες είναι σπάνιες στα ούλα και συνήθως μπορεί κανείς να δει τον αποχρωματισμό τους πιέζοντας μια αντικειμενοφόρο πλάκα, γεγονός που υποδηλώνει την εκκένωση των αγγειακών χώρων από αίμα. Η πτυχωτή ινώδης υπερπλασία σχετίζεται πάντοτε με το πτερύγιο κάποιας οδοντοστοιχίας και μορφολογικά μοιάζει περισσότερο με πτύχωση ή ασαφή υπερπλασία παρά με ογκίδιο. Τέλος, προσοχή πρέπει να δοθεί στην περίπτωση της μετάστασης στα μαλακά μόρια του στόματος, καθώς τα ούλα είναι η συχνότερη θέση εντόπισης (50% περίπου) [151] και κλινικά προσομοιάζει σε αντιδραστική βλάβη.

Τα παραπάνω στοιχεία βοηθούν την κλινική διαφορική διάγνωση, πάντα όμως τον τελευταίο λόγο έχει η ιστοπαθολογική εξέταση μετά την αφαίρεση της βλάβης.

2.8 Θεραπεία – Πρόγνωση

Η θεραπεία εκλογής του ΠΓΚ είναι η χειρουργική αφαίρεση. Ταυτόχρονα πρέπει να λαμβάνεται φροντίδα για την άρση οποιουδήποτε πιθανού αιτιολογικού παράγοντα, όπως προσεκτική απόξεση των ριζών των εμπλεκόμενων δοντιών, λείανση παρακείμενων εμφράξεων ή αντικατάσταση κακότεχνων εργασιών. Το ποσοστό υποτροπής των ΠΓΚ ανέρχεται περίπου στο 10% και είναι μικρότερη από

αυτήν του ΚΓΚ. Οι Katsikeris και συν. αναφέρουν ποσοστό υποτροπής 9,8% [131], οι Bhaskar και συν. 12% [132], οι Sorensen και συν. 7,7% [152] και οι Giasanti & Waldron 4,9% [153]. Οι Chaparro-Avendano και συν. αναφέρουν ότι δεν υπάρχει καμία διαφορά στην μετεγχειρητική πορεία μεταξύ βλαβών που αφαιρέθηκαν με νυστέρι και βλαβών που αφαιρέθηκαν με την χρήση laser διοξειδίου του άνθρακα [154]. Παρόλα αυτά δεν συνιστούν το δεύτερο όταν υπάρχει εμπλοκή του οστού καθώς είναι απαραίτητο σε τέτοιες περιπτώσεις να γίνει καλός χειρουργικός καθαρισμός και απόξεση της οστικής επιφάνειας.

Ορισμένες φορές το ΠΓΚ λαμβάνει αρκετά μεγάλες διαστάσεις και κατά την χειρουργική του αφαίρεση μπορεί να προκύψει αισθητικό πρόβλημα με απώλεια τμήματος των ούλων και ιατρογενή υφίζηση. Σε τέτοιες περιπτώσεις μπορεί να είναι απαραίτητη η ουλοπλαστική με την χρήση μοσχευμάτων και κρημνών [155].

3. Οδοντογένεση – Πρωτεΐνες Bmp4 και Pax9

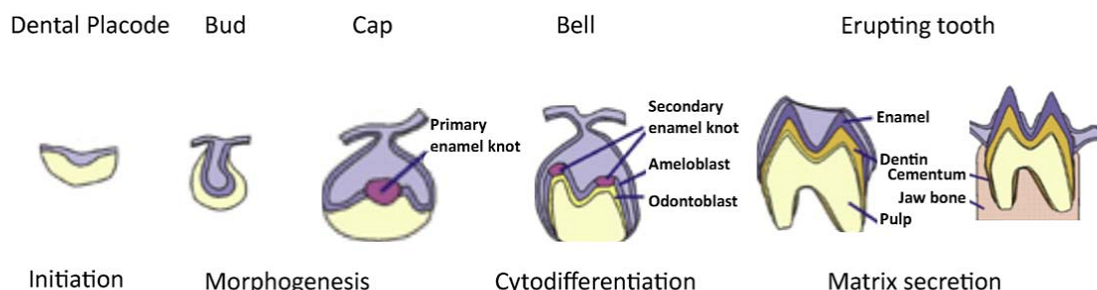
3.1 Εισαγωγή

Τα δόντια είναι όργανα των σπονδυλωτών ζώων κατεξοχήν, τα οποία χρησιμεύουν στην κατάτμηση και λειοτρίβηση των τροφών. Κατά την εμβρυογένεση, όπως κάθε όργανο, έτσι και τα δόντια πρέπει να περάσουν από 3 στάδια: την έναρξη, η οποία καθορίζει την σωστή τοπογραφική θέση όπου θα ξεκινήσει το κάθε δόντι να σχηματίζεται, την μορφογένεση, η οποία περιλαμβάνει την σχηματοποίηση του οργάνου και την διαφοροποίηση των πρόδρομων κυττάρων σε οργανοειδικά για το δόντι κύτταρα. Η εμβρυϊκή καταβολή και ανάπτυξη των δοντιών του ανθρώπου, αλλά και κάθε σπονδυλωτού ζώου, αποτελεί μια ιδιαίτερα περίπλοκη βιολογική διαδικασία η οποία στα αρχικά της στάδια περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση δύο διαφορετικών ιστών, του οδοντικού επιθηλίου και του μεσεγγύματος το οποίο προέρχεται από την νευρική ακρολοφία (εκτομεσέγγυμα). Το πειραματικό μοντέλο το οποίο κατεξοχήν χρησιμοποιείται από τους ερευνητές για την μελέτη της οδοντογένεσης αλλά και διάφορων θεμελιωδών μηχανισμών της εμβρυογένεσης μέσω αυτής, είναι το ποντίκι [156].

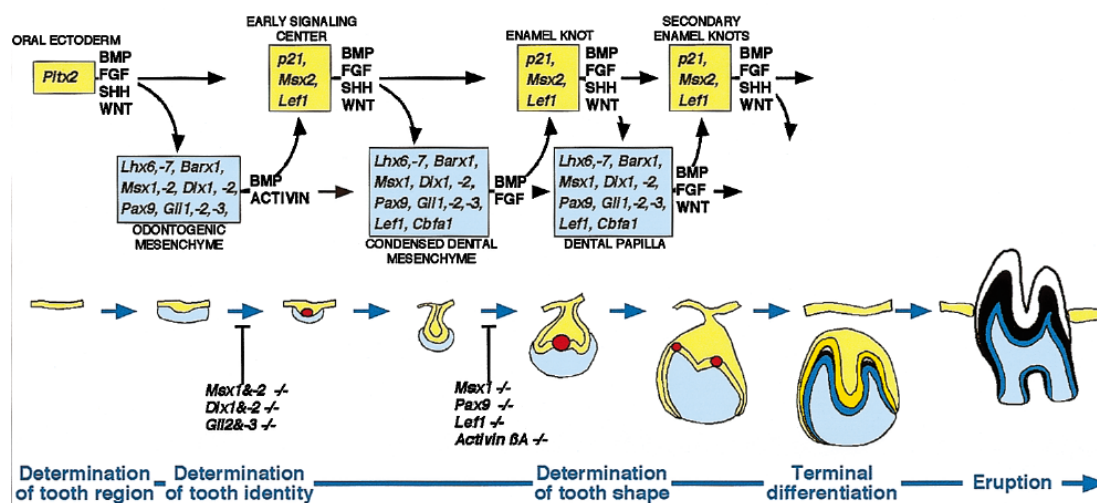
Η έναρξη της οδοντογένεσης χρονολογείται κατά την 6^η εμβρυϊκή εβδομάδα του ανθρώπου ή την 11^η εμβρυϊκή ημέρα του ποντικού, οπότε και σχηματίζεται η οδοντική ταινία με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του επιθηλίου του αρχέγονου στόματος και την κατάδυσή τους προς το εκτομεσέγγυμα. Σε αυτό το στάδιο, το δυναμικό επαγωγής της μορφοποίησης των δοντιών βρίσκεται στο οδοντογενές επιθήλιο και όχι στο εκτομεσέγγυμα [157]. Δηλαδή το οδοντογενές επιθήλιο έχει την ικανότητα να επάγει τον σχηματισμό δοντιού σε μη-οδοντογενές μεσέγγυμα. Αυτό έχει αποδειχτεί πειραματικά με την εμφύτευση οδοντογενούς επιθηλίου πειραματόζωων σε μη ομόλογο εκτομεσέγγυμα ειδών που δεν φέρουν δόντια φυσιολογικά (π.χ. όρνιθα, βάτραχος), οπότε επάγεται ο σχηματισμός δοντιού [158]. Σύντομα, το οδοντογενές δυναμικό χάνεται από το επιθήλιο και μετατίθεται στο εκτομεσέγγυμα το οποίο με την σειρά του μπορεί να επάγει τον σχηματισμό του οργάνου της αδαμαντίνης σε μη οδοντογενές επιθήλιο. Κατόπιν τα κύτταρα της οδοντικής ταινίας πολλαπλασιάζονται και καταδύονται περεταίρω στο εκτομεσέγγυμα σχηματίζοντας επιθηλιακά επάρματα γνωστά ως οδοντοβλαστήματα. Αυτά είναι δέκα για την άνω και δέκα για την κάτω γνάθο και αντιστοιχούν σε καθένα από τα δόντια της νεογιλής οδοντοφυΐας. Ακολούθως, το οδοντοβλάστημα αποκτά μια κοίλανση στην εν τω βάθει (προς την μελλοντική γνάθο) επιφάνειά του μεταπίπτοντας στο

στάδιο του κυπέλλου και στην συνέχεια του κώδωνα. Ταυτόχρονα, γύρω από το οδοντοβλάστημα και κυρίως μέσα στην προαναφερθείσα κοίλανση, τα κύτταρα του εκτομεσεγγύματος πολλαπλασιάζονται και συμπυκνώνονται σχηματίζοντας την οδοντική θηλή. Κατά το στάδιο του κυπέλλου, το οδοντογενές δυναμικό μετατίθεται και πάλι στο επιθήλιο με τον σχηματισμό του οργάνου της αδαμαντίνης το οποία πλέον ελέγχει την διαφοροποίηση των κυττάρων και την μορφογένεση των δοντιών. Καθ' όλη αυτήν την διαδικασία λοιπόν, ο έλεγχος της οδοντογένεσης μεταφέρεται από το επιθήλιο στο μεσέγγυμα και αντιστρόφως [159]. Αυτό γίνεται μέσω πολύπλοκων μοριακών οδών και με την συμμετοχή πλήθους πρωτεϊνών, μεταγραφικών παραγόντων και σηματοδοτικών μορίων. Απώλεια της ικανότητας της αλληλεπίδρασης αυτής μεταξύ των δύο αρχέγονων ιστών, οδηγεί σε διαφόρων ειδών οδοντικές ανωμαλίες και ελλείψεις [160].

Έχει δειχθεί με πειράματα σε ζώα, ότι οι σηματοδοτικές οδοί που κύρια ελέγχουν την αλληλεπίδραση επιθηλίου – μεσεγγύματος κατά την οδοντογένεση περιλαμβάνουν μόρια των οικογενειών Hedgehog, Wnt και TGF- β , με την τελευταία να περιλαμβάνει και την οικογένεια των μορφογενετικών πρωτεϊνών του οστού (BMPs). Μεταξύ των μορίων που εμπλέκονται στην οδοντογένεση, σημαντική θέση κατέχει το Pax9. Έχει δειχθεί ότι το μόριο αυτό εκφράζεται στο εκτομεσέγγυμα και «μαρκάρει» τις θέσεις των μελλοντικών δοντιών πριν ακόμα ξεκινήσει η μορφογένεσή τους, συνεπώς έχει καθοριστικό ρόλο στην έναρξη της οδοντογένεσης [161]. Το Pax9 αλληλεπιδρά με διάφορους τρόπους με την πρωτεΐνη BMP4, η οποία έχει επίσης καθοριστική σημασία στην οδοντογένεση. Μάλιστα στην πρώιμη οδοντογένεση, η BMP4 καταστέλλει την έκφραση της Pax9, ενώ οι ρόλοι αντιστρέφονται κατά το στάδιο του κώδωνα όταν το οδοντογενές δυναμικό μεταφέρεται στο μεσέγγυμα. Τότε η Pax9 σε συνδυασμό με την Msx1 ρυθμίζει την έκφραση της BMP4 στο εκτομεσέγγυμα [156].



Εικόνα 3.1.1: Στάδια της οδοντογένεσης [162]



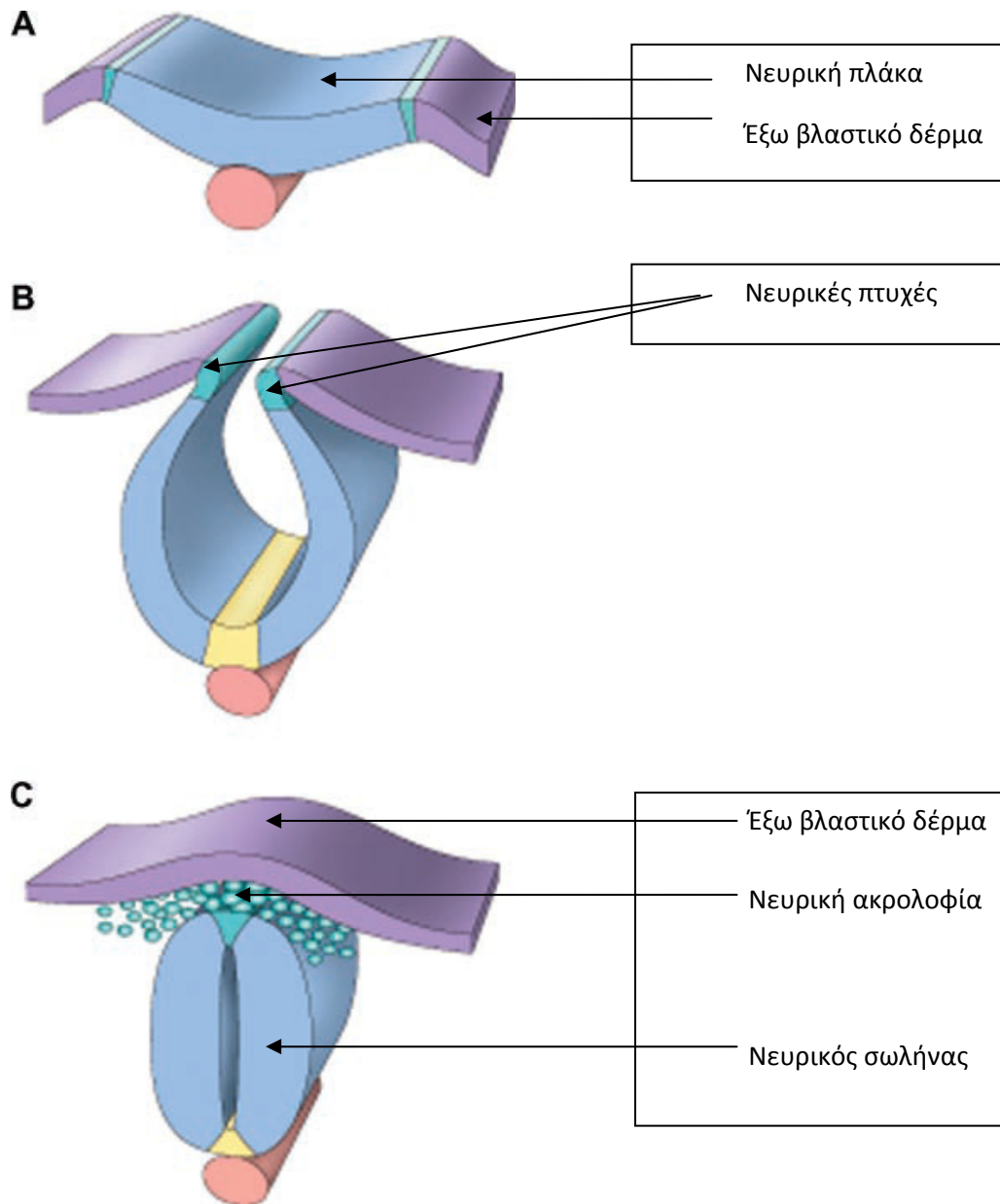
Εικόνα 3.1.2: Μόρια που συμμετέχουν στα διάφορα στάδια της οδοντογένεσης [163]

3.2 Εκτομεσέγχυμα

Η πιο βασική και θεμελιώδης διαφορά των σπονδυλωτών οργανισμών από τους ασπόνδυλους, είναι η ύπαρξη της νευρικής ακρολοφίας [164], από την οποία προέρχονται διάφορες ανατομικές δομές που διαχωρίζουν τις δύο αυτές κατηγορίες οργανισμών. Κατά την 3^η εμβρυϊκή εβδομάδα, στην ραχιαία επιφάνεια του ανθρώπινου εμβρύου σχηματίζεται μια πάχυνση του έξω βλαστικού δέρματος (εξώδερμα) η οποία καλείται νευρική πλάκα και τις οποίες τα πλάγια όρια παχύνονται και σχηματίζουν δύο επιμήκεις πτυχές (νευρικές πτυχές). Αυτές σχηματίζουν την νευρική αύλακα και με περαιτέρω αναδίπλωση και συνένωσή τους ραχιαίως, το νευρικό σωλήνα. Στην ραχιαία και τις πλευρικές περιοχές του νευρικού σωλήνα και μεταξύ αυτού και του έξω βλαστικού δέρματος, υπάρχουν κύτταρα προερχόμενα από τις νευρικές πτυχές, τα οποία αποτελούν την **νευρική ακρολοφία** [165] (εικόνα 3.2). Η σημασία της είναι τέτοια ώστε κάποιοι συγγραφείς έχουν προτείνει ότι αποτελεί ένα τέταρτο βλαστικό δέρμα μαζί με τα γνωστά έξω, μέσο και έσω βλαστικά δέρματα. Κατά συνέπεια οι σπονδυλωτοί οργανισμοί δεν είναι τριβλαστικοί όπως θεωρείται μέχρι σήμερα αλλά τετραβλαστικοί [166].

Τα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας έχουν το δυναμικό να διαφοροποιηθούν σε ένα πλήθος διαφορετικών κυττάρων και να δώσουν ιστούς οι οποίοι γενικά διακρίνονται σε μη-εκτομεσεγγυματικούς και εκτομεσεγγυματικούς. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει αισθητικούς, συμπαθητικούς και παρασυμπαθητικούς νευρώνες, νευρογλοιακά κύτταρα και μελανοκύτταρα. Το προερχόμενο από την

νευρική ακρολοφία **εκτομεσέγγυμα** θα οδηγήσει στον σχηματισμό του συνδετικού ιστού του προσώπου, τον οδοντοβλαστών των δοντιών και των οστεοκυττάρων και χονδροκυττάρων των γνάθων και του προσώπου. Το βασικό χαρακτηριστικό των κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας του προσώπου είναι η ικανότητα μέσω του εκτομεσεγγύματος να σχηματίζουν σκληρούς ιστούς, σε αντίθεση με τα αντίστοιχα



Εικόνα 3.2: Σχηματισμός της νευρικής ακρολοφίας (εικόνα τροποποιημένη από [165])

κύτταρα του κορμού τα οποία δεν έχουν αυτήν την ικανότητα και όπου τα οστά και οι χόνδροι προέρχονται από το μεσόδερμα [167]. Η προέλευση των κυττάρων του εκτομεσεγγύματος έχει μελετηθεί εκτενώς σε πουλιά και ποντίκια και έχει δειχθεί ότι

ανάλογα με την εντόπισή τους κατά μήκος της νευρικής ακρολοφίας, μεταναστεύουν σε συγκεκριμένες θέσεις στο αναπτυσσόμενο έμβρυο, ακολουθώντας συγκεκριμένες διαδρομές ενώ διαφοροποιούνται σε διαφόρων ειδών κύτταρα. Έτσι, για παράδειγμα, τα κεφαλικά ευρισκόμενα κύτταρα του μέσου και του πρόσθιου εγκεφάλου μεταναστεύουν για τον σχηματισμό της μετωπορρινικής χώρας, ενώ τα ουραία κύτταρα του μέσου εγκεφάλου σχηματίζουν τα βραγχιακά τόξα. Επίσης, σημασία έχει και ο χρόνος της μετανάστευσης των κυττάρων. Για παράδειγμα, κύτταρα τα οποία μεταναστεύουν νωρίς, καταλήγουν στα βραγχιακά τόξα, ενώ κύτταρα που αργούν να μεταναστεύσουν δίνουν γένεση σε νευρικό ιστό και γλοία [165].

Μερικά από τα πιο σημαντικά γονίδια που συμμετέχουν στον σχηματισμό και την ανάπτυξη της νευρικής ακρολοφίας, είναι μέλη των οικογενειών Bmp, Wnt, Zic, Pax, Msx, Dlx και πλήθος άλλων [165]. Θα ήταν ενδιαφέρον να χαρτογραφηθεί το σύνολο των μεταγραφικών παραγόντων που δραστηριοποιούνται στα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας και οι θέσεις πρόσδεσής τους στο διάφορα γονίδια. Κάτι τέτοιο όμως δεν είναι εφικτό ακόμα και έχει πραγματοποιηθεί εν μέρει για οργανισμούς όπως κάποια είδη βατράχων και χελιών [168, 169].

3.3 Pax9

3.3.1 Γενικά για τις Pax

Η πρωτεΐνη **Paired Box Gene 9**, γνωστή και ως **Pax9**, ανήκει σε μια ιδιαίτερη οικογένεια πρωτεϊνών οι οποίες προκύπτουν από τα λεγόμενα paired box γονίδια, τα οποία είναι υψηλά διατηρημένα κατά την ανθρώπινη εξέλιξη τόσο στα ενδόνια όσο και στα εξόνιά τους. Οι πρωτεΐνες αυτές διαθέτουν μια κοινή αλληλουχία περίπου 126 αμινοξέων η οποία ονομάζεται paired domain και ο ρόλος της είναι η πρόσδεση σε συγκεκριμένες περιοχές του μεταγραφόμενου DNA και κατά συνέπεια η μεταγραφική του ρύθμιση. Επίσης, τα περισσότερα μέλη της οικογένειας περιέχουν και μια περιοχή homeobox, αντίστοιχη με αυτήν της οικογένειας των ομοιωτικών γονιδίων (π.χ. Msx, Hox) [170]. Κυρίως δρουν κατά την διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής, ρυθμίζοντας την μορφογένεση των διαφόρων ιστών και οργάνων. Φαίνεται ότι οι πρωτεΐνες αυτές κατευθύνουν κρίσιμα στάδια της αύξησης και της ανάπτυξης, όπως η τρισδιάστατη σχηματοποίηση του σώματος, η ανάπτυξη των άκρων, η οργανογένεση, η ανάπτυξη του μυελού των οστών κα. [171]. Οι περισσότερες απενεργοποιούνται μετά την γέννηση, κάποιες όμως παραμένουν ενεργές καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής ρυθμίζοντας την αναγέννηση των ιστών και προστατεύοντας τα

κύτταρα από βλαπτικούς παράγοντες που οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο. Πλήθος *paired box* και *homeobox* γονιδίων εκφράζονται στο οδοντογενές εκτομεσέγγυμα και καθορίζουν την θέση και την μορφολογία των αναπτυσσόμενων δοντιών. Η έκφραση των γονιδίων αυτών φαίνεται ότι καθορίζεται κατά την έναρξη της οδοντογένεσης από σηματοδοτικά μόρια του υπερκείμενου οδοντογενούς επιθηλίου [167].

Υπάρχουν 9 γνωστές Pax πρωτεΐνες οι οποίες ταξινομούνται σε 4 υποομάδες (πίνακας 3.3.1). Η πρωτεΐνη Pax9 μαζί με την πρωτεΐνη Pax1 ανήκουν στην υποομάδα I, μόνο όμως η πρώτη έχει βασικό και θεμελιώδη ρόλο κατά την οδοντογένεση.

Μεταλλάξεις των Pax γονιδίων οδηγούν σε ατελή σχηματισμό ή αγενεσία των ιστών που το καθένα ελέγχει, κατά συνέπεια οι μεταλλάξεις στο γονίδιο της Pax9, το οποίο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 14, οδηγούν σε ανωμαλίες στον αριθμό των δοντιών (υποδοντία, ολιγοδοντία, σπάνια ανοδοντία) και υποπλασίες των οδοντικών ουσιών. Επίσης, έχει βρεθεί ότι έχει ρόλο στην μορφογένεση του προσώπου και του κρανίου και έχει συσχετιστεί με περιπτώσεις χειλεοσχιστίας και υπερωιοσχιστίας [172]. Όλες οι ανωτέρω ανωμαλίες, έχουν συχνά κληρονομικό χαρακτήρα και μπορούν να εμφανιστούν στα πλαίσια αναγνωρισμένων συνδρόμων ή μεμονωμένα.

Πίνακας 3.3.1: Οι πρωτεΐνες Pax και οι ιστοί με των οποίων την ανάπτυξη και διαφοροποίηση σχετίζονται [173]

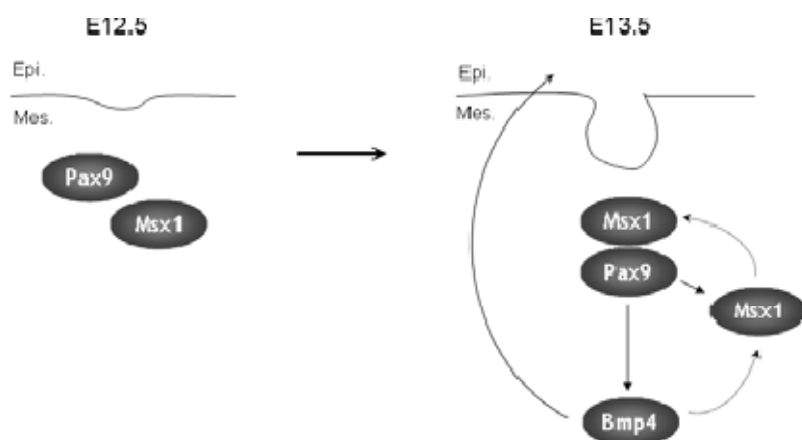
Υποομάδα	Πρωτεΐνη	Ιστοί
I	Pax1	Σπόνδυλοι, διαμερισματοποίηση εμβρύου
	Pax9	Οδοντογένεση, μορφογένεση προσώπου
II	Pax2	Νεφροί
	Pax5	B-λεμφοκύτταρα, νευρικός ιστός, σπερματογένεση
	Pax8	Θυρεοειδής
III	Pax3	Νευρικός ιστός
	Pax7	Μυς
IV	Pax4	Πάγκρεας (β - κύτταρα)
	Pax6	Οφθαλμοί, ρινική κοιλότητα

3.3.2 Ο ρόλος της Pax9 στην οδοντογένεση – Αλληλεπίδραση με την Msx1 και την Bmp4

Η πρωτεΐνη Pax9 είναι πρώιμος δείκτης του οδοντογενούς μεσεγγύματος [161] και μαζί με την Msx1 είναι οι πιο καλά μελετημένοι μεταγραφικοί παράγοντες

της οδοντογένεσης. Επίσης, το γεγονός ότι φαίνεται να έχουν παράλληλη έκφραση, δείχνει ότι και οι δύο έχουν σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση οδοντογενούς επιθηλίου – εκτομεσεγγύματος. Στον άνθρωπο όμως (σε αντίθεση με τον ποντικό), η Pax9 εκφράζεται και στο οδοντογενές επιθήλιο, λιγότερο έντονα όμως από ότι στο υποκείμενο εκτομεσέγγυμα [174].

Η Pax9 μαζί με την πρωτεΐνη Msx1, ρυθμίζουν μεταγραφικά την έκφραση της Bmp4 στο εκτομεσέγγυμα κατά την πρώιμη οδοντογένεση (εικόνα 3.3.2). Έχειδειχθεί ότι σε περίπτωση ομόζυγης απώλειας ενός εκ των δυο γονιδίων ή ετερόζυγης απώλειας και των δύο, η έκφραση της Bmp4 αναστέλλεται και ο σχηματισμός του δοντιού δεν ολοκληρώνεται, εκτός και αν προκληθεί πειραματική υπερέκφραση της τελευταίας [175-177]. Συγκεκριμένα, το εκτομεσέγγυμα αποτυγχάνει να συμπυκνωθεί γύρω από το καταδυόμενο οδοντογενές επιθήλιο. Μάλιστα, μεταλλάξεις είτε στην Pax9 είτε στην Msx1 είναι μακράν οι πιο συχνές σε περιπτώσεις συνδρομικής ή μη ολιγοδοντίας, γεγονός που υπογραμμίζει την σημασία τους [178]. Οι Ogawa και συν. έχουν δείξει πειραματικά ότι οι Pax9 και Msx1 μπορούν να σχηματίσουν διμερή πρωτεϊνικά συμπλέγματα τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* [179], ενισχύοντας έτσι τις γνώσεις σχετικά με την αλληλεπίδρασή τους. Επίσης, έχειδειχθεί ότι αλληλεπιδρούν ακόμα και σε επίπεδο γονιδίων, δρώντας ή μια για την άλλη σαν μεταγραφικός παράγοντας [180]. Αξιοσημείωτο είναι επίσης ότι η συνεχώς εξελισσόμενη επιστήμη της βιοπληροφορικής, μέσα από την ηλεκτρονική επεξεργασία πλήθους δεδομένων από έρευνες που έχουν διεξαχθεί ανά την υφήλιο, δείχνει ότι η δύο πρωτεΐνες έχουν μεταξύ τους σκορ συσχέτισης υψηλότερο από οποιοδήποτε άλλο ζευγάρι πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην οδοντογένεση [178], κάτι που σημαίνει ότι αλληλεπιδρούν ισχυρά.



Εικόνα 3.3.2: Αλληλεπίδραση μεταξύ Msx1, Pax9 και BMP4 κατά την πρώιμη οδοντογένεση, σύμφωνα με τα μέχρι σήμερα διαθέσιμα ερευνητικά δεδομένα [159]

3.3.3 Έκφραση της Pax9 στις γνάθους

Στην φύση είναι πολύ συχνή η σχεδόν ακριβής επανάληψη μοτίβων κατά την εμβρυογένεση τα οποία καθορίζουν διάφορα χαρακτηριστικά, κοινά μεταξύ των ειδών. Παράδειγμα τέτοιων χαρακτηριστικών είναι τα φτερά των πουλιών και οι μαζικοί αδένες των θηλαστικών. Ομοίως, η εμβρυογένεση των δοντιών στα σπονδυλωτά ζώα ακολουθεί γενικά συγκεκριμένο μοτίβο έκφρασης γονιδίων κατά μήκος του άξονα των γνάθων, το οποίο περιλαμβάνει πλήθος πρωτεϊνών, ενεργοποιητών, αναστολέων, μεταγραφικών παραγόντων, κτλ.

Η Pax9 στις γνάθους έχει αυξημένη έκφραση ακριβώς στις περιοχές που θα σχηματιστούν τα δόντια [161]. Για την άνω γνάθο, μελέτη σε ποντικούς έχει δείξει έκφραση της Pax9 κατά την εμβρυογένεση στο έδαφος της ρινός, το ρινικό διάφραγμα, την περιοχή των άνω τομέων, έντονα στην πρωτογενή υπερώα, ασθενέστερα στην πρόσθια και οπίσθια περιοχή της δευτερογενούς υπερώας και με αυξανόμενη ένταση στην μέση γραμμή κατά την συνένωση των υπερώων αποφύσεων [181].

3.4 Bmp4

3.4.1 Γενικά για τις Bmps

Το ανθρώπινο οστό διαθέτει την εξαιρετική ικανότητα να βρίσκεται υπό συνεχή δημιουργία και απορρόφηση, μια διαδικασία η οποία στο σύνολό της καλείται αναδόμηση (remodeling). Μέσα από αυτήν, ο σκελετός του ανθρώπου προσαρμόζεται στις φυσιολογικές περιβαλλοντικές απαιτήσεις αλλά και ανακάμπτει μετά από καταστρεπτικά γεγονότα όπως κατάγματα και ραγίσματα. Η σωματική άσκηση και η μηχανική καταπόνηση ενισχύουν κατά κανόνα την δημιουργία του οστού, ενώ διάφορες νοσηρές καταστάσεις (π.χ. οστεοπόρωση, οστεολυτικά νεοπλασμάτα) ευνοούν την καταστροφή του. Η διαδικασία αυτή ελέγχεται από ένα πλήθος πρωτεϊνών, σηματοδοτικών μορίων, αυξητικών παραγόντων και μεταγραφικών ρυθμιστών.

Οι **μορφογενετικές πρωτεΐνες του οστού (Bone Morphogenetic Proteins - Bmps)** είναι μια ομάδα ομοδιμερών πρωτεϊνικών μορίων τα οποία μπορούν in vitro να επάγουν την δημιουργία οστού [182]. Αρχικά αναγνωρίστηκαν λοιπόν ως πρωτεΐνες που συμβάλλουν στις διεργασίες αναδόμησης του ανθρώπινου σκελετού. Πλέον όμως έχει δειχθεί η εμπλοκή τους σε τόσες πολλές και διαφορετικές

λειτουργίες του οργανισμού, που πολλοί μελετητές προτείνουν την μετονομασία τους σε body morphogenetic proteins [183]. Συντίθενται ως μεγάλου μεγέθους πρόδρομα μόρια και φτάνουν στην τελική τους μορφή μετά από πρωτεολυτικές διαδικασίες οι οποίες δίνουν βιολογικά ενεργά καρβοξυτελικά άκρα. Οι ενεργές πρωτεΐνες, οι οποίες είναι συνήθως διμερή μόρια, είτε εκκρίνονται από το κύτταρο σαν κυτοκίνες, είτε αποθηκεύονται σε κυστίδια στο κυτταρόπλασμα [184]. Μοριακές μελέτες έχουν δείξει ότι οι Bmps αποτελούν μέλος της υπερικογένειας των TGF- β (transforming growth factor- β) [185], φαίνεται όμως ότι αποτελούν την πιο περίπλοκη και σύνθετη οικογένεια, όσον αφορά στην σηματοδοτική τους λειτουργία. Συνολικά έχουν ανακαλυφθεί 18 Bmps, από τις οποίες οι 13 έχουν ανιχνευθεί στον ανθρώπινο οργανισμό [184]. Σήμερα, έχει αποδειχθεί ότι παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στον σχηματισμό και στην αναδόμηση του οστού, τόσο κατά την εμβρυογένεση, όσο και στην μετέπειτα ζωή [186]. Ειδικότερα, συμβάλλουν στην διαφοροποίηση και δράση των οστεοβλαστών [187], ενισχύοντας την οστεοβλαστογένεση. Ταυτόχρονα, *in vitro* μελέτες έχουν δείξει ότι και οι οστεοκλάστες διαθέτουν υποδοχείς Bmps, συνεπώς βρίσκονται υπό την άμεση σηματοδοτική επιρροή τους [186, 188-190] και συμβάλλουν στην διαφοροποίησή τους [191]. Επίσης, δρουν ως μεταγραφικοί παράγοντες για πρωτεΐνες που ρυθμίζουν την οστεοκλαστογένεση όπως η οστεοπροτεγερίνη [192] και καθιστούν τις οστεοκλάστες περισσότερο ευαίσθητες στην επίδραση της RANKL [189]. Ακόμα, έχει δειχθεί ότι η οστεοκλαστική διαφοροποίηση επαγόμενη από τον παράγοντα M-CSF (macrophage colony stimulating factor) και την RANKL, ενισχύεται σημαντικά με την παρουσία Bmps [186]. Είναι λοιπόν εμφανές, ότι οι Bmps επιδρούν σε δύο φαινομενικά αντίθετες βιολογικές δραστηριότητες, οστεοβλαστογένεση και οστεοκλαστογένεση, οι οποίες όμως είναι αλληλένδετες και ουσιαστικά συνεργικές. Κατά κύριο λόγο οι Bmps εκκρίνονται από κύτταρα του οστού, συμπεριλαμβανομένων και των χονδροκυττάρων [193], μικρότερες ποσότητες όμως παράγονται και εκφράζονται και σε εξω-σκελετικούς ιστούς, εμφανίζοντας και σε αυτούς ποικίλες δράσεις. Η σύγχρονη έρευνα έχει δείξει ότι λαμβάνουν σημαντικό ρόλο σε περιοχές όπου συμβαίνει αλληλεπίδραση επιθηλίου και μεσεγχύματος, όχι μόνο κατά την εμβρυογένεση και ανάπτυξη των οστών αλλά και άλλων ιστών στον οργανισμό. Ο ακριβής τρόπος μεταγραφικής και μετα-μεταγραφικής τους ρύθμισης δεν είναι γνωστός, έχει δειχθεί όμως ότι οι ίδιες οι Bmps επηρεάζουν την παραγωγή και τον ρυθμό έκκρισής τους μέσω αυτοκρινούς ρύθμισης [194].

Υπάρχουν 2 γνωστές κατηγορίες υποδοχέων για τις Bmps, οι υποδοχείς τύπου I και τύπου II. Οι τύπου II διαθέτουν 2 υποκατηγορίες υποδοχέων, τους IA και

IB. Οι υποδοχείς αυτοί είναι κινάσες σερίνης/θρεονίνης και απαντώνται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη σαν ομομερή ή ετερομερή συμπλέγματα. Τα μεν ενεργοποιούν στο κυτταρόπλασμα τις πρωτεΐνες Smad και τα δε την σηματοδοτική οδό των MAP κινασών [195], οι οποίες επίσης αναφέρονται και σαν κανονική και μη-κανονική οδός αντίστοιχα. Τελικό αποτέλεσμα είναι η ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων οι οποίοι μεταβαίνουν στον πυρήνα για την ρύθμιση της μεταγραφής του DNA. Οι υποδοχείς και τα συμπλέγματά τους διαφέρουν στα διάφορα κύτταρα στόχους των BMPs. Επίσης έχουν βρεθεί διάφορες πρωτεΐνες οι οποίες ανταγωνίζονται την δράση των BMPs, μεταξύ των οποίων οι νογγίνη (noggin) και η χορδίνη (chordin) [196].

3.4.2 Δράσεις της Bmp4 και εμπλοκή στην οδοντογένεση και τον σχηματισμό των γνάθων

Οι πρωτεΐνη Bmp4 στον ανθρώπινο οργανισμό έχει βρεθεί ότι εκφράζεται στον μυελό των οστών, τον θύμο αδένα, τον σπλήνα, τον εγκέφαλο, την καρδιά, τον νωτιαίο μυελό, τους σκελετικούς μυς, τους νεφρούς, τον πνεύμονα, το πάγκρεας και τον προστάτη. Η σημαντικότερη γνωστή δράση της είναι στις επανορθωτικές διεργασίες των οστών και την αναδόμησή τους (remodeling) [184].

Οι Bmp2 και Bmp4 είναι δύο μέλη της οικογένειας με όμοια κατά το 92% αλληλουχία αμινοξέων και πρακτικά εμφανίζουν τις ίδιες δράσεις. Μαζί, καλούνται συχνά ως *drp* υποοικογένεια, λόγω της ομοιότητας των γονιδίων τους με το γονίδιο *drp*, σημαντικό για την μορφογένεση της *Drosophila melanogaster*. Επίσης, οι ίδιες είναι μαζί με την Bmp6 οι ποιο εύκολα ανιχνεύσιμες Bmps σε καλλιέργειες οστεοβλαστών. Πειράματα σε ποντικούς έχουν δείξει ότι η Bmp4 επιδρά επίσης απευθείας στις οστεοκλάστες μέσω των οστεοβλαστών ή των μεσεγχυματικών κυττάρων, ενισχύοντας την απορρόφηση του οστού [186]. Η οστεοβλαστική διαφοροποίηση μεσεγχυματικών κυττάρων υπό την επίδραση των Bmp2-4 είναι προαπαιτούμενη για την οστεοκλαστογένεση [196], ενώ έχει παρατηρηθεί πειραματικά ότι η οστεόλυση που παρατηρείται σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις επίσης προϋποθέτει την εμπλοκή των οστεοβλαστών [197, 198]. Κατά συνέπεια η φαρμακευτική παρέμβαση στις Bmps και τους ανταγωνιστές τους μπορεί να έχει πλήθος θεραπευτικών εφαρμογών σε παθήσεις και νεοπλασμάτα των οστών. Επιπλέον, η Bmp4 φαίνεται ότι είναι ιδιαίτερα σημαντική κατά την εμβρυϊκή ζωή, αφού πειραματόζωα με μεταλλαγμένο το γονίδιο της δεν επιβιώνουν μετά την 9^η εμβρυϊκή μέρα διότι αναστέλλεται η διαφοροποίηση του μεσοδέρματος [199]. Είναι

σημαντική για την οργανογένεση του νεφρού, του πνεύμονα, του εντέρου, του μαστικού αδένος αλλά και του σκελετού και των δοντιών. Επίσης έχει σημαντικό ρόλο στον σχηματισμό των γνάθων. Είναι το σηματοδοτικό μόριο το οποίο κυρίως καθοδηγεί στον χώρο και στον χρόνο την μορφογένεση των γνάθων [200], ρυθμίζοντας την παραγωγή άλλων πρωτεϊνών, όπως η *Msx1* [201]. Πειραματόζωα με μεταλλαγμένα αλληλόμορφα γονίδια της *Bmp4* δεν ανέπτυξαν καθόλου το οστό της κάτω γνάθου, ή διέθεταν εξαιρετικά υποπλαστικές και χωρίς δόντια γνάθους [200]. Επίσης, είναι σημαντική για τον σχηματισμό του σκελετού του προσώπου και του κρανίου, και φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της σύγκλισης κατά την μέση γραμμή των διαφόρων εμβρυϊκών αποφύσεων του προσώπου [202]. Πράγματι, τα τελευταία χρόνια έχει βρεθεί ότι μια μετάλλαξη στο γονίδιο της *Bmp4* σχετίζεται με περιπτώσεις μη συνδρομικής χειλεοσχιστίας και υπερωιοσχιστίας [203]. Σημαντική είναι η δράση της και στην επούλωση σκληρών ιστών, η οποία μελετάται για τις ενδεχόμενες κλινικές εφαρμογές της [204] και ιδιαίτερα στον χώρο της γναθοχειρουργικής.

Η *Bmp4* έχει βρεθεί ότι έχει αυξημένη έκφραση και ρόλο σε διάφορα κακοήγη νεοπλασμάτα, όπως του μαστού, των ωοθηκών και του προστάτη. Επίσης, έχει μελετηθεί και στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα κεφαλής και καρκίνου, δίνοντας ενδείξεις ότι η υπερέκφρασή της σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα μετάστασης και χειρότερη πρόγνωση [205]. Πολλά οδοντογενή νεοπλασμάτα είναι επίσης θετικά στην *Bmp4*, όπως το οδοντίνωμα, το οδόντωμα και το οδοντογενές ίνωμα [206].

Από τις *Bmps*, οι *Bmp4* και 7 εκφράζονται στο οδοντογενές επιθήλιο και το μεσέγγυμα, ανάλογα και με το στάδιο της οδοντογένεσης, ενώ η *Bmp2* εκφράζεται μόνο στο επιθήλιο [207]. Ιστορικά, η πρωτεΐνη *Bmp4* ήταν το πρώτο σηματοδοτικό μόριο το οποίο η επιστημονική έρευνα έδειξε ότι συμμετέχει στην αλληλεπίδραση οδοντογενούς επιθήλιου – εκτομεσεγγύματος [208].

Κατά την έναρξη της οδοντογένεσης, όταν σχηματίζεται η οδοντική ταινία, η *Bmp4* εκφράζεται στο επιθήλιο και μάλιστα στις ενδιάμεσες θέσεις εκείνες όπου δεν θα σχηματιστεί δόντι. Αντιστοίχως, στις θέσεις όπου το επιθήλιο θα καταδυθεί για να δημιουργήσει οδοντοβλάστημα και κατά συνέπεια δόντι, δεν εκφράζεται η *Bmp4* αλλά ο ανταγωνιστής της *Fgf8* (fibroblast growth factor-8) [209]. Επίσης, στις θέσεις αυτές στο εκτομεσέγγυμα εκφράζεται έντονα η *Pax9* [161]. Συνεπώς, η *Bmp4*, μαζί με τις προαναφερθείσες πρωτεΐνες, έχει ρόλο στην επιλογή των θέσεων όπου θα σχηματιστούν κατά την εμβρυογένεση τα δόντια. Εκτός από αυτό, η *Bmp4* αλληλεπιδρώντας με την *Fgf8* καθορίζει την μορφολογία των δοντιών [210].

Έχειδειχθεί ότι η σηματοδοτική δράση της Bmp4 είναι σημαντική για την μετάβαση από το στάδιο της οδοντικής ταινίας στο στάδιο του οδοντοβλαστήματος, καθώς ελέγχει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων της πρώτης και διατηρεί το οδοντογενές δυναμικό τους [211]. Στην συνέχεια και σε χρόνο ο οποίος συμπίπτει με την μετάθεση του οδοντογενούς δυναμικού από το επιθήλιο στο μεσέγγυμα, η Bmp4 εκφράζεται έντονα στο δεύτερο [212]. Μάλιστα, έχει διαπιστωθεί ότι η ίδια η Bmp4 είναι ένα από τα μοριακά σήματα που ελέγχουν την μετάθεση αυτή [212] και επίσης ότι είναι σημαντική για την εξέλιξη στο επόμενο στάδιο της οδοντογένεσης, το στάδιο του κυπέλλου. Κατά το στάδιο αυτό, η Bmp4 εκφράζεται στο όργανο της αδαμαντίνης [213]. Εκεί επάγει τον σχηματισμό του αδαμαντινοβλαστικού κόμβου (enamel knot), ο οποίος αποτελεί μια περιοχή επιθηλιακών κυττάρων με έντονο πολλαπλασιασμό που αποτελούν σηματοδοτικό κέντρο με ιδιαίτερο ρόλο στον σχηματισμό της οδοντικής μύλης και τον καθορισμό του σχήματός της [214]. Η ίδια η Bmp4, μαζί με την Msx2 και την p21 επάγουν την κυτταρική απόπτωση, ενώ η Fgf4 και άλλα μόρια την αναστέλλουν, προάγοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό [215], οδηγώντας έτσι σε μια ιδιαίτερη ισορροπία η οποία καθορίζει το σχήμα του δοντιού. Τέλος, υπάρχουν πειραματικές ενδείξεις ότι η Bmp4 παίζει ρόλο στον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των οδοντοβλαστών και των αδαμαντινοβλαστών [174] και κατά συνέπεια στον σχηματισμό της οδοντίνης και της αδαμαντίνης.

Εκτός, από την οδοντογένεση, οι Bmps φαίνεται ότι έχουν ρόλο και στην μετέπειτα ζωή του δοντιού. Έχει βρεθεί πειραματικά, ότι οι ινοβλάστες του ενήλικου πολφού εκφράζουν τις πρωτεΐνες Bmp4 και Bmp2, οι οποίες πιθανώς να εμπλέκονται στην αντιδραστική εναπόθεση δευτερογενούς οδοντίνης [216]. Επίσης, έχειδειχθεί ότι οι Bmp2,4 και 7 εκφράζονται στα αδιαφοροποίητα μεσεγγυματικά κύτταρα της περιοδοντικής μεμβράνης και μπορούν να επάγουν σε αυτά οστεοβλαστική διαφοροποίηση ή να αποτρέψουν στην ενασβεστίωσή της [217-219]. Σημαντικός είναι ο ρόλος της Bmp4 και στον σχηματισμό των ριζών των δοντιών, αποτρέποντας την υπερβολική επιμήκυνσή τους και ελέγχοντας των κυτταρικό πολλαπλασιασμό [220].

Η Bmp4 είναι βασικός στόχος της πρωτεΐνης Msx1 στο εκτομεσέγγυμα κατά την οδοντογένεση [177], η οποία έχει βρεθεί από τους Houris και συν. ότι εκφράζεται στα ΚΓΚ [1]. Η έκφραση της Bmp4 στο εκτομεσέγγυμα φαίνεται ότι εξαρτάται πλήρως από την ύπαρξη της Msx1. Ταυτόχρονα, οι Bmp4 ρυθμίζει την έκφραση της Msx1 στο εκτομεσέγγυμα μέσω ενός κύκλου θετικής ανατροφοδότησης [221].

3.4.3 Έκφραση της Bmp4

Η κατανομή και η έκφραση της πρωτεΐνης Bmp4 στο πρόσωπο κατά την εμβρυική ζωή έχει μελετηθεί κυρίως σε ποντίκια και κοτόπουλα. Εντοπίζεται στην κρανιακή νευρική ακρολοφία, σε όλες της αρχέγονες δομές του προσώπου, σε όλα τα οστά του, στο οδοντογενές επιθήλιο και μεσέγγυμα, στην υπερώα και στην γλώσσα [202]. Σημαντική είναι η έκφρασή της ακριβώς στις περιοχές και στα κύτταρα που θα συναντηθούν και θα οδηγήσουν στην συνένωση των διαφόρων αποφύσεων του προσώπου, τα έσω και έξω ρινικά καθώς και τα γναθιαία ογκώματα, την πρωτογενή και δευτερογενή υπερώα [222].

Στον ανθρώπινο σκελετό, η Bmp4 εκφράζεται σε αφθονία από τις οστεοβλάστες [195]. Σε περιοχές αναδιαμόρφωσης του οστού καθώς και κατά την επούλωση καταγμάτων, η Bmp4 εκφράζεται κυρίως στα αρχικά στάδια στα πρόδρομα οστεοποιητικά κύτταρα [223]. Σε μελέτες ανίχνευσης της Bmp4 μετά από πειραματικά προκλητή παραγωγή έκτοπου οστού, έχει βρεθεί ανοσοϊστοχημικά η έκφρασή της έντονα σε χονδροκύτταρα και οστεοβλάστες και με διακυμάνσεις έντασης σε οστεοκλάστες [193].

3.4.4 Msx1, Pax9, Bmp4 και γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα

Οι Houris και συν. έχουν δείξει με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους ότι τα ΚΓΚ των γνάθων εμφανίζουν αυξημένη έκφραση της πρωτεΐνης Msx1 [1]. Έχει δειχθεί ότι το γονίδιο SH3BP2 που εμπλέκεται στην παθογένεια του χερουβισμού, πιθανώς να ευθύνεται και για την παθογένεια των ΚΓΚ. Το γονίδιο αυτό λοιπόν φαίνεται ότι επηρεάζει την έκφραση της πρωτεΐνης Msx1, οδηγώντας σε υπερέκφρασή της και σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των μεσεγγυματικών κυττάρων τα οποία δεν διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες. Έτσι σχηματίζεται ο «κοκκιώδης ιστός» και τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα – οστεοκλάστες των ΚΓΚ [224]. Η Msx1 με τη σειρά της αλληλεπιδρά ισχυρά με την πρωτεΐνη Pax9 καθώς και με την Bmp4 [159]. Η παρουσία των δύο τελευταίων δεν έχει μελετηθεί μέχρι σήμερα σε γιγαντοκυτταρικές βλάβες του στόματος και των γνάθων.

4.1 Συμπεράσματα γενικού μέρους

Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας μπορούν να εξαχθούν τα εξής συμπεράσματα:

1. Τα ΚΓΚ των γνάθων και οι ΓΚΟ των μακρών οστών έχουν ίδια ιστολογική εικόνα αλλά διαφορετικά κλινικά χαρακτηριστικά και βιολογική συμπεριφορά. Ένας πιθανός λόγος είναι ότι οι γνάθοι είναι τα μόνα οδοντοφόρα οστά καθώς και το γεγονός ότι σημαντικό ρόλο στην εμβρυογένεσή τους παίζει το εκτομεσέγχυμα σε αντίθεση με τα υπόλοιπα οστά του σώματος που προέρχονται από το μέσο βλαστικό δέρμα.
2. Οι πρωτεΐνες Pax9, Msx1 και Bmp4 παίζουν σημαντικό ρόλο κατά την οδοντογένεση.
3. Στο εκτομεσέγχυμα κατά την πρώιμη οδοντογένεση η πρωτεΐνη Msx1 δημιουργεί ετεροδιμερή μόρια με την Pax9 που ακολούθως ρυθμίζουν την έκφραση της Bmp4.
4. Η πρωτεΐνη Pax9 αποτελεί δείκτη του εκτομεσεγγύματος. Πιθανή παρουσία της σε γιγαντοκυτταρικές βλάβες των γνάθων αποτελεί ένδειξη της προέλευσης των κυττάρων τους από το οδοντογενές εκτομεσέγχυμα.

4.2 Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της μελέτης είναι η διερεύνηση της παρουσίας των πρωτεϊνών Pax9 και Bmp4 στα κεντρικά και περιφερικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα των γνάθων και κατά συνέπεια της πιθανής εμπλοκής τους στην αιτιοπαθογένεια των όγκων αυτών.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1 Υλικό

Το υλικό της μελέτης αποτέλεσε βιοπτικό υλικό από 30 γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα των γνάθων, 20 εκ των οποίων κεντρικά, τα υπόλοιπα 10 περιφερικά. Η τελική διάγνωση των περιπτώσεων είχε τεθεί με βάση κλινικά, ακτινογραφικά και ιστοπαθολογικά στοιχεία. Το υλικό προήλθε από το Εργαστήριο της Στοματολογίας, του Τομέα Παθολογίας και Χειρουργικής Στόματος, του Οδοντιατρικού Τμήματος του ΕΚΠΑ, και από το Division of Oral Pathology, Department of Diagnostic Sciences, Dental School, University of Minnesota, USA. Συγκεκριμένα, 10 από τα ΚΓΚ και όλα τα ΠΓΚ προέρχονται από το ΕΚΠΑ και τα υπόλοιπα 10 ΚΓΚ από το πανεπιστήμιο της Minnesota. Το υλικό από το Εργαστήριο της Στοματολογίας επιλέχθηκε μετά από μικροσκοπική επαναξιολόγηση 256 γιγαντοκυτταρικών κοκκιωμάτων των γνάθων που είχαν διαγνωστεί κατά την περίοδο 1974-2006, με κριτήριο την ύπαρξη επαρκούς και αντιπροσωπευτικού ιστού.

Τα κλινικά στοιχεία των ασθενών που συμπεριλήφθηκαν στην μελέτη αναζητήθηκαν από τα παραπεμπτικά που συνόδευαν τα ιστοτεμάχια προς ιστοπαθολογική εξέταση.

4.2 Μέθοδος

4.2.1 Ανοσοϊστοχημεία

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη έγινε σε τομές βιοπτικού υλικού μονιμοποιημένου σε υδατικό διάλυμα φορμόλης 10% (v/v) και σκληνωμένου σε Paraplast στους 59°C κατά τη συνήθη ιστολογική τεχνική. Η αφαλάτωση των παρασκευασμάτων των ΚΓΚ που προέρχονταν από το Division of Oral Pathology, Department of Diagnostic Sciences, Dental School, University of Minnesota, USA έγινε με το αφαλατωτικό διάλυμα Surgipath decalcifier II ενώ η αφαλάτωση των παρασκευασμάτων από το Εργαστήριο της Στοματολογίας του ΕΚΠΑ είχε γίνει με 50% διάλυμα φορμικού οξέως και κιτρικού νατρίου. Από κάθε ιστό κόπηκαν με μικροτόμο (LEICA RM2145) σειριακές τομές πάχους 5μm, οι οποίες απλώθηκαν σε υδατόλουτρο (Kunz Instruments HIR-3) ρυθμισμένο στους 59°C και επιστρώθηκαν σε αντικειμενοφόρες πλάκες (X-tra TM, SuperFrost). Οι πλάκες είχαν προηγουμένως καλυφθεί με το μη-πρωτεϊνικό ιστικό συγκολλητικό παράγοντα VECTABOND Reagent (Vector Laboratories Inc, Burlingame, CA, USA, catalogue no.SP-1800), ο οποίος περιορίζει την αποκόλληση των τομών κατά την πρωτεολυτική κατεργασία. Ακολούθως, οι τομές τοποθετήθηκαν σε κλίβανο ξηράς θερμότητας στους 58 °C σε όλη την διάρκεια της νύχτας για να επιτευχθεί η σκλήνωση, καθώς το paraplast γίνεται περισσότερο εύπλαστο και η τομή προσφύεται καλύτερα στο πλακίδιο.

Δύο τομές από κάθε ιστοτεμάχιο, η πρώτη και η τελευταία, βάφτηκαν με αιματοξυλίνη και ηωσίνη για την επιβεβαίωση της αντιπροσωπευτικής ιστολογικής εικόνας των τομών που χρησιμοποιήθηκαν για την ανοσοϊστοχημεία και στις τρεις ενδιάμεσες έγινε η ανοσοϊστοχημική χρώση.

Για την ανοσοϊστοχημική χρώση χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντισώματα:

1. Pax9: rabbit polyclonal, Abbotec (USA), catalogue number 251473
συγκέντρωση 1:50
2. Bmp4: rabbit polyclonal, Lifespan Biosciences (USA), συγκέντρωση
1:50

Η ανοσοϊστοχημική μέθοδος για το πρώτο αντίσωμα (Pax9) περιλάμβανε αποκάλυψη των επιτόπων με EDTA και επώαση του πρωτογενούς αντισώματος για 60' σε αραίωση 1:50. Όλη η διαδικασία της χρώσης έγινε αυτοματοποιημένα με την χρήση μηχανήματος Leica Bond-Max.

Η ανοσοϊστοχημική μέθοδος για το δεύτερο αντίσωμα (Bmp4) είχε ως εξής:

Μπλοκάρισμα ενδογενούς υπεροξειδάσης:

- Εμβάπτιση σε διάλυμα 3% H₂O₂ σε απόλυτη μεθανόλη για 10'
- Ξέπλυμα με απιονισμένο H₂O
- Ξέπλυμα με ρυθμιστικό διάλυμα TBS, pH 7,6 για 5' (2 φορές)

Χρώση:

- Επώαση των τομών με το πρωτοταγές αντίσωμα (BMP4 Polyclonal, σε αραιώση 1:50, LIFESPAN SCIENCES) για 60'
- Ξέπλυμα με ρυθμιστικό διάλυμα TBS, pH 7,6 για 5' (2 φορές)
- Επώαση των τομών με En Vision FLEX/HRP για 30'
- Ξέπλυμα με ρυθμιστικό διάλυμα TBS, pH 7,6 για 5' (2 φορές)
- Προσθήκη διαλύματος DAB (3,3 diaminobenzidine tetrahydrochloride) για 10'
- Ξέπλυμα με νερό βρύσης
- Εμβάπτιση σε αιματοξυλίνη Harris για 2'

Αφυδάτωση των ιστών σε ανιούσα οινόπνευμάτων:

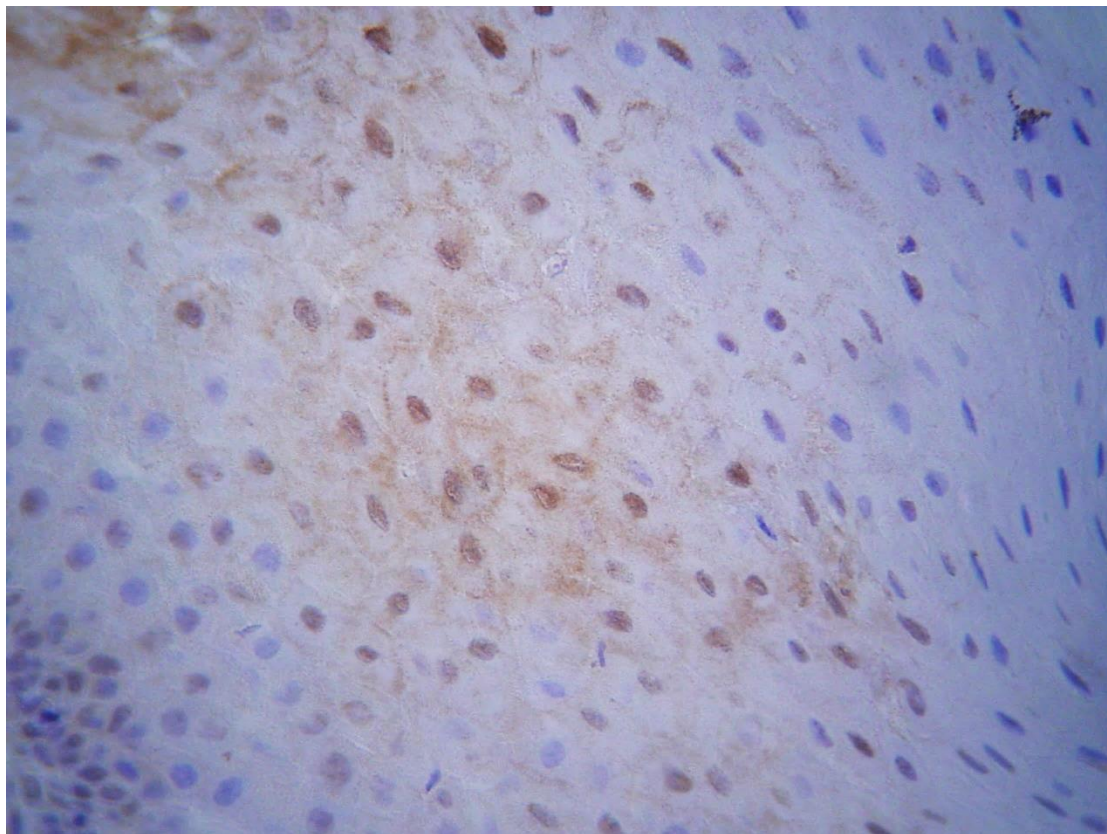
- Διαδοχικά διαλύματα αιθανόλης (ΕΤΟΗ): ΕΤΟΗ 70% για 10', ΕΤΟΗ 80% για 10', ΕΤΟΗ 96% για 10', ΕΤΟΗ 100% για 10' (2 φορές)
- Ξέπλυμα σε ξυλόλη για 10' (2 φορές)

Τέλος, επικάλυψη με DPX επικαλυπτικό υγρό οίκου BDH

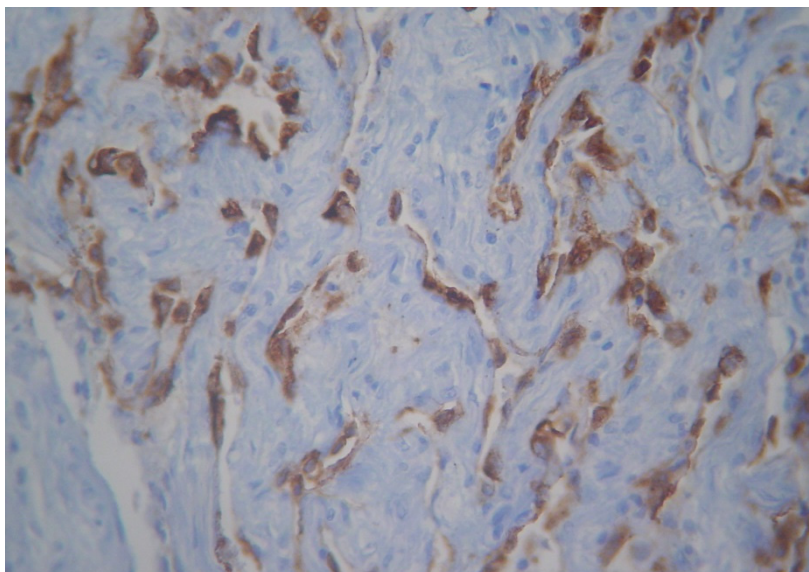
4.2.2 Θετικοί μάρτυρες

Για το αντίσωμα Pax9 χρησιμοποιήθηκαν ως εξωτερικοί μάρτυρες τομές φυσιολογικού ανθρώπινου οισοφάγου (Εικόνα 4.2.2.1). Έχει δειχθεί πειραματικά ότι το καλυπτικό επιθήλιο του οισοφάγου εκφράζει πυρηνικά και κυτταροπλασματικά την πρωτεΐνη Pax9 και μάλιστα ότι χάνει προοδευτικά την έκφραση αυτή κατά την μετάβαση από φυσιολογικό σε προκαρκινική βλάβη και τέλος σε ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα [225].

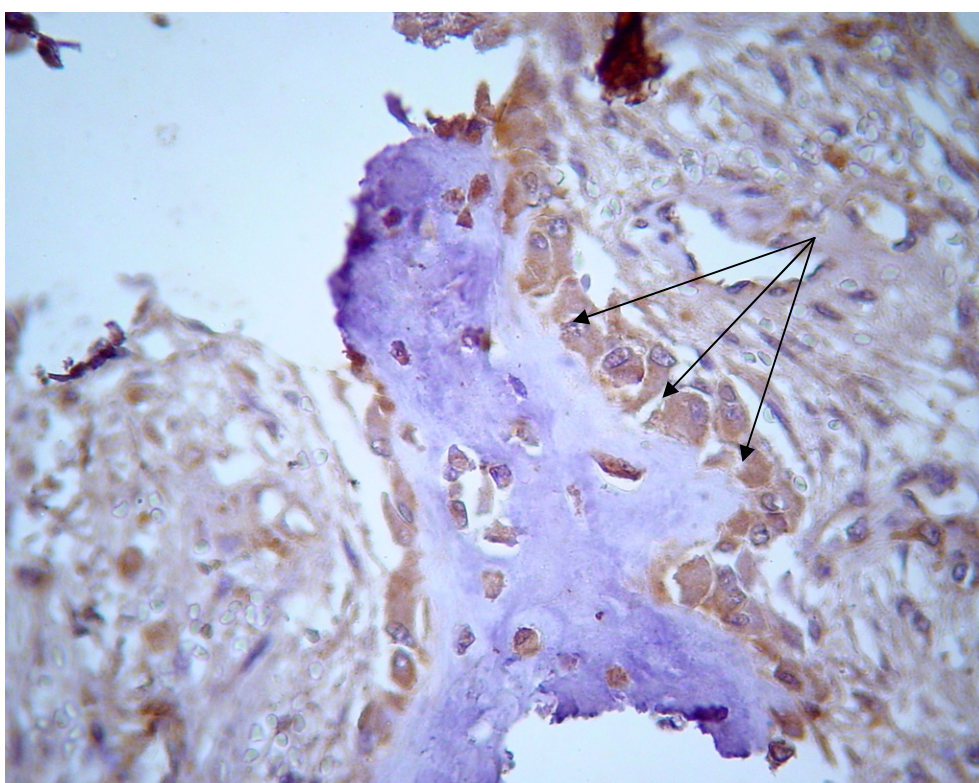
Για το αντίσωμα Bmp4 χρησιμοποιήθηκαν ως εξωτερικοί θετικοί μάρτυρες, τομές ανθρώπινου πνεύμονα (Εικόνα 4.2.2.2). Επίσης, ως εσωτερικοί μάρτυρες οι οστεοβλάστες που ανευρέθηκαν σε θέσεις φυσιολογικών οστεοδοκίδων της περιφέρειας των βλαβών (Εικόνα 4.2.2.3).



Εικ. 4.2.2.1: Φυσιολογικός οισοφάγος, ως θετικός μάρτυρας του αντισώματος Pax9 (αρχική μεγέθυνση x400)



Εικ. 4.2.2.2: Κυτταροπλασματική αντίδραση σε επιθήλιο ανθρώπινου πνεύμονα θετική για την πρωτεΐνη Bmpr4 (αρχική μεγέθυνση x400)



Εικ. 4.2.2.3: Οστεοβλάστες από οστικές δοκίδες της περιφέρειας των βλαβών ως θετικοί εσωτερικοί μάρτυρες για το αντίσωμα Bmpr4 (αρχική μεγέθυνση x400)

4.2.3 Αξιολόγηση ανοσοϊστοχημικής χρώσης

Οι χρώσεις ανοσοϊστοχημείας αξιολογήθηκαν τυφλά, χωρίς γνώση των κλινικών χαρακτηριστικών της κάθε περίπτωσης από τον ιστοπαθολόγο. Σε κάθε παρασκεύασμα αξιολογήθηκε με υποκειμενική, ημι-ποσοτική κλίμακα και για κάθε αντίσωμα, το ποσοστό των χρωσμένων κυττάρων ανά κατηγορία:

1. Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I
2. Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II
3. Μονοπύρρηνα στρογγυλά/ωοειδή κύτταρα
4. Μονοπύρρηνα ατρακτοειδή κύτταρα

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε όσον αφορά στη αξιολόγηση ήταν ίδια με την μέθοδο των Houpris και συν. [1], κάτι που επιλέχθηκε ώστε να επιτραπούν οι συγκρίσεις μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο μελετών, αφού μελετήθηκαν μόρια που σχετίζονται μεταξύ τους. Αξιολογήθηκε λοιπόν μόνο το ποσοστό των θετικών κυττάρων (Πίνακας 4.2.3.1)

Πίνακας 4.2.3.1: Αξιολόγηση ανοσοϊστοχημείας σύμφωνα με το ποσοστό των κυττάρων με θετική αντίδραση

τιμή	ποσοστό
-	0-5%
+	5-50%
++	>50%

Στην εργασία των Houpris και συν., σε όλα τα μελετηθέντα παρασκευάσματα, η ένταση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης ήταν η ίδια (ισχυρή). Στην παρούσα εργασία όμως η ένταση είχε διαφορές μεταξύ των παρασκευασμάτων. Κρίθηκε λοιπόν αναγκαίο να αξιολογηθεί η ανοσοϊστοχημεία περαιτέρω, λαμβάνοντας υπόψη τόσο το ποσοστό των χρωσμένων κυττάρων όσο και την ένταση.

Το ποσοστό των θετικά χρωσμένων κυττάρων του κάθε κυτταρικού πληθυσμού (PP: Percentage of Positive staining cells) υπολογίστηκε σύμφωνα με διαβαθμιζόμενη κλίμακα 3 κατηγοριών (Πίνακας 4.3.2.2).

Η ένταση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης (SI: Staining Intensity) για κάθε κυτταρικό πληθυσμό που μελετήθηκε, υπολογίστηκε σύμφωνα με μια κλίμακα 4 κατηγοριών (Πίνακας 4.3.2.2).

Πίνακας 4.2.3.2: Αξιολόγηση ανοσοϊστοχημείας σύμφωνα με το ποσοστό των κυττάρων με θετική αντίδραση και την ένταση της χρώσης

τιμή	ποσοστό
0	0-5%
1	5-50%
2	>50%

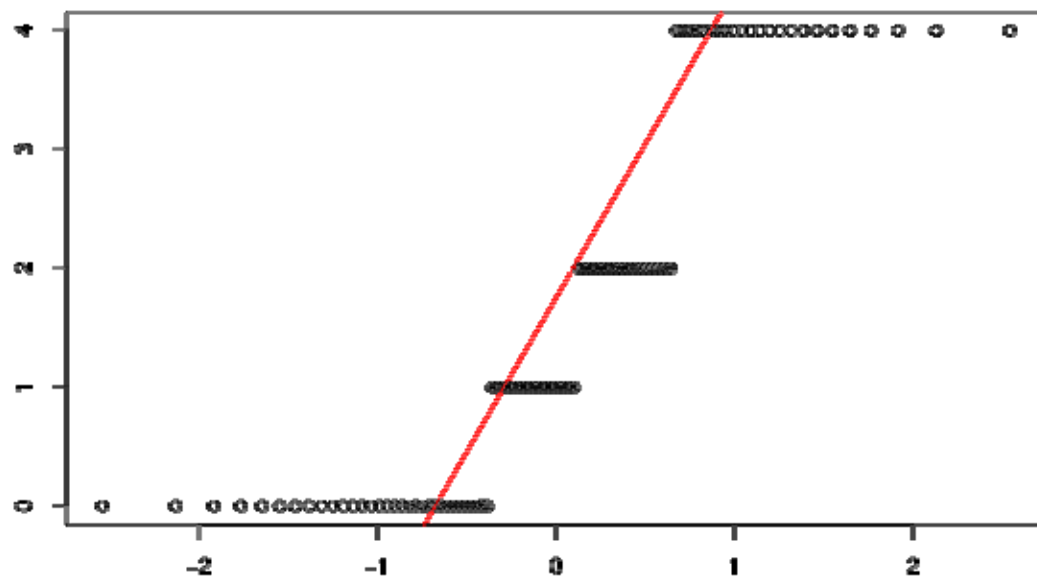
τιμή	ένταση
0	καθόλου χρώση
1	ασθενής χρώση (κίτρινο χρώμα)
2	μέτρια χρώση (καφέ χρώμα)
3	ισχυρή χρώση (μαύρο χρώμα)

Η συνολική ανοσοαντίδραση (**IRS: Immunoreactivity Score**), υπολογίστηκε από το γινόμενο PPxSI. Η μέθοδος αυτή έχει χρησιμοποιηθεί και σε άλλες μελέτες [59, 106, 226]

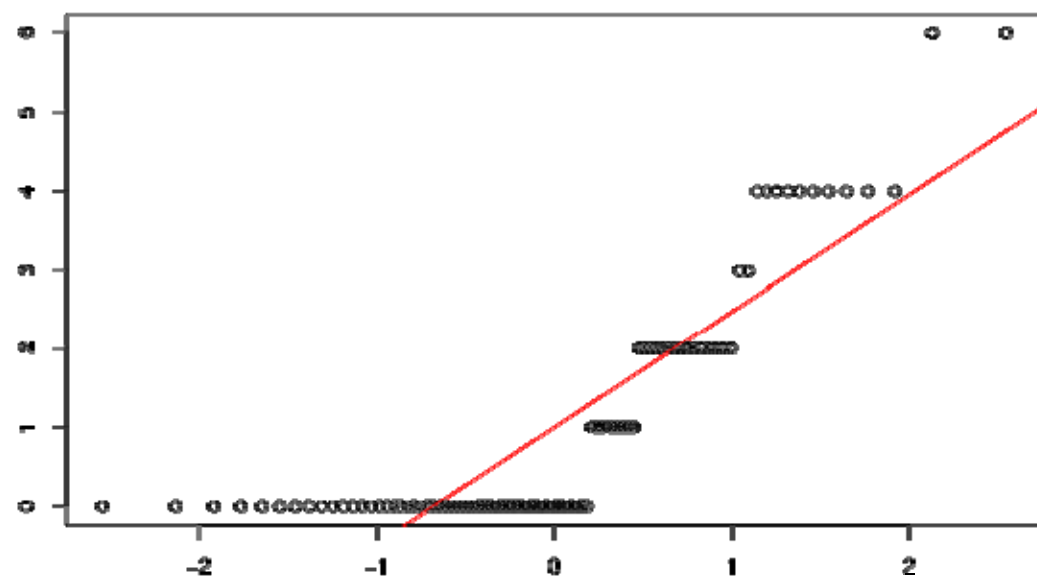
4.2.4 Στατιστική αξιολόγηση

Η παρούσα εργασία είναι κατά κύριο λόγο περιγραφική και σκοπός της είναι η ανίχνευση συγκεκριμένου ανοσοϊστοχημικού προφίλ στους όγκους που μελετήθηκαν. Συνεπώς η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έχει περιορισμένη αξία. Παρόλα αυτά έγινε σύγκριση της έκφρασης των μελετηθέντων πρωτεϊνών στα διάφορα κύτταρα μεταξύ ΚΓΚ και ΠΓΚ ώστε να εξαχθούν κάποια συμπεράσματα σχετικά με πιθανές διαφορές τους αιτιοπαθογενετικά.

Αρχικά έγινε αδρός διαχωρισμός των παρασκευασμάτων σε αρνητικά και θετικά και σύγκριση με την δοκιμασία χ^2 . Κατόπιν επιχειρήθηκε πιο αναλυτική σύγκριση λαμβάνοντας υπόψη την τιμή του IRS. Η κατανομή των τιμών για τις δύο πρωτεΐνες, η οποία ελέγχθηκε με την σχεδίαση διαγραμμάτων Q-Q (γραφήματα 4.2.4.1 – 4.2.4.2), ήταν μη-κανονική. Συνεπώς επιλέχθηκε η μη παραμετρική δοκιμασία Mann-Whitney Test για την σύγκριση μεταξύ ΚΓΚ και ΠΓΚ.



Γράφημα 4.2.4.1: Γράφημα Q-Q για την κατανομή των τιμών της πρωτεΐνης Bmp4 (η κόκκινη γραμμή δείχνει την κανονική αναμενόμενη κατανομή)

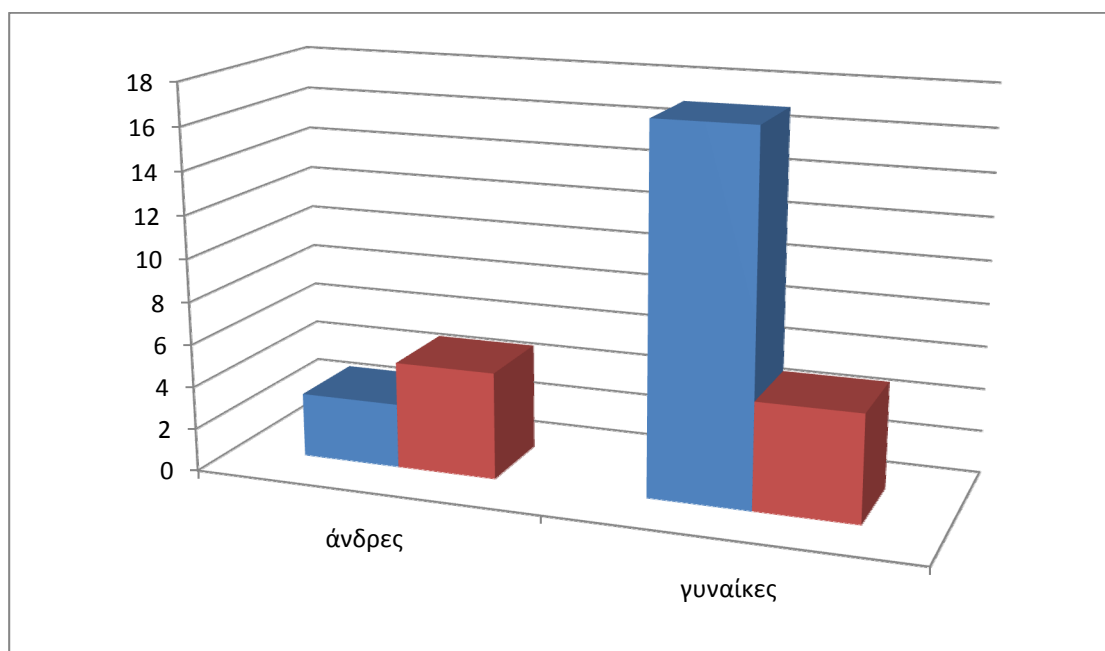


Γράφημα 4.2.4.2: Γράφημα Q-Q για την κατανομή των τιμών της πρωτεΐνης Pax9 (η κόκκινη γραμμή δείχνει την κανονική αναμενόμενη κατανομή)

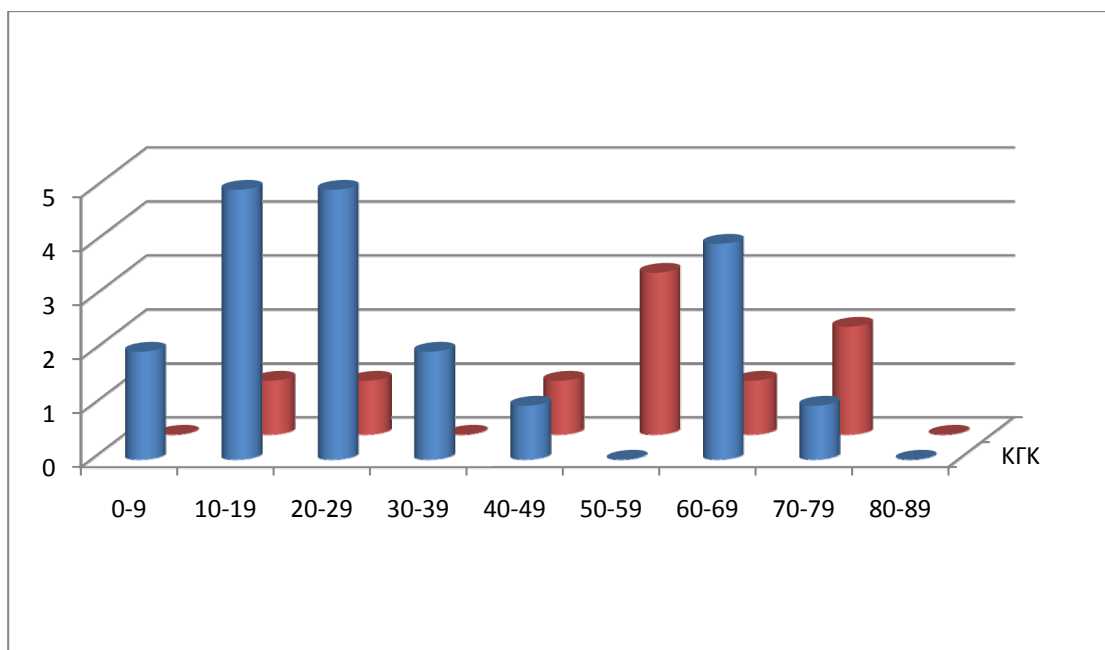
4.3 Αποτελέσματα

4.3.1 Κλινικά χαρακτηριστικά

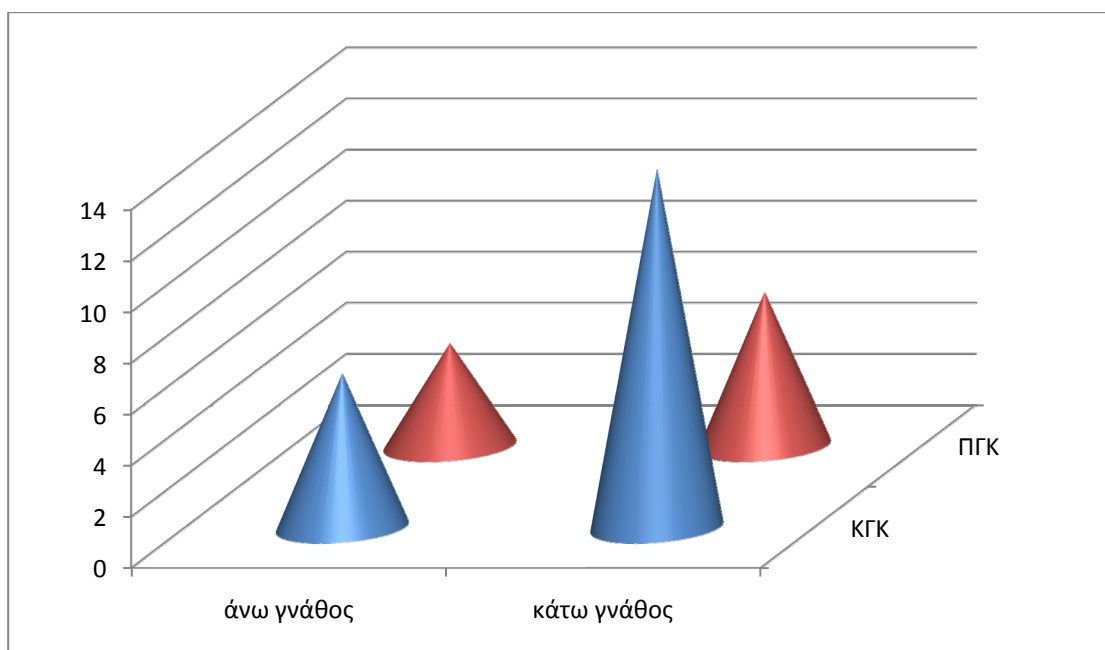
Στο σύνολο 20 ΚΓΚ, τα 3 (15%) αναπτύχθηκαν σε άνδρες, ενώ τα υπόλοιπα 17 (85%) σε γυναίκες (Γράφημα 4.3.1.1). Η ηλικία τους κυμαινόταν από τα 5 έως τα 92 έτη, με μέσο όρο τα 33,15 έτη. Τοπογραφικά, τα 6 (30%) εντοπίζονταν στην άνω γνάθο και τα 14 (70%) στην κάτω γνάθο (Γράφημα 4.3.1.3). Αντιστοίχως, για τα ΠΓΚ, η αναλογία ανδρών γυναικών ήταν ακριβώς 1 προς 1 (Γράφημα 4.3.1.1), το εύρος των ηλικιών από τα 13 έως τα 88 έτη με μέσο όρο τα 54,7 έτη (Γράφημα 4.3.1.2). Τέλος, η αναλογία της άνω προς την κάτω γνάθο ήταν 1,5:1 (Γράφημα 4.3.1.3).



Γράφημα 4.3.1.1: Φύλο ασθενών (ΚΓΚ-μπλε, ΠΓΚ-κόκκινο)



Γράφημα 4.3.1.2: Ηλικία ασθενών (ΚΓΚ-μπλε, ΠΓΚ-κόκκινο)



Γράφημα 4.3.1.3: Εντόπιση των βλαβών

4.3.2 Ιστολογικά χαρακτηριστικά

Η καταγραφή των ιστολογικών χαρακτηριστικών του υλικού της μελέτης έγινε σε τομές 5μm σκηνωμένες σε παραφίνη και χρωσμένες με την συνήθη χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης. Η ιστολογική εικόνα των κεντρικών και περιφερικών κοκκιωμάτων της παρούσας μελέτης ήταν ανάλογη αυτής που περιγράφεται στη βιβλιογραφία και αναφέρεται στο Γενικό Μέρος. Συγκεκριμένα, οι γιγαντοκυτταρικές βλάβες ήταν κυτταροβριθείς (εικόνα 4.3.2.1) και αποτελούντο από δύο βασικούς κύριους κυτταρικούς πληθυσμούς, μονοπύρρηνα κύτταρα και πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα.

Τα μονοπύρρηνα κύτταρα διακρίνονταν σε δύο υποπληθυσμούς:

- Κύτταρα με ελάχιστο κυτταρόπλασμα, ασαφή κυτταροπλασματικά όρια και φυσαλιδώδη, ωοειδή πυρήνα (εικόνα 4.3.2.2). Συνιστούσαν το κύριο μέρος της βλάβης, διατάσσονταν σε πυκνές, διαπλεκόμενες δεσμίδες, και εμφάνιζαν αρκετές μιτώσεις.
- Κύτταρα με ελάχιστο κυτταρόπλασμα, ασαφή κυτταροπλασματικά όρια και πυκνοχρωματικό, ατρακτοειδή πυρήνα (εικόνα 4.3.2.3Εικ.). Διατάσσονταν σε δεσμίδες πάνω σε ινώδες υπόστρωμα και έδιναν την εντύπωση πως «αφορίζουν» τις περιοχές που αποτελούνται από τους άλλους τύπους κυττάρων.

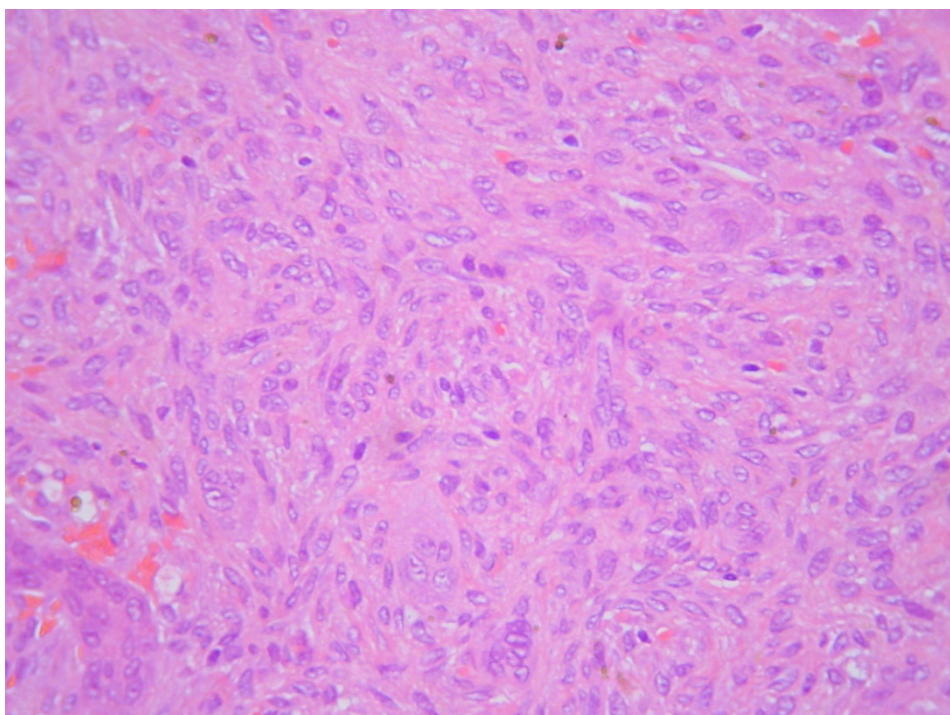
Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα εμφάνιζαν:

- Άφθονο αμφίφιλο ή βασεόφιλο κυτταρόπλασμα και πολυάριθμους πυρήνες, φυσαλιδώδεις με εμφανές πυρήνιο. Τα κύτταρα αυτά αντιστοιχούν σε πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I (εικόνα 4.3.2.4).
- Ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα και πυκνοχρωματικούς πυρήνες. Τα κύτταρα αυτά αντιστοιχούν σε πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II (εικόνα 4.3.2.5).
- Μερικά κύτταρα εμφάνιζαν πυρήνες και των δύο τύπων, σε διαφορετική αναλογία και αντιπροσώπευαν, πιθανώς, μεταβατικές μορφές.

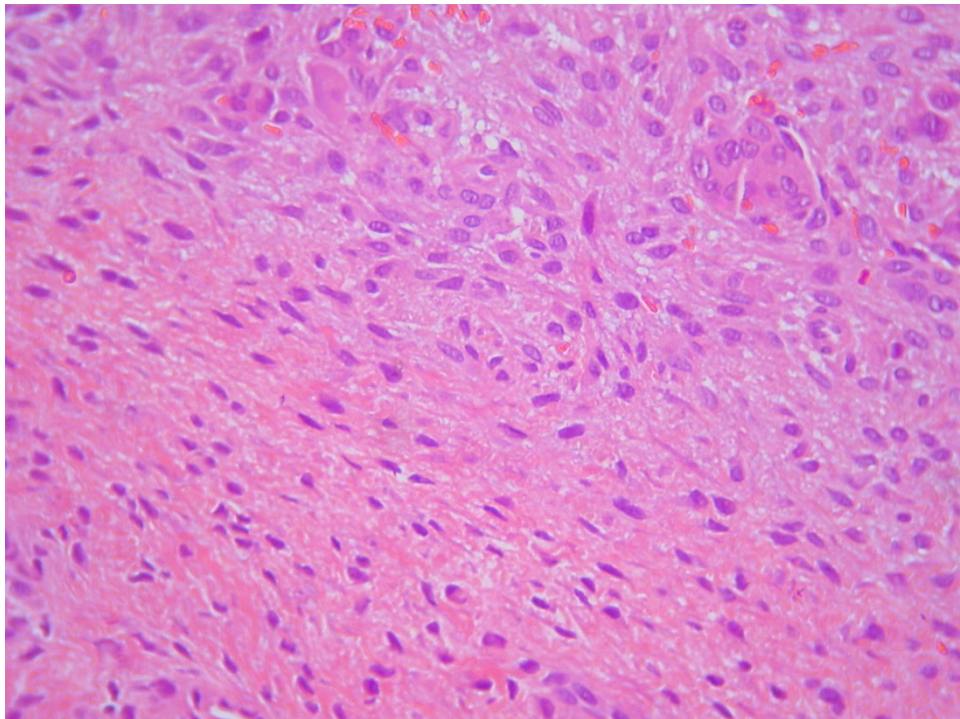
Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα βρίσκονταν συχνά σε γειτνίαση με το τοίχωμα αγγείων, εντός τριχοειδών αγγείων, ή γύρω από εστίες αιμορραγικής διαπότισης.



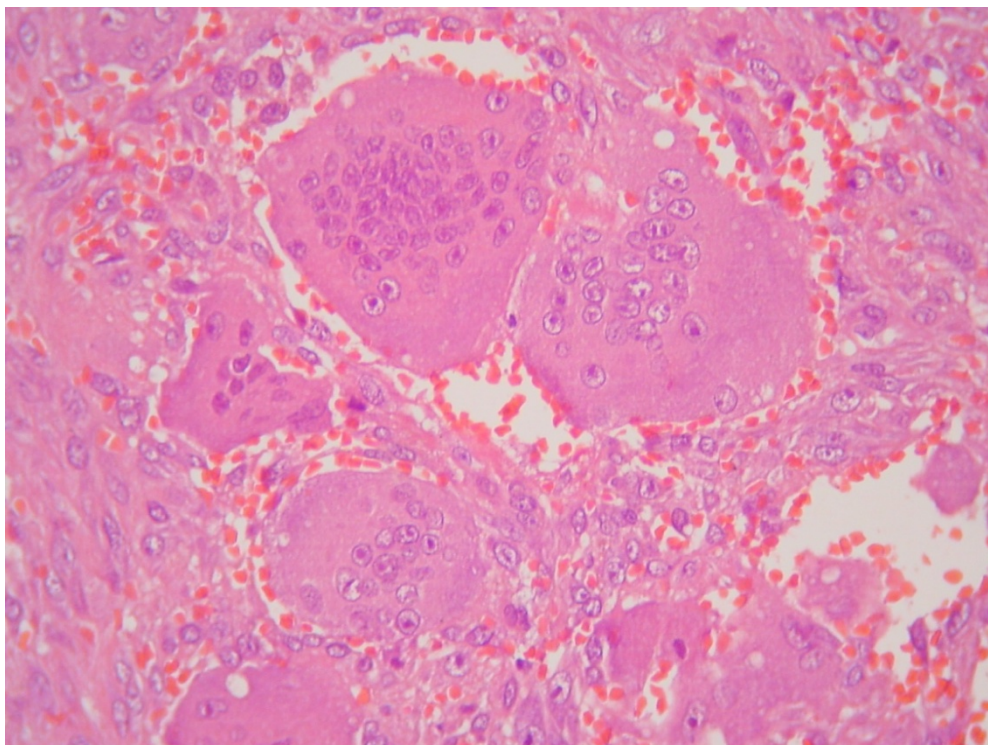
Εικ. 4.3.2.1: Μικροσκοπική εικόνα κεντρικού γιγαντοκυτταρικού κοκκιώματος. (χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης, αρχική μεγέθυνση x1)



Εικ. 4.3.2.2: Κύτταρα με ελάχιστο κυτταρόπλασμα, ασαφή κυτταροπλασματικά όρια και φουσαλιδώδη, ωοειδή πυρήνα (χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης, αρχική μεγέθυνση x400)



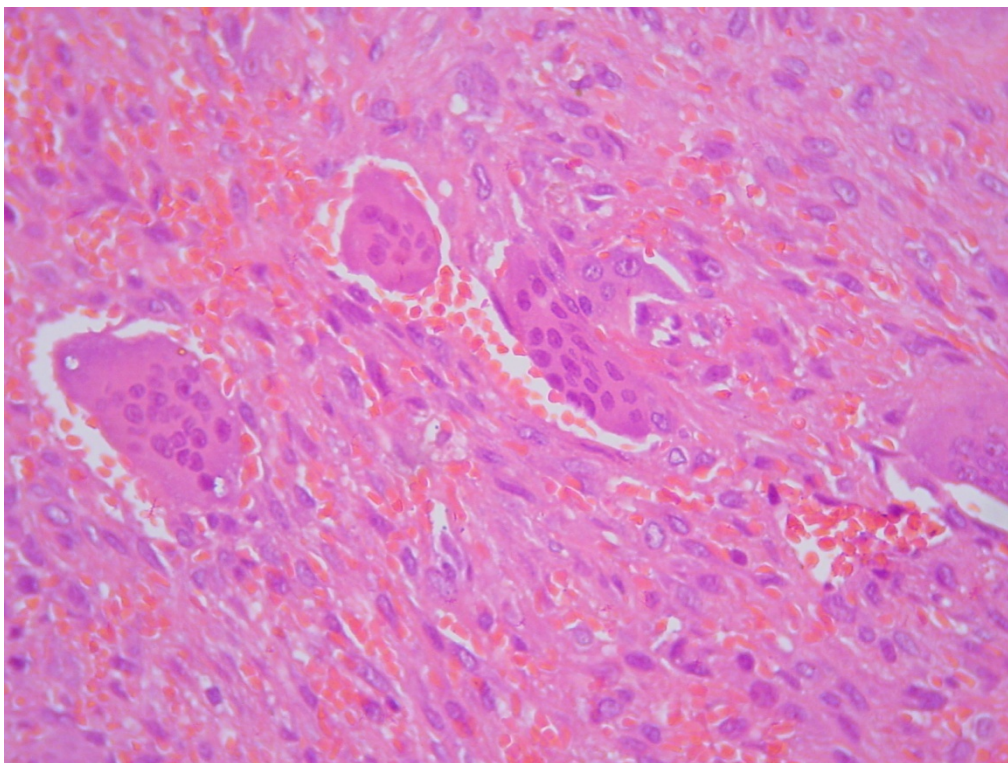
Εικ.4.3.2.3: Κύτταρα με ελάχιστο κυτταρόπλασμα, ασαφή κυτταροπλασματικά όρια και πυκνοχρωματικό, ατρακτοειδή πυρήνα (χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης, αρχική μεγέθυνση x400)



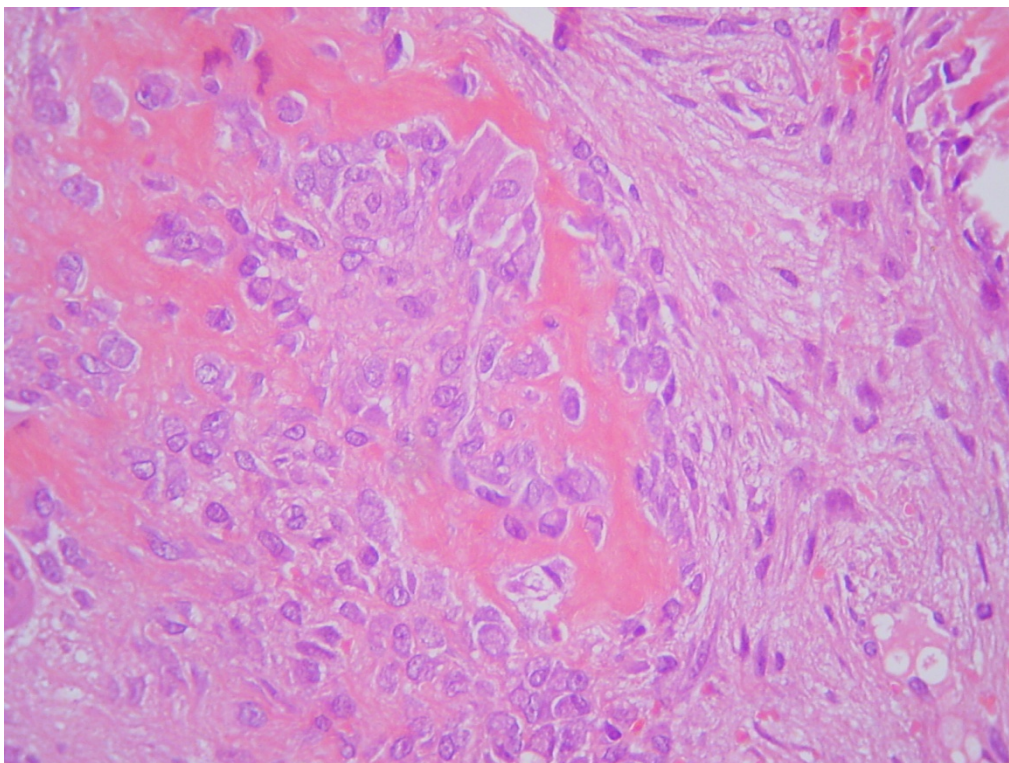
Εικ. 4.3.2.4: Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I με άφθονο αμφίφιλο ή βασεόφιλο κυτταρόπλασμα και πολυάριθμους πυρήνες, φυσαλιδώδεις με εμφανές πυρήνιο (χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης, αρχική μεγέθυνση x400)

Δοκίδες οστού αναγνωρίστηκαν σε 20/20 (100%) ΚΓΚ και 5/10 (50%) ΠΓΚ (εικόνα 4.3.2.6). Στα ΚΓΚ, ωστόσο, όπου το υλικό είχε συνήθως τη μορφή πολλαπλών ιστοτεμαχίων και όχι ενιαίου όγκου, δεν ήταν σαφές αν επρόκειτο για δοκίδες που δημιουργήθηκαν από τη βλάβη ή για υπολειμματικές δοκίδες από την περιφέρεια της βλάβης. Οι περισσότερες δοκίδες αποτελούνταν από άωρο, κυτταροβριθές οστό, με σαφή οστεοβλαστική παρυφή και περιορισμένη οστεοκλαστική δραστηριότητα. Παρατηρήθηκαν, επίσης, εστιακές φλεγμονώδεις διηθήσεις, κυρίως από λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα, εναποθέσεις αιμοσιδηρίνης που ήταν ιδιαίτερα άφθονες στην περιφέρεια του όγκου. Όλες οι βλάβες ήταν ιδιαίτερα αγγειοβριθείς, με μεγάλο αριθμό νεαρών τριχοειδών αγγείων. Η αγγειοβρίθεια ήταν περισσότερο εμφανής στην περιφέρεια των βλαβών, όπου η κυτταροβρίθεια ήταν περιορισμένη.

Τα περιφερικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα καλύπτονταν από κερατινοποιημένο πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο, συνήθως εστιακά ελκωμένο.



Εικ. 4.3.2.5: Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II με αμφίφιλο ή ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα και πυκνοχρωματικούς πυρήνες (χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης, αρχική μεγέθυνση x400)



Εικ. 4.3.2.6: Δοκίδες οστού (χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, αρχική μεγέθυνση x400)

4.3.3 Αναλυτικοί πίνακες αποτελεσμάτων

Αναλυτικά, τα αποτελέσματα των ανοσοϊστοχημικών χρώσεων για τα δύο αντισώματα παρατίθενται στους πίνακες 4.3.3.1 έως 4.3.3.6.

Πίνακας 4.3.3.1: Αξιολόγηση ανοσοϊστοχημικής χρώσης για την Pax9. Αξιολογείται μόνο το ποσοστό χρωσμένων κυττάρων (η ένδειξη «μονοπύρρηνα» αφορά σε στρογγυλά-ωοειδή κύτταρα του στρώματος, τα ατρακτοειδή κύτταρα που εμφανίζονταν στην περιφέρεια των βλαβών και ενίοτε σε δεσμίδες-διαφράγματα μέσα στους όγκους, ήταν αρνητικά)

A.A.	Μονοπύρρηνα	Πολυπύρρηνα τύπου I	Πολυπύρρηνα τύπου II
86-561	+	+	-
91-220	+	+	-
93-757	++	++	-
89-397	+	++	-
88-332	++	++	-
86-157A	-	-	-
89-248	+	++	-
87-261	+	++	-
86-351	+	+	-
90-561	+	+	-
89-606	++	++	-
099-D1656	+	+	-
098-D692	+	++	-
098-D622	+	+	-
098-D3663A	++	+	-
096-D3223D	+	+	-
096-D3223B	+	+	-
094-D2333	++	+	-
01-D953	+	+	-
00-D2966	+	++	-
05-890	-	-	-
90-305	-	-	-
92-2	-	-	-
91-210	-	-	-
92-114	-	-	-
92-334	-	-	-
94-67	-	-	-
92-646	-	-	-
90-487	-	-	-
95-693	-	-	-

Πίνακας 4.3.3.2: Αναλυτική αξιολόγηση έντασης χρώσης και ποσοστού χρωσμένων κυττάρων για την πρωτεΐνη Pax9

Α.Α.	Μονοπύρηννα		Πολυπύρηννα τύπου Ι		Πολυπύρηννα τύπου ΙΙ	
	ένταση	ποσοστό	ένταση	ποσοστό	ένταση	ποσοστό
86-561	2	1	2	1	0	0
91-220	1	1	1	1	0	0
93-757	2	2	2	2	0	0
89-397	2	1	2	2	0	0
88-332	2	2	2	2	0	0
86-157A	0	0	0	0	0	0
89-248	2	1	2	2	0	0
87-261	2	1	1	2	0	0
86-351	2	1	2	1	0	0
90-561	2	1	1	1	0	0
89-606	3	2	3	2	0	0
099-D1656	2	1	2	1	0	0
098-D692	1	1	2	2	0	0
098-D622	1	1	1	1	0	0
098-D3663A	2	2	2	1	0	0
096-D3223D	2	1	2	1	0	0
096-D3223B	3	1	2	1	0	0
094-D2333	2	2	1	1	0	0
01-D953	1	1	1	1	0	0
00-D2966	3	1	2	2	0	0
05-890	0	0	0	0	0	0
90-305	0	0	0	0	0	0
92-2	0	0	0	0	0	0
91-210	0	0	0	0	0	0
92-114	0	0	0	0	0	0
92-334	0	0	0	0	0	0
94-67	0	0	0	0	0	0
92-646	0	0	0	0	0	0
90-487	0	0	0	0	0	0
95-693	0	0	0	0	0	0

Πίνακας 4.3.3.3: Τιμή του γινομένου IRS για την πρωτεΐνη Pax9

A.A.	Μονοπύρηννα	Πολυπύρηννα τύπου I	Πολυπύρηννα τύπου II
86-561	2	2	0
91-220	1	1	0
93-757	4	4	0
89-397	2	4	0
88-332	4	4	0
86-157A	0	0	0
89-248	2	4	0
87-261	2	2	0
86-351	2	2	0
90-561	2	1	0
89-606	6	6	0
099-D1656	2	2	0
098-D692	1	4	0
098-D622	1	1	0
098-D3663A	4	2	0
096-D3223D	2	2	0
096-D3223B	3	2	0
094-D2333	4	1	0
01-D953	1	1	0
00-D2966	3	4	0
05-890	0	0	0
90-305	0	0	0
92-2	0	0	0
91-210	0	0	0
92-114	0	0	0
92-334	0	0	0
94-67	0	0	0
92-646	0	0	0
90-487	0	0	0
95-693	0	0	0

Πίνακας 4.3.3.4: Αξιολόγηση ανοσοϊστοχημικής χρώσης για την Bmp4. Αξιολογείται μόνο το ποσοστό χρωσμένων κυττάρων (η ένδειξη «μονοπύρρηνα» αφορά σε στρογγυλά-ωοειδή κύτταρα του στρώματος, τα ατρακτοειδή κύτταρα που εμφανίζονταν στην περιφέρεια των βλαβών και ενίοτε σε δεσμίδες-διαφράγματα μέσα στους όγκους, ήταν αρνητικά)

A.A.	Μονοπύρρηνα	Πολυπύρρηνα τύπου I	Πολυπύρρηνα τύπου II
86-561	+	++	++
91-220	+	+	+
93-757	+	++	++
89-397	+	+	+
88-332	+	++	-
86-157A	++	-	-
89-248	++	++	-
87-261	+	++	-
86-351	-	-	-
90-561	++	++	++
89-606	-	-	-
099-D1656	++	++	++
098-D692	+	++	++
098-D622	+	++	++
098-D3663A	++	++	+
096-D3223D	+	++	+
096-D3223B	+	++	+
094-D2333	+	++	+
01-D953	+	++	++
00-D2966	+	++	++
05-890	-	-	-
90-305	+	+	-
92-2	+	++	-
91-210	+	-	-
92-114	+	-	-
92-334	+	-	-
94-67	-	-	-
92-646	-	-	-
90-487	+	+	-
95-693	-	-	-

Πίνακας 4.3.3.5: Αναλυτική αξιολόγηση έντασης χρώσης και ποσοστού χρωσμένων κυττάρων για την πρωτεΐνη Bmp4

Α.Α.	Μονοπύρηννα		Πολυπύρηννα τύπου Ι		Πολυπύρηννα τύπου ΙΙ	
	ένταση	ποσοστό	ένταση	ποσοστό	ένταση	ποσοστό
86-561	2	1	2	2	2	2
91-220	1	1	1	1	1	1
93-757	1	1	1	2	2	2
89-397	2	1	2	1	2	1
88-332	2	1	2	2	0	0
86-157A	2	2	0	0	0	0
89-248	2	2	2	2	0	0
87-261	2	1	2	2	0	0
86-351	0	0	0	0	0	0
90-561	2	2	1	2	1	2
89-606	0	0	0	0	0	0
099-D1656	2	2	2	2	2	2
098-D692	2	1	2	2	2	2
098-D622	2	1	2	2	2	2
098-D3663A	2	2	2	2	2	1
096-D3223D	2	1	2	2	1	1
096-D3223B	2	1	2	2	1	1
094-D2333	1	1	2	2	1	1
01-D953	1	1	1	2	1	2
00-D2966	2	1	2	2	2	2
05-890	0	0	0	0	0	0
90-305	1	1	1	1	0	0
92-2	1	1	1	2	0	0
91-210	1	1	0	0	0	0
92-114	1	1	0	0	0	0
92-334	1	1	0	0	0	0
94-67	0	0	0	0	0	0
92-646	0	0	0	0	0	0
90-487	1	1	1	1	0	0
95-693	0	0	0	0	0	0

Πίνακας 4.3.3.6: Τιμή του γινομένου IRS για την πρωτεΐνη Bmp4

A.A.	Μονοπύρηννα	Πολυπύρηννα τύπου I	Πολυπύρηννα τύπου II
86-561	2	4	4
91-220	1	1	1
93-757	1	2	4
89-397	2	2	2
88-332	2	4	0
86-157A	4	0	0
89-248	4	4	0
87-261	2	4	0
86-351	0	0	0
90-561	4	2	2
89-606	0	0	0
099-D1656	4	4	4
098-D692	2	4	4
098-D622	2	4	4
098-D3663A	4	4	2
096-D3223D	2	4	1
096-D3223B	2	4	1
094-D2333	1	4	1
01-D953	1	2	2
00-D2966	2	4	4
05-890	0	0	0
90-305	1	1	0
92-2	1	2	0
91-210	1	0	0
92-114	1	0	0
92-334	1	0	0
94-67	0	0	0
92-646	0	0	0
90-487	1	1	0
95-693	0	0	0

4.3.4 ‘Έκφραση της Pax9 στα κεντρικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα

Στον πίνακα 4.3.4.1 φαίνονται κατ’ απόλυτο αριθμό οι περιπτώσεις θετικής και μη χρώσης για τα ΚΓΚ. Τα μελετώμενα κύτταρα είναι τα στρογγυλά/ωοειδή μονοπύρρηνα του στρώματος καθώς και τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I και II. Ατρακτοειδή κύτταρα της περιφέρειας και τυχόν ινωδών διαφραγμάτων στην μάζα των όγκων, καθώς και λοιπά κύτταρα (φλεγμονώδη, κύτταρα αίματος, κτλ.), ήταν αρνητικά και δεν συμπεριλαμβάνονται στους πίνακες. Τα επί τις % ποσοστά θετικών και αρνητικών περιπτώσεων για την κάθε κατηγορία φαίνονται στο γράφημα 4.3.3.1.

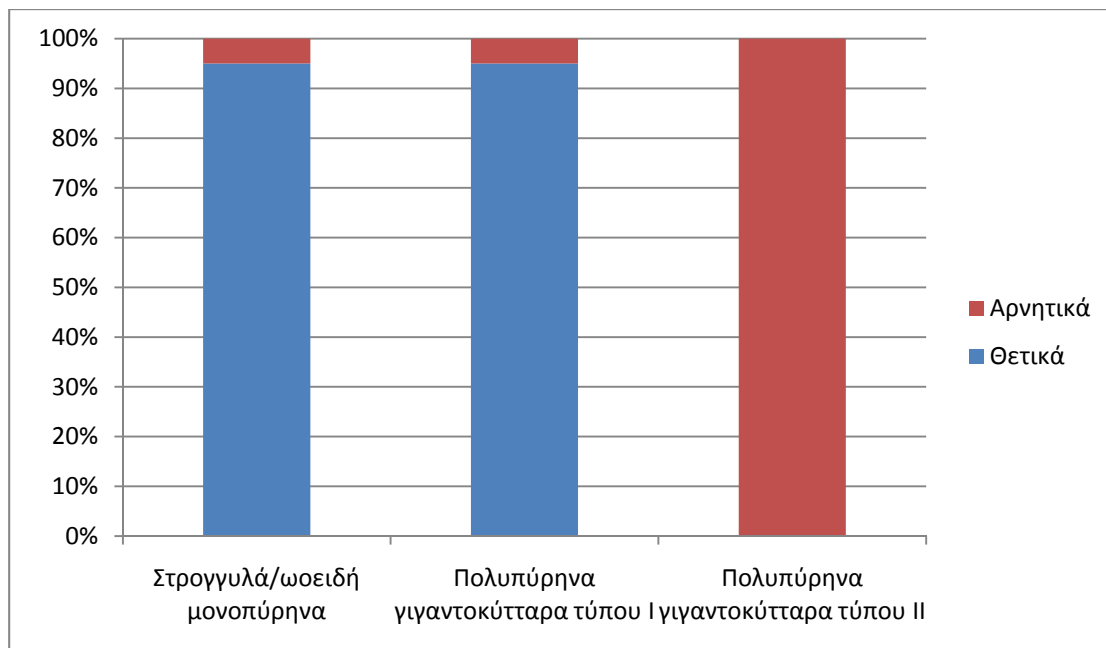
Τα στρογγυλά/ωοειδή μονοπύρρηνα του στρώματος εμφάνισαν θετική κυτταροπλασματική χρώση σε ποσοστό έως 50% του συνολικού αριθμού των κυττάρων κατά κύριο λόγο (15/20 περιπτώσεις) (εικόνα 4.3.4.1). Σε 4 περιπτώσεις το ποσοστό ήταν μεγαλύτερο του 50% και μόλις 1 ήταν πλήρως αρνητική. Η τελευταία ήταν αρνητική για κάθε κύτταρο. Γενικά παρατηρήθηκε ότι συχνά τα θετικά χρωσμένα μονοπύρρηνα συγκεντρώνονταν σε ομάδες προσομοιάζουσες σε εστίες ή φωλιές (εικόνα 4.3.4.2). Η ένταση της χρώσης ήταν κατά κύριο λόγο ασθενής ή μέτρια (16/20 περιπτώσεις) με 3 μόνο περιπτώσεις να εμφανίζουν έντονη χρώση κυττάρων.

Θετική χρώση παρουσίασαν γενικά και τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I (εικόνα 4.3.4.3). Το ποσοστό θετικά χρωσμένων κυττάρων σε 11 περιπτώσεις ήταν μεγαλύτερο του 50%, σε 8 περιπτώσεις μικρότερο του 50%. Κυρίως παρατηρήθηκε μέτρια και ισχυρή ένταση χρώσης (13/20 περιπτώσεις).

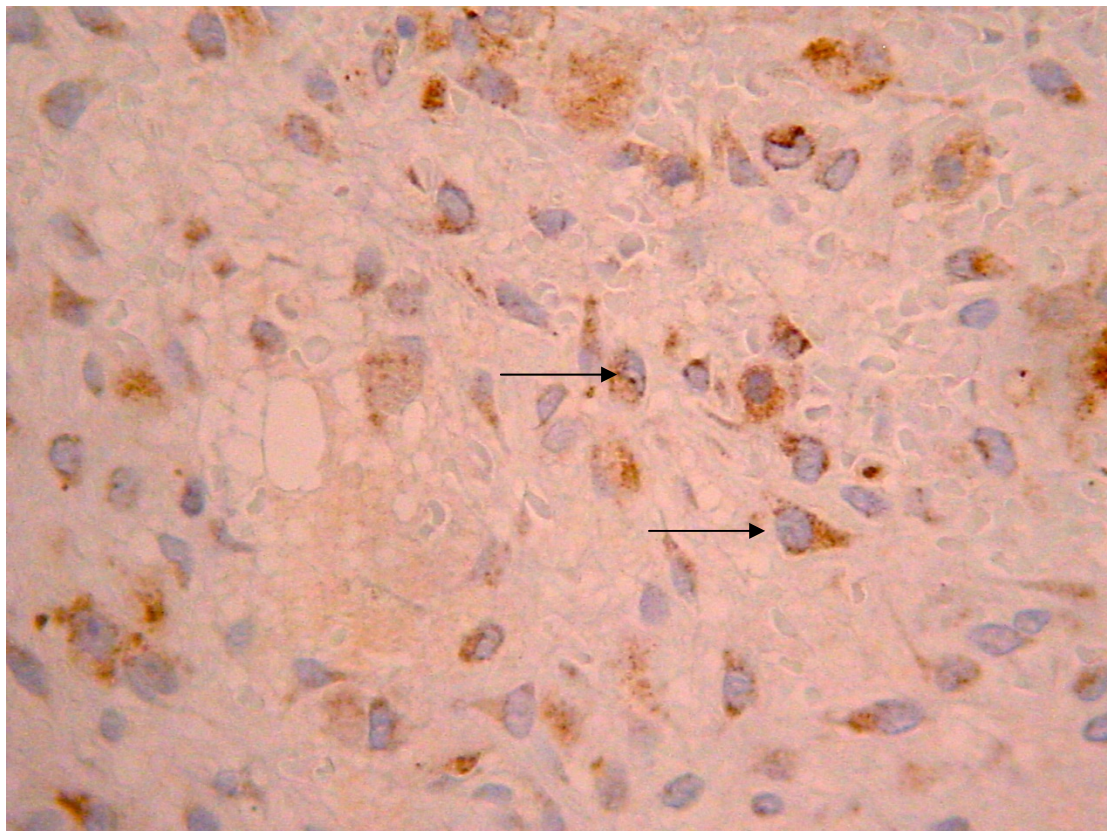
Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II, όπου αυτά ανευρίσκονταν, ήταν αρνητικά για την χρώση με Pax9 (εικόνα 4.3.4.4).

Πίνακας 4.3.4.1: Αριθμός θετικά και αρνητικά χρωσμένων με αντίσωμα έναντι της Pax9 περιπτώσεων για τους 3 πληθυσμούς κυττάρων που μελετήθηκαν στα ΚΓΚ.

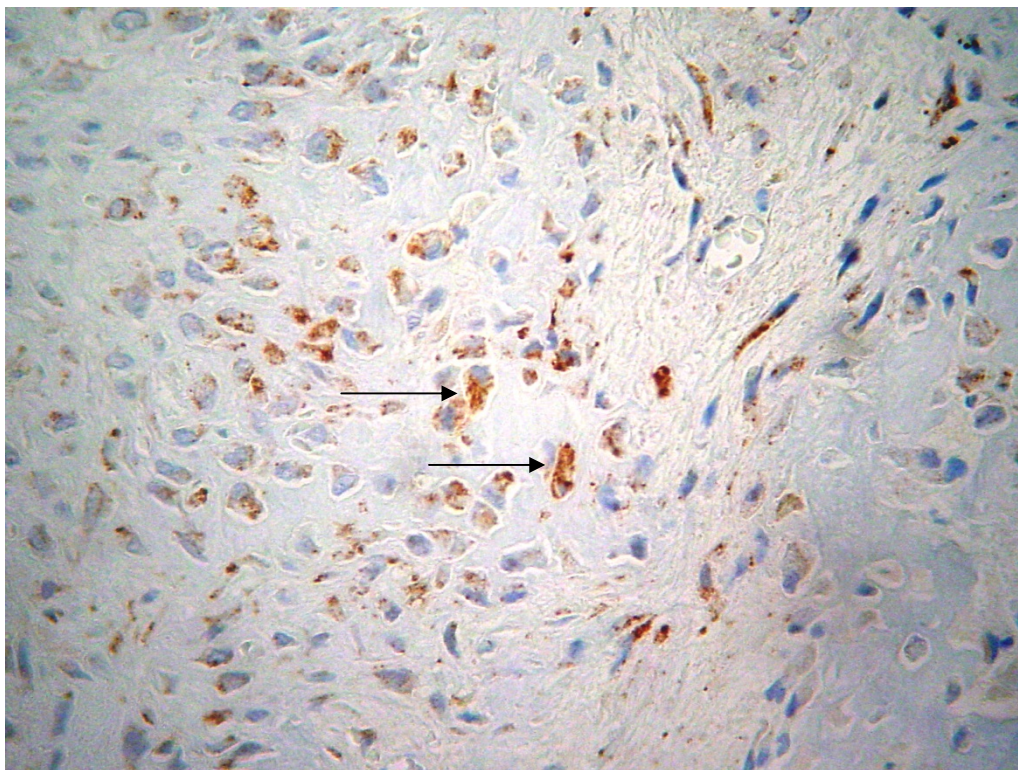
Pax9	Θετικές περιπτώσεις	Αρνητικές περιπτώσεις
Στρογγυλά/ωοειδή μονοπύρρηνα	19	1
Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I	17	3
Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II	0	20



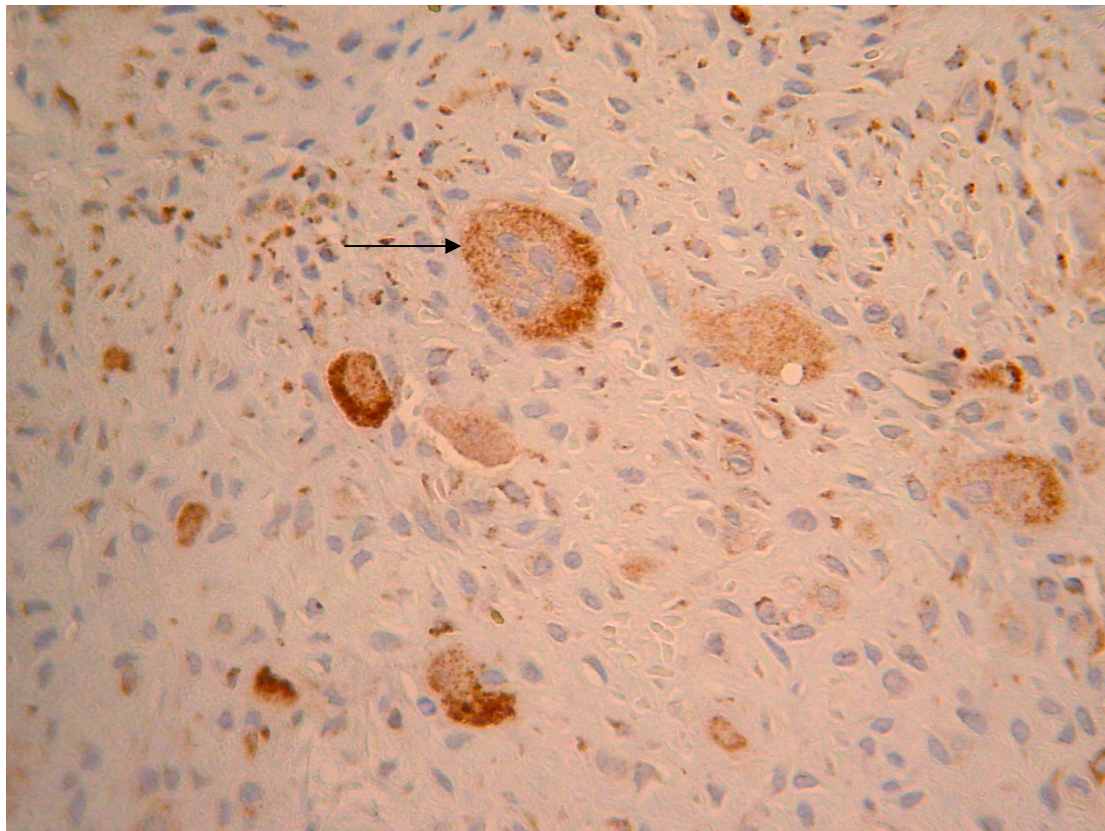
Γράφημα 4.3.4.1: Επί τις % ποσοστό θετικών περιπτώσεων στην Pax9 για 3 διαφορετικούς τύπους κυττάρων που μελετήθηκαν στα ΚΓΚ.



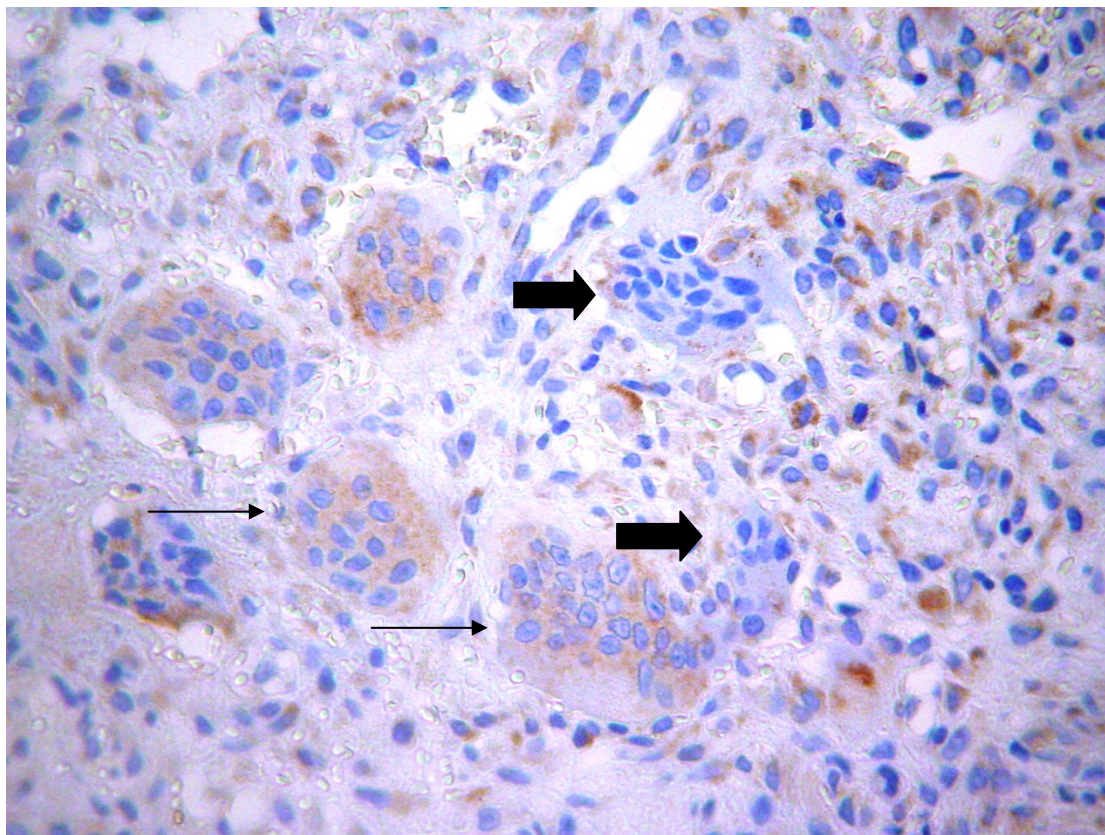
Εικόνα 4.3.4.1: Στικτή κυταροπλασματική χρώση των μονοπύρρηνων κυττάρων για την πρωτεΐνη Pax9 (βέλη) (αρχική μεγέθυνση x400)



Εικόνα 4.3.4.2: Εστία θετικά χρωσμένων στρογγυλών/ωοειδών μονοκυττάρων του στρώματος (βέλη) (αρχική μεγέθυνση x200)



Εικόνα 4.3.4.3: Στικτική κυτταροπλασματική χρώση πολυπύρηνου γιγαντοκυττάρου τύπου I (βέλος) για την πρωτεΐνη Pax9 (αρχική μεγέθυνση x400)



Εικόνα 4.3.4.4: Διακρίνονται πολυπύρηννα γιγαντοκύτταρα τύπου II αρνητικά ή ασθενώς θετικά στην Pax9 (μεγάλα βέλη), μεταξύ θετικών πολυπύρηνων γιγαντοκυττάρων τύπου I (βέλη) (αρχική μεγέθυνση x400)

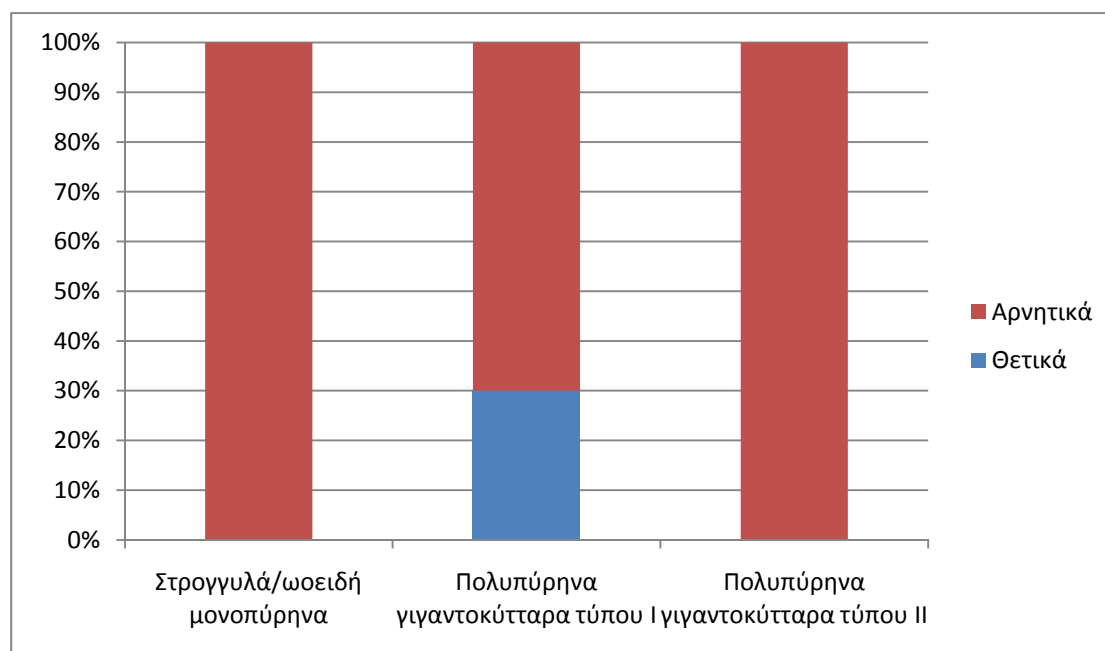
4.3.5 Έκφραση της Pax9 στα περιφερικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα

Τα 10 ΠΓΚ που μελετήθηκαν ήταν γενικά αρνητικά, εκτός μόνο από μια ασθενή χρώση σε λίγα πολυπύρηννα γιγαντοκύτταρα τύπου I σε 3 περιπτώσεις (πίνακας 4.3.5.1, διάγραμμα 4.3.5.1). Η σπάνια αυτή αντίδραση μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα.

Στατιστικές δοκιμασίες για την σύγκριση της έκφρασης της πρωτεΐνης Pax9 μεταξύ ΚΓΚ και ΠΓΚ δεν θεωρήθηκε αναγκαία καθώς λόγω της σχεδόν καθολικής αρνητικότητας των ΠΓΚ είναι εμφανής η διαφοράς μεταξύ των δύο οντοτήτων.

Πίνακας 4.3.5.1: Αριθμός θετικά και αρνητικά χρωσμένων με αντίσωμα έναντι της Pax9 περιπτώσεων για τους 3 πληθυσμούς κυττάρων που μελετήθηκαν στα ΠΓΚ.

Pax9	Θετικές περιπτώσεις	Αρνητικές περιπτώσεις
Στρογγυλά/ωοειδή μονοπύρρηνα	0	10
Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I	3	7
Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II	0	10



Γράφημα 4.3.5.1: Επί τις % ποσοστό θετικών περιπτώσεων στην Pax9 για 3 διαφορετικούς τύπους κυττάρων που μελετήθηκαν στα ΠΓΚ.

4.3.6 Έκφραση της Bmp4 στα κεντρικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα

Ως θετική χρώση θεωρήθηκε η χρώση στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων, ομοιογενής ή στικτή [227]. Κατά την αξιολόγηση των πλακιδίων αναζητήθηκε θετικός εσωτερικός μάρτυρας. Πράγματι, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις (εκτός της 86-351), παρατηρήθηκε κυτταροπλασματική χρώση των οστεοβλαστών που βρίσκονται στην παρυφή οστεοδοκίδων περιφερικά των βλαβών. Επίσης παρατηρήθηκε χρώση των οστεοκυττάρων που βρίσκονταν εντός των οστικών δοκίδων, γεγονός που δικαιολογείται από τον ρόλο τους στην μετανάστευση και ενεργοποίηση, κυρίως των οστεοκλαστών [228].

Είναι γνωστό ότι η Bmp4 εκφράζεται ισχυρά στο φυσιολογικό καλυπτικό επιθήλιο του στόματος [227]. Όπως αναμενόταν, στα παρασκευάσματα όπου υπήρχε στοματικό επιθήλιο υπήρχε κοκκώδης κυτταροπλασματική χρώση (εικόνα 4.3.6.1).

Στον πίνακα 4.3.6.1 φαίνονται κατ' απόλυτο αριθμό οι περιπτώσεις θετικής και μη χρώσης για τα ΚΓΚ. Τα μελετώμενα κύτταρα είναι τα στρογγυλά/ωοειδή μονοπύρρηνα του στρώματος καθώς και τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I και II. Ατρακτοειδή κύτταρα της περιφέρειας και τυχόν ινωδών διαφραγμάτων στην μάζα των όγκων, καθώς και λοιπά κύτταρα (φλεγμονώδη, κύτταρα αίματος, κτλ.), ήταν αρνητικά και δεν συμπεριλαμβάνονται στους πίνακες. Τα επί τις % ποσοστά θετικών και αρνητικών περιπτώσεων φαίνονται στο γράφημα 4.3.6.1.

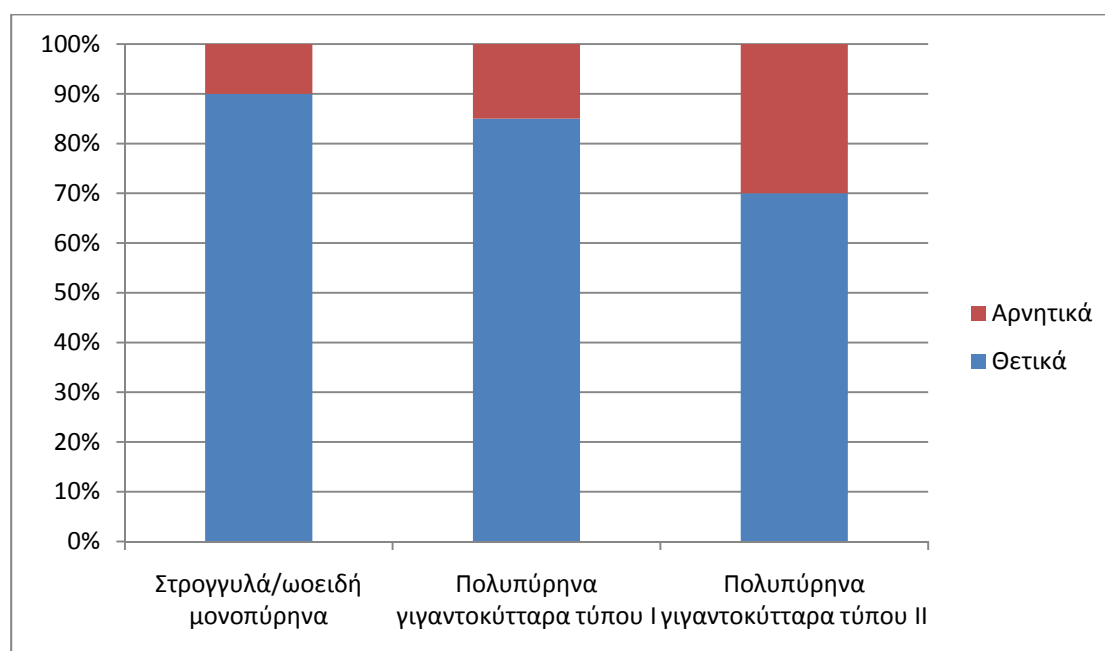
Τα στρογγυλά/ωοειδή κύτταρα του στρώματος ήταν θετικά σε ποσοστό μικρότερο του 50% κατά κανόνα (13/20 περιπτώσεις). Σε 5 περιπτώσεις το ποσοστό ήταν μεγαλύτερο του 50% του αριθμού των κυττάρων και σε 2 ήταν μηδενικό. Όσο αφορά στην ένταση, το σύνολο των θετικών περιπτώσεων (18/20) είχαν βαφτεί ασθενώς ή μέτρια και ποτέ έντονα.

Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I βάφτηκαν κυρίως σε ποσοστό μεγαλύτερο του 50% των κυττάρων (15/20 περιπτώσεις). Η ένταση χρώσης και σε αυτά ήταν πάντα ασθενής ή μέτρια, ενώ μόνο 3 περιπτώσεις ήταν πλήρως αρνητικές.

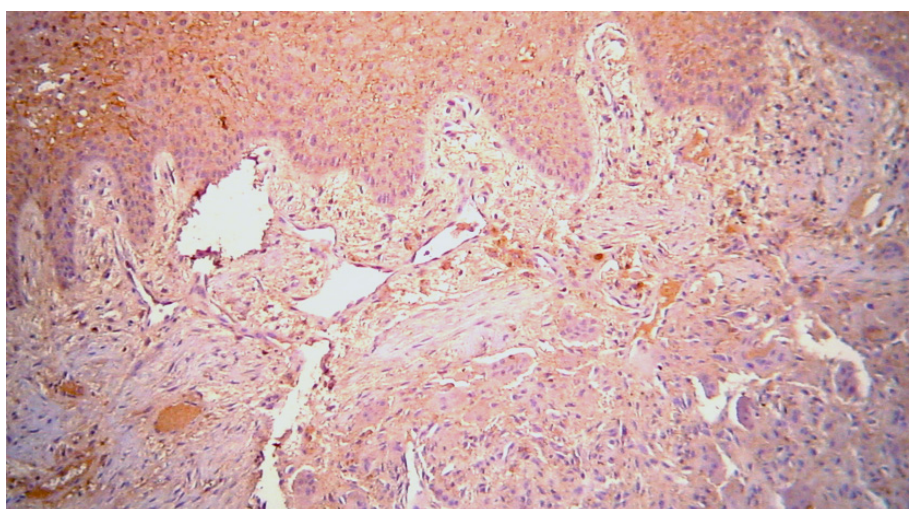
Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II ήταν θετικά σε λίγο μικρότερο ποσοστό σε σχέση με τα τύπου I (14/20 περιπτώσεις). Το ποσοστό των θετικών κυττάρων ήταν μεγαλύτερο του 50% σε 8 περιπτώσεις, ενώ η ένταση πάντοτε ασθενής ή μέτρια.

Πίνακας 4.3.6.1: Αριθμός θετικά και αρνητικά χρωσμένων με αντίσωμα έναντι της BMP4 περιπτώσεων για τους 3 πληθυσμούς κυττάρων που μελετήθηκαν στα ΚΓΚ.

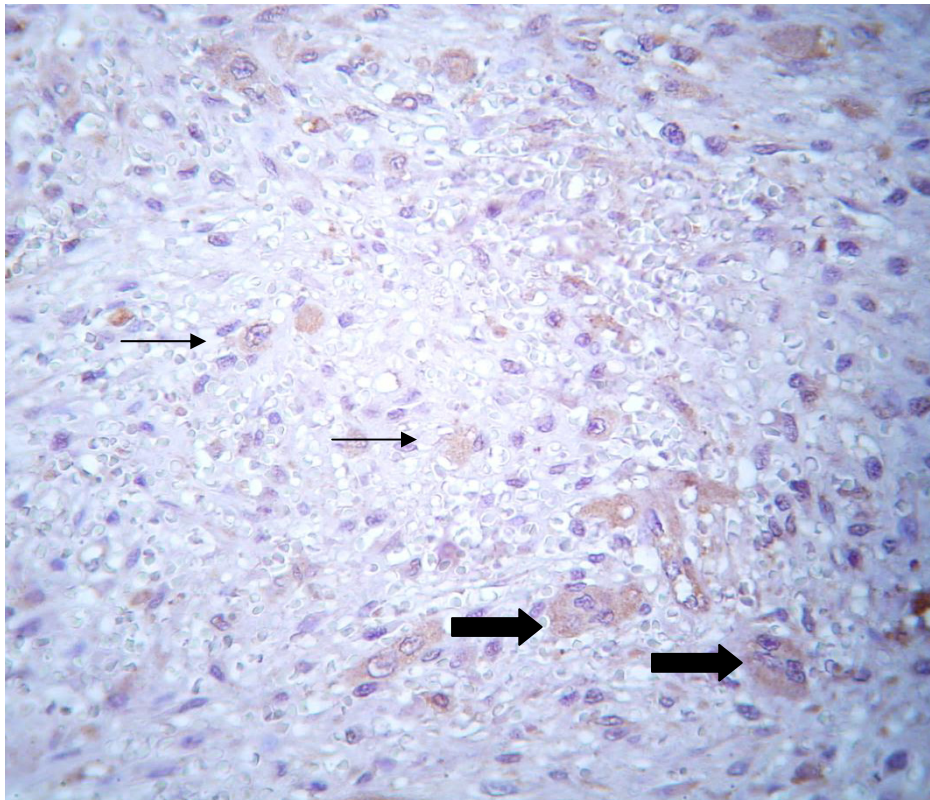
BMP4	Θετικές περιπτώσεις	Αρνητικές περιπτώσεις
Στρογγυλά/ωοειδή μονοπύρρηνα	18	2
Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I	17	3
Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II	14	6



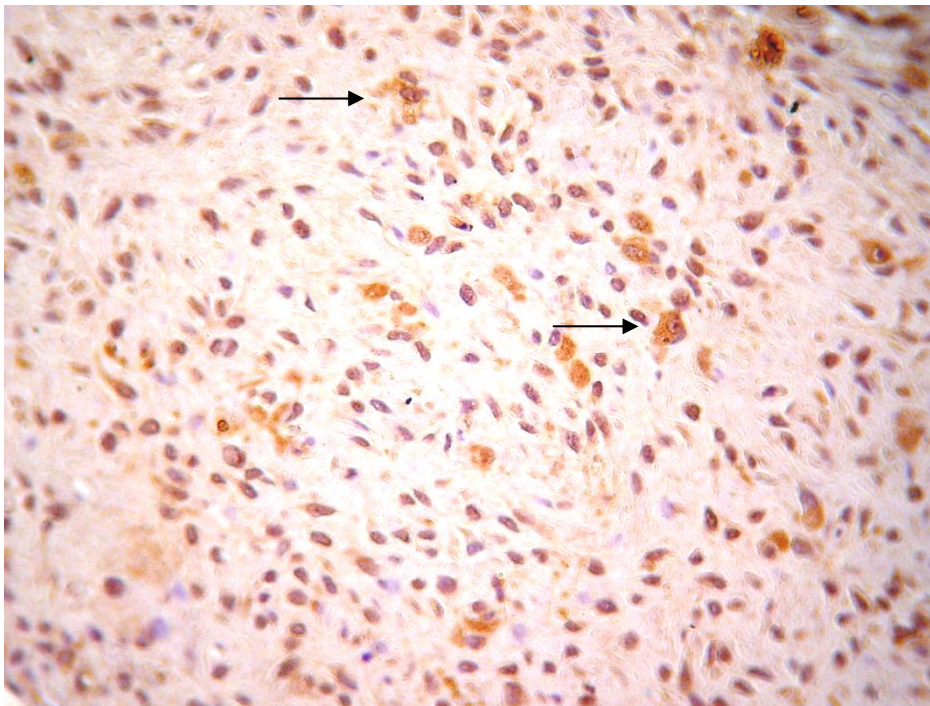
Γράφημα 4.3.6.1: Επί τις % ποσοστό θετικών περιπτώσεων για 3 διαφορετικούς τύπους κυττάρων που μελετήθηκαν στα ΚΓΚ.



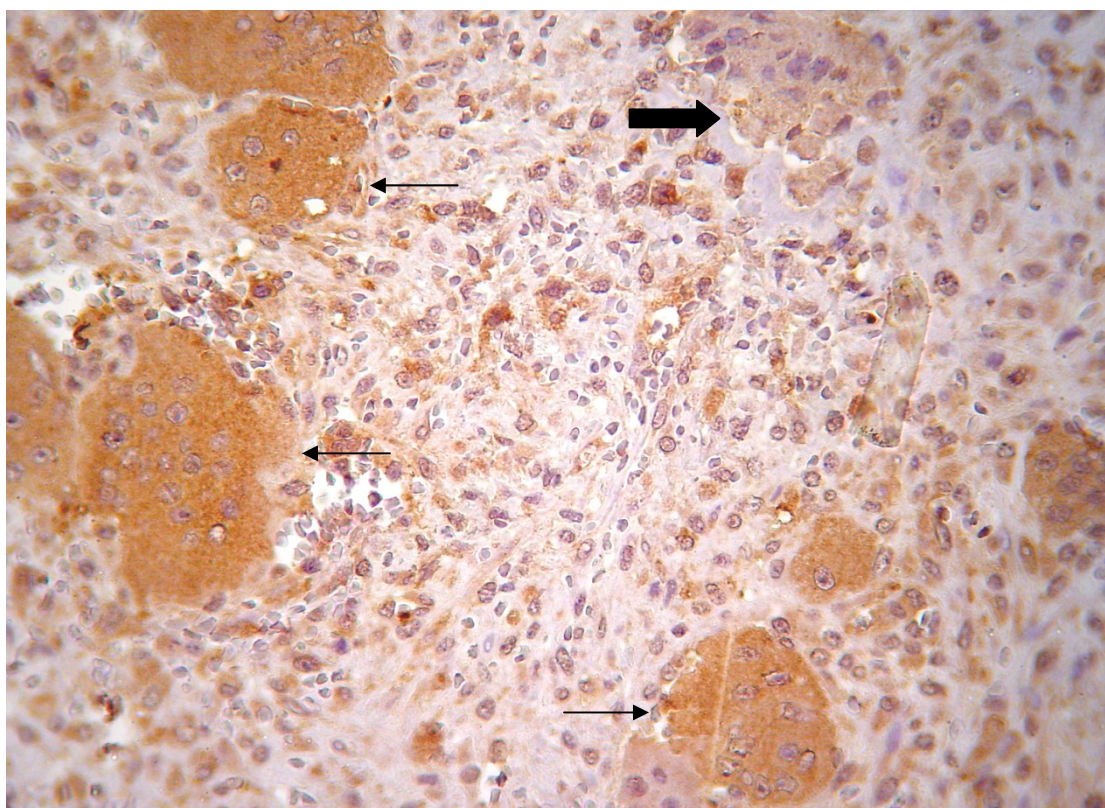
Εικόνα 4.3.6.1: Έκφραση της Bmp4 στο καλυπτικό επιθήλιο του στοματικού βλεννογόνου (αρχική μεγέθυνση x25)



Εικόνα 4.3.6.2: Κυτταροπλασματική χρώση για την πρωτεΐνη *Bmp4* σε μονοπύρρηνα του στρώματος (βέλη) καθώς και σε πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα (μεγάλα βέλη) (αρχική μεγέθυνση x400)



Εικόνα 4.3.6.3: Χρώση για την *Bmp4* σε στρογγυλά/ωοειδή μονοπύρρηνα κύτταρα του στρώματος (βέλη) (αρχική μεγέθυνση x400)



Εικόνα 4.3.6.4: Έντονη κυτταροπλασματική χρώση πολυπύρηνων γιγαντοκυττάρων τύπου I (βέλη), καθώς και στρογγυλών/ωοειδών μονοκυττάρων του στρώματος (μεγάλο βέλος). Παρατηρείται επίσης ένα γιγαντοκύτταρο τύπου II το οποίο είναι αρνητικό (μπλε βέλος) (αρχική μεγέθυνση x400)

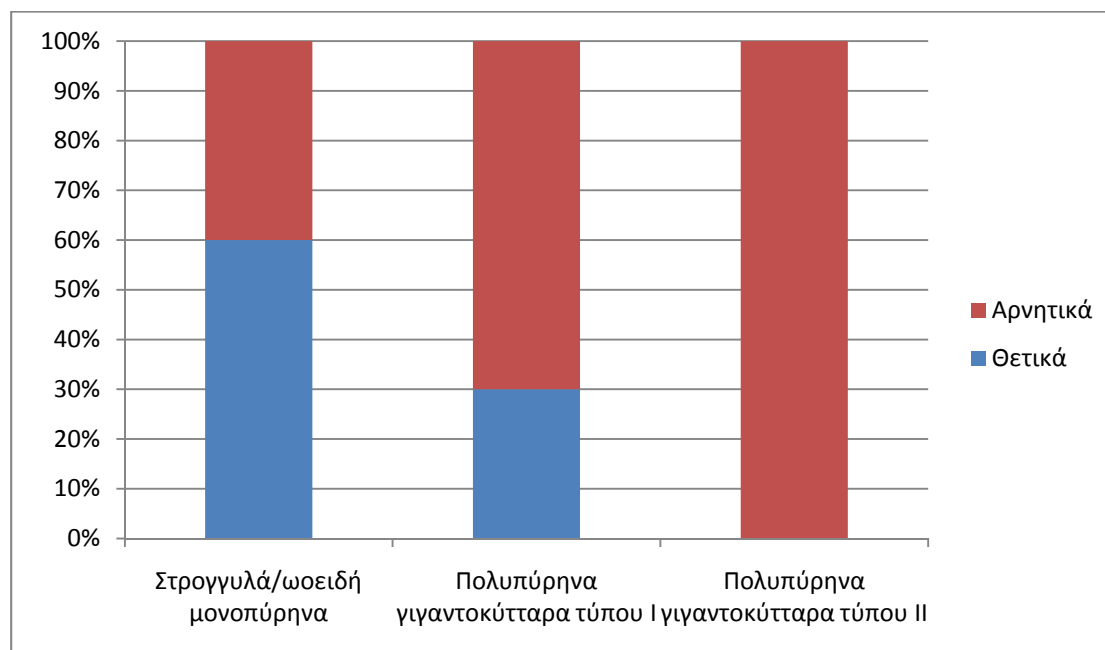
4.3.7 Έκφραση της Bmp4 στα περιφερικά γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα

Στον πίνακα 4.3.7.1 φαίνονται κατ' απόλυτο αριθμό οι περιπτώσεις θετικής και μη χρώσης για τα ΠΓΚ. Τα μελετώμενα κύτταρα είναι τα στρογγυλά/ωοειδή μονοπύρρηνα του στρώματος καθώς και τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I και II. Ατρακτοειδή κύτταρα της περιφέρειας και τυχόν ινωδών διαφραγμάτων στην μάζα των όγκων, καθώς και λοιπά κύτταρα (φλεγμονώδη, κύτταρα αίματος, κτλ.), ήταν αρνητικά και δεν συμπεριλαμβάνονται στους πίνακες. Τα επί τις % ποσοστά θετικών και αρνητικών περιπτώσεων φαίνονται στο γράφημα 4.3.7.1.

Τα στρογγυλά/ωοειδή μονοπύρρηνα του στρώματος εμφάνισαν θετική αντίδραση στο 60 % των περιπτώσεων, για αριθμό όμως μικρότερο του 50% του συνόλου των κυττάρων. Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I ήταν γενικά αρνητικά, εκτός από 3 περιπτώσεις, ενώ τα τύπου II ήταν όλα εντελώς αρνητικά.

Πίνακας 4.3.7.1: Αριθμός θετικά και αρνητικά χρωσμένων με αντίσωμα έναντι της BMP4 περιπτώσεων για τους 3 πληθυσμούς κυττάρων που μελετήθηκαν στα ΠΓΚ.

BMP4	Θετικές περιπτώσεις	Αρνητικές περιπτώσεις
Στρογγυλά/ωοειδή μονοπύρρηνα	6	4
Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I	3	7
Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II	0	10



Γράφημα 4.3.7.1: Επί τις % ποσοστό θετικών περιπτώσεων για 3 διαφορετικούς τύπους κυττάρων που μελετήθηκαν στα ΠΓΚ.

Για την σύγκριση της έκφρασης της πρωτεΐνης Bmp4 μεταξύ των ΚΓΚ και των ΠΓΚ, πραγματοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία χ^2 (πίνακες 4.3.7.2-4), για κάθε ένα από τα μελετώμενα κύτταρα.

Πίνακας 4.3.7.2: Δοκιμασία χ^2 μεταξύ ΚΓΚ και ΠΓΚ, αναφερόμενη στην θετικότητα της Bmp4 στα *στρογγυλά/ωοειδή μονοκύτταρα* του στρώματος

	θετικά	αρνητικά	σύνολο
ΚΓΚ	18	2	20
ΠΓΚ	6	4	10
σύνολο	24	6	30
$\chi^2=3,75$	$p=0,0528$		

Πίνακας 4.3.7.3: Δοκιμασία χ^2 μεταξύ ΚΓΚ και ΠΓΚ, αναφερόμενη στην θετικότητα της Bmp4 στα *πολυκύτταρα γιγαντοκύτταρα τύπου I*

	θετικά	αρνητικά	σύνολο
ΚΓΚ	17	3	20
ΠΓΚ	3	7	10
σύνολο	20	10	30
$\chi^2=9,075$	$p=0,0025$		

Πίνακας 4.3.7.4: Δοκιμασία χ^2 μεταξύ ΚΓΚ και ΠΓΚ, αναφερόμενη στην θετικότητα της Bmp4 στα *πολυκύτταρα γιγαντοκύτταρα τύπου II*

	θετικά	αρνητικά	σύνολο
ΚΓΚ	14	6	20
ΠΓΚ	0	10	10
σύνολο	14	16	30
$\chi^2=13,125$	$p=0,00029$		

Επίσης έγινε η δοκιμασία Mann-Whitney για καλύτερη αξιολόγηση της συνολικής ανοσοαντίδρασης (IRS). Τα αποτελέσματα φαίνονται στους πίνακες 4.3.7.5-7 για κάθε ένα από τα μελετώμενα κύτταρα. Παρατηρείται ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά της έκφρασης της πρωτεΐνης Bmp4 μεταξύ των ΚΓΚ και των ΠΓΚ.

Πίνακας 4.3.7.5: Αποτελέσματα της δοκιμασίας Mann-Whitney για την σύγκριση της συνολικής ανοσοαντίδρασης (IRS) των μονοπυρήνων του στρώματος μεταξύ ΚΓΚ και ΠΓΚ

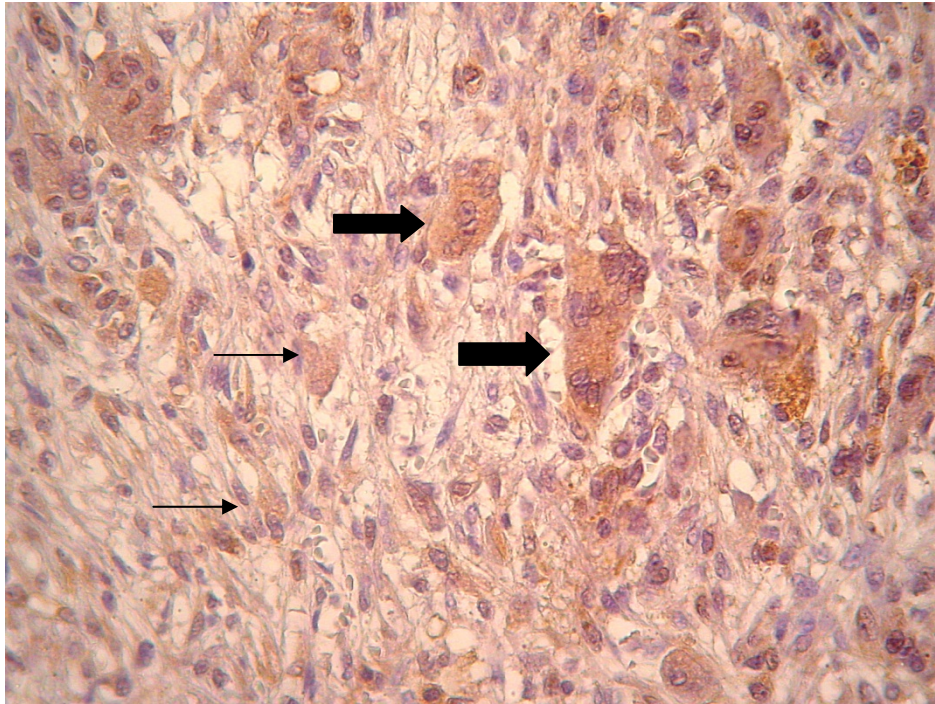
	N	Μέση τιμή IRS	SD	SE
ΚΓΚ	20	2,1	1,26	0,28
ΠΓΚ	10	0,6	0,48	0,15
<i>U-value=28, στατιστικά σημαντικό για $p<0,05$</i>				

Πίνακας 4.3.7.6: Αποτελέσματα της δοκιμασίας Mann-Whitney για την σύγκριση της συνολικής ανοσοαντίδρασης (IRS) των πολυπύρηνων γιγαντοκυττάρων τύπου I μεταξύ ΚΓΚ και ΠΓΚ

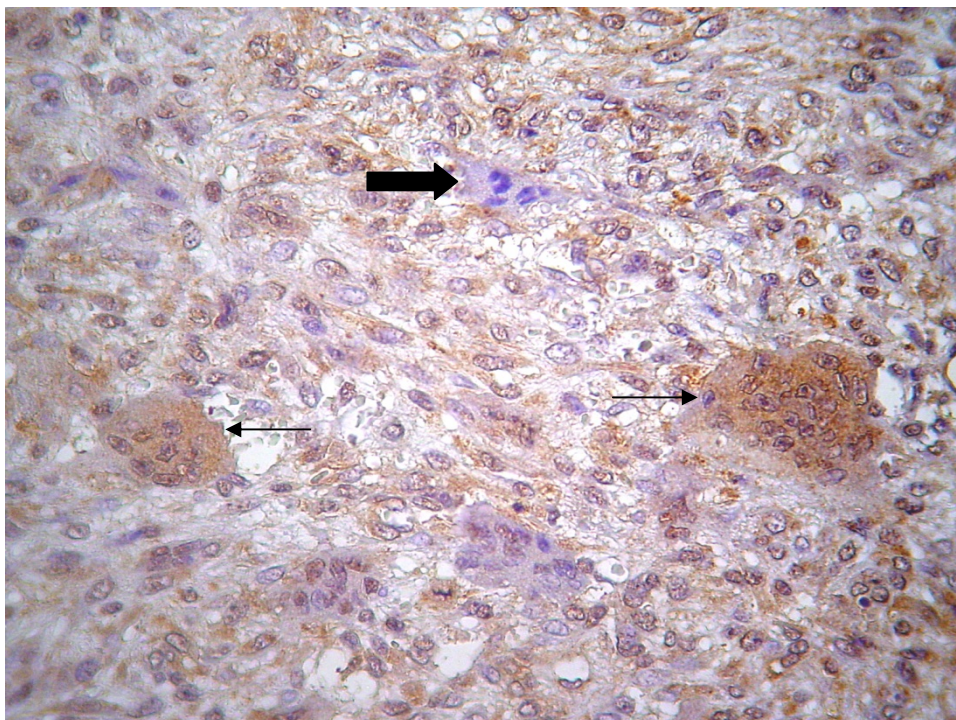
	N	Μέση τιμή IRS	SD	SE
ΚΓΚ	20	2,85	1,52	0,33
ΠΓΚ	10	0,4	0,66	0,20
<i>U-value=23,5, στατιστικά σημαντικό για $p<0,05$</i>				

Πίνακας 4.3.7.7: Αποτελέσματα της δοκιμασίας Mann-Whitney για την σύγκριση της συνολικής ανοσοαντίδρασης (IRS) των πολυπύρηνων γιγαντοκυττάρων τύπου II μεταξύ ΚΓΚ και ΠΓΚ

Ομάδες	N	Μέση τιμή IRS	SD	SE
ΚΓΚ	20	1,8	1,6	0,35
ΠΓΚ	10	0	0	0
<i>U-value=30, στατιστικά σημαντικό για $p<0,05$</i>				



Εικόνα 4.3.7.1: Μονοπύρρηνα του στρώματος (βέλη) καθώς και πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I (μεγάλα βέλη) με θετική κυτταροπλασματική ανοσοχρώση για την πρωτεΐνη Bmpr4 (αρχική μεγέθυνση x400)



Εικόνα 4.3.7.2: Πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I με θετική κυτταροπλασματική ανοσοχρώση για την Bmpr4 (βέλη). Διακρίνεται αρνητικό πολυπύρρηνο γιγαντοκύτταρο τύπου II (μεγάλο βέλος) (αρχική μεγέθυνση x400)

5 Συζήτηση

5.1 Επιδημιολογικά – κλινικά χαρακτηριστικά

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στο γενικό μέρος, τα ΚΓΚ των γνάθων εμφανίζονται συχνότερα σε ηλικίες μικρότερες των 30 ετών. Στην παρούσα μελέτη 12 από τις 20 περιπτώσεις (60%) αφορούσαν άτομα αυτής της ηλικιακής ομάδας, συμφωνώντας έτσι με τα βιβλιογραφικά δεδομένα. Όσον αφορά στα ΠΓΚ, αυτά εμφανίζονται σε όλες τις ηλικίες με έξαρση μεταξύ 40-70 ετών. Στο δείγμα που μελετήθηκε οι μισοί όγκοι προήλθαν από ασθενείς αυτής της ηλικιακής ομάδας, έχοντας έτσι μια τάση να συμφωνήσουν με την βιβλιογραφία, παρά το μικρό μέγεθος του δείγματος.

Σύμφωνα με τα διεθνή δεδομένα ήταν και η αναλογία γυναικών – ανδρών στο δείγμα των ΚΓΚ που μελετήθηκε, με υπεροχή των γυναικών 5,7:1. Τα ΠΓΚ είναι επίσης ελαφρώς συχνότερα σε γυναίκες, από τις 10 παρούσες περιπτώσεις όμως οι 5 αφορούσαν θήλεα (50%).

Τοπογραφικά, τα ΚΓΚ εμφανίζονται συχνότερα στην κάτω γνάθο και το ποσοστό της κάτω προς την άνω γνάθο στην παρούσα μελέτη ήταν 2,3:1. Για τα ΠΓΚ τα δεδομένα συμφώνησαν επίσης με την βιβλιογραφία με αναλογία της κάτω προς την άνω γνάθο 1,5:1.

Πρέπει να αναφερθεί ότι η συμφωνία των επιδημιολογικών στοιχείων αυτής της μελέτης με τα διεθνή βιβλιογραφικά δεδομένα είναι τυχαία, καθώς η επιλογή των περιπτώσεων έγινε με βάση ιστολογικά κριτήρια. Επίσης, οποιαδήποτε επιδημιολογική ανάλυση των βλαβών ξεφεύγει από το σκοπό αυτής της μελέτης. Παρόλα αυτά, θεωρήθηκε ενδιαφέρον ότι στα περισσότερα στοιχεία συμφωνεί η μελέτη με τα διεθνή δεδομένα γεγονός που δείχνει ότι το δείγμα της είναι αντιπροσωπευτικό.

5.2 Έκφραση της Pax9

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας ήταν η ανοσοϊστοχημική διερεύνηση σε ΚΓΚ και ΠΓΚ, πρωτεϊνών οι οποίες χαρακτηρίζουν το εκτομεσέγχυμα. Με έναυσμα το ήδη υπάρχον ερευνητικό δεδομένο της θετικότητας τους στην πρωτεΐνη Msx1 [1], αναζητήθηκαν μόρια τα οποία αλληλεπιδρούν με αυτήν στο εκτομεσέγχυμα κατά τις διεργασίες της οδοντογένεσης. Έτσι επιλέχθηκαν οι πρωτεΐνες Pax9 και Bmp4, από τις οποίες η πρώτη σχηματίζει ετεροδιμερή μόρια με την Msx1 και ακολούθως ρυθμίζουν την έκφραση της δεύτερης [159]. Με την τεχνική

της ανοσοϊστοχημείας φαίνεται ότι ένα μέρος των στρογγυλών/ωοειδών κυττάρων του στρώματος των ΚΓΚ, καθώς και των πολυπύρηνων γιγαντοκυττάρων τύπου Ι εκφράζουν την πρωτεΐνη Pax9.

Τα οστά του προσώπου, συμπεριλαμβανομένων των γνάθων, προέρχονται εμβρυολογικά από το εκτομεσέγχυμα και όχι από το μεσόδερμα όπως τα υπόλοιπα οστά του ανθρώπινου σώματος [167]. Αυτή η σημαντική εμβρυολογική διαφορά ενδέχεται να αντικατοπτρίζει την ασυμφωνία στην βιολογική συμπεριφορά μεταξύ ΚΓΚ και ΓΚΟΟ, και θα αποτελούσε ένδειξη ότι δεν πρόκειται για όμοιες παθολογικές οντότητες. Επίσης, θα μπορούσε να εξηγήσει τη σχεδόν αποκλειστική εντόπισή τους σε οδοντοφόρες περιοχές των γνάθων, καθώς το εκτομεσέγχυμα συμβάλλει στην δημιουργία όλων των οδοντικών ουσιών πλην της αδαμαντίνης, ενώ ακόμα και στον σχηματισμό αυτής έχει ρόλο, καθώς υπάρχει ισχυρή ανταλλαγή σημάτων με τον οδοντογενές επιθήλιο [229]. Τα αναφερόμενα στο προηγούμενο κεφάλαιο αποτελέσματα δείχνουν ότι ο εκτομεσεγχυματικός φαινότυπος υπάρχει σε ικανό βαθμό στα στρογγυλά-ωοειδή μονοκύτταρα του στρώματος των ΚΓΚ.

Οι Houris και συν. στην μελέτη τους, η οποία έγινε στο ίδιο ακριβώς υλικό με την παρούσα εργασία, βρήκαν στα μονοπύρηνια κύτταρα του στρώματος των ΚΓΚ πυρηνική έκφραση της πρωτεΐνης Msx1 σε αντίθεση με την κυτταροπλασματική έκφραση της παρούσας μελέτης [1]. Είναι συνεπώς πιθανό ότι οι πρωτεΐνες Msx1 και Pax9 στα κύτταρα αυτά δεν αλληλεπιδρούν με φυσιολογικό τρόπο.

Αντίστοιχα, όσον αφορά στα πολυπύρηνια γιγαντοκύτταρα τύπου Ι, οι Houris και συν.βρήκαν σε όλα τα παρασκευάσματα ασθενή έως μέτρια έκφραση της Msx1 σε ποσοστό μεγαλύτερο του 50% του συνόλου του κυτταρικού πληθυσμού αυτού. Η εντόπιση της χρώσης ήταν περιπυρηνική και διάχυτα κυτταροπλασματική. Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε ασθενής ή μέτριας έντασης θετικότητα στην πρωτεΐνη Pax9 σε ποσοστό κυττάρων έως 50% και μόνο κυτταροπλασματικά. Φαίνεται, συνεπώς, αντιστοιχία και αλληλοεπικάλυψη στο πρότυπο έκφρασης των δύο πρωτεϊνών, οι οποίες είναι πιθανό ακόμα και να σχηματίζουν σε κάποιο βαθμό ετεροδιμερή μόρια, όπως συμβαίνει σε φυσιολογικές καταστάσεις. Παρόλα αυτά, έχει καταστεί σαφές στην βιβλιογραφία, ότι τα κύτταρα αυτά είναι οστεοκλάστες προερχόμενη από την σύντηξη μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος [230], τα οποία καταφθάνουν χημειοτακτικά στην περιοχή, συνεπώς δεν μπορεί να υποστηριχθεί ότι η προέλευσή τους είναι εκτομεσεγχυματική. Η παρουσία της πρωτεΐνης στο κυτταρόπλασμά τους μπορεί να είναι αποτέλεσμα πιθανής σηματοδοτικής της δράσης, καθώς τα πολυπύρηνια γιγαντοκύτταρα βρίσκονται υπό την επίδραση του στρώματος το οποίο

την εκφράζει. Έχει δειχθεί με την μέθοδο RT-PCR ότι αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα ανθρώπινου μυελού των οστών, υπό την επίδραση οδοντογενούς επιθηλίου ποντικού, εκφράζουν το γονίδιο της Pax9 καθώς και ενός ακόμη μορίου οδοντογένεσης της Dmp1 [231]. Συνεπώς, ίσως η έκφραση της Pax9 στα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I αντικατοπτρίζει την παρουσία «οδοντογενών ιστών», όπως είναι το εκτομεσέγχυμα, στην περιοχή της βλάβης. Ακόμα, θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα της φαγοκυτταρικής δράσης των γιγαντοκυττάρων ή απλώς μια διασταυρούμενη αντίδραση (cross-reaction) του αντισώματος που χρησιμοποιήθηκε.

Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II είναι αρνητικά και για τις δύο πρωτεΐνες, ενισχύοντας έτσι την άποψη ότι πρόκειται για εκφυλισμένα κύτταρα [229].

Η απουσία ανοσοϊστοχημικής ανίχνευσης της Pax9 στα ΠΓΚ πιθανώς να οφείλεται στην διαφορετική παθογένεια μεταξύ περιφερικών και κεντρικών βλαβών. Στις κεντρικές βλάβες δεν μπορεί να εμπλέκεται η περιοδοντική μεμβράνη από την οποία θεωρείται ότι γεννώνται τα ΠΓΚ. Αξίζει βέβαια εδώ να σημειωθεί ότι στην μελέτη των Houris και συν. τα ΠΓΚ εκφράζουν την Msx1 στον ίδιο περίπου βαθμό με τις κεντρικές βλάβες, χωρίς να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά. Η εν λόγω πρωτεΐνη όμως έχει δειχθεί ότι εκφράζεται σε ορισμένα κύτταρα του περιοδοντίου γομφίων και τομέων [232], σε αντίθεση με την Pax9 για την οποία δεν υπάρχουν μέχρι στιγμής ερευνητικά δεδομένα στην βιβλιογραφία για την έκφρασή της στην περιοδοντική μεμβράνη.

Έχει προταθεί από ερευνητικές μελέτες η συμμετοχή ομοιωτικών γονιδίων στην παθογένεια διαφόρων νεοπλασμάτων, όπως του οισοφάγου, των πνευμόνων, της ουροδόχου κύστης, του μαστού κ.α. [233-236]. Τα γονίδια αυτά αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές της μορφογένεσης των οργάνων του ανθρώπου και πιστεύεται ότι εξακολουθούν σε κάποιο βαθμό να είναι ενεργά στην ενήλικη ζωή διατηρώντας την ακεραιότητα ιστών και οργάνων [235]. Συνεπώς, η δυσλειτουργία τους μπορεί να οδηγήσει σε δράση ογκογονιδίου. Η πρώτη πρωτεΐνη προερχόμενη από ομοιωτικό γονίδιο που μελετήθηκε ποτέ σε γιγαντοκυτταρικές βλάβες των γνάθων ήταν η Msx1 [1], και δεύτερη η Pax9, η οποία αλληλεπιδρά ισχυρά με την Msx1.

5.3 Έκφραση της Bmp4

Η πρωτεΐνη Bmp4 παίζει σημαντικό ρόλο κατά την οδοντογένεση και εκφράζεται κυρίως στο εκτομεσέγγχυμα, συμμετέχοντας στην αλληλεπίδραση του με το οδοντογενές επιθήλιο [159]. Επίσης, έχει βρεθεί πειραματικά ότι η έκφρασή της ρυθμίζεται μέσω της πρωτεΐνης Msx1 [159], της οποίας η ύπαρξη στα γιγαντοκυτταρικά κοκκιώματα των γνάθων, τόσο κεντρικά όσο και περιφερικά, έχει αποδειχθεί ανοσοϊστοχημικά [1]. Έτσι, στην παρούσα μελέτη έγινε ανοσοϊστοχημική διερεύνηση της Bmp4, ώστε να υποστηριχθεί η εκτομεσεγγχυματική φύση των προαναφερθέντων όγκων και η πιθανή εμπλοκή ανώμαλων διεργασιών οδοντογένεσης.

Η ανεύρεση της πρωτεΐνης Bmp4 στα μονοπύρρηνα κύτταρα του στρώματος και στα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου Ι αποτελεί άλλη μια ένδειξη που στηρίζει την υπάρχουσα άποψη ότι τα δεύτερα έχουν φαινότυπο οστεοκλάστης [237]. Τα μονοπύρρηνα του στρώματος δρουν σαν μονοκύτταρα/οστεοβλάστες και επάγουν τον σχηματισμό των οστεοκλαστών. Η Bmp4 εμπλέκεται στην διαφοροποίηση των οστεοκλαστών και κατά συνέπεια στις διαδικασίες απορρόφησης του οστού. Αυτό που δεν είναι σαφές είναι αν η Bmp4 έχει συγκεκριμένη δράση στα πολυπύρρηνα κύτταρα ή αν είναι απλά φαγοκυτταρωθέν υλικό από τις οστικές δοκίδες [238]. Η παρόμοια ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της Bmp4, όμως, στους δύο κυτταρικούς πληθυσμούς αποτελεί άλλη μια ένδειξη ότι πιθανότατα η πρωτεΐνη παίζει ενεργό ρόλο στην παθογένεια των ΚΓΚ και δεν είναι απλά φαγοκυτταρωθέν υλικό.

Η πρωτεΐνη Bmp4 έχει βρεθεί ότι εκφράζεται σε άλλοτε άλλο βαθμό σε διάφορες νεοπλασματικές ή αντιδραστικές βλάβες των γνάθων [239]. Έχει ανευρεθεί στις ινοβλάστες και οστεοβλάστες κεντρικών και περιφερικών οστεοποιών ινωμάτων και συσχετίζεται με την παραγωγή οστικών δοκίδων από αυτές τις βλάβες [239]. Επίσης, έχει ανιχνευθεί ανοσοϊστοχημικά σε πλήθος οδοντογενών όγκων, όπως το οστεϊνοβλαστικό ίνωμα, το οστεϊνοβλάστωμα, το οδόντωμα και το οδοντογενές ίνωμα [206] κάτι το οποίο πιθανώς σχετίζεται με την εμπλοκή της στην διαφοροποίηση των αδαμαντινοβλαστών, των οδοντινοβλαστών και των οστεϊνοβλαστών [240].

Στην βιβλιογραφία φαίνεται ότι τα μονοπύρρηνα κύτταρα του στρώματος των ΚΓΚ είναι ένας ανομοιογενής πληθυσμός με ελαφρώς διαφορετικά ανοσοϊστοχημικά πρότυπα. Έχει δειχθεί ότι ένα μέρος των κυττάρων αυτών έχει την ικανότητα να επάγει την οστοκλαστογένεση παρουσία των πρωτεϊνών RANKL και M-CSF [54]. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η Bmp4 πιθανότατα έχει ρόλο στην επαγωγή της

οστεοκλαστογένεσης [186, 195], συνεπώς η ανεύρεσή της ανοσοϊστοχημικά στο κυτταρόπλασμα μέρους των μονοκυττάρων δικαιολογείται.

Η πρωτεΐνη Bmp4 δεν έχει μελετηθεί ποτέ στα ΚΓΚ των γνάθων. Μέλη της οικογένειας των Bmps έχουν ανιχνευθεί ανοσοϊστοχημικά σε μεσεγχυματικούς και μικτούς οδοντογενείς όγκους [206] δείχνοντας έτσι πιθανή παθογενετική εμπλοκή τους σε νεοπλασίες που εξορμούνται από το οδοντογενές εκτομεσέγγυμα. Έχει δειχθεί, επίσης, ανοσοϊστοχημικά η παρουσία της Bmp4 σε οδοντοφόρους κύστες και οδοντογενείς κερατινοκυστικούς όγκους, τόσο στο κυστικό επιθήλιο όσο και στα υποκείμενα μεσεγχυματικά κύτταρα [241]. Μάλιστα είχε εντονότερη έκφραση στους οδοντογενείς κερατινοκυστικούς όγκους και ειδικά εκείνους που υποτροπίασαν, κάτι που συσχετίστηκε από τους συγγραφείς με το πολλαπλασιαστικό δυναμικό και την επιθετικότητα τους. Παρόλο που σε παλαιότερη μελέτη αναφέρεται ότι οι επιθηλιακοί οδοντογενείς όγκοι είναι αρνητικοί στις Bmps [206], σύμφωνα με πιο πρόσφατα δεδομένα το αδαμαντινοβλάστωμα, το μεταστατικό και κακόηθες αδαμαντινοβλάστωμα και ο αδενοειδής οδοντογενής όγκος είναι έντονα θετικά στην Bmp4 και άλλες Bmps [242]. Μάλιστα, τόσο τα επιθηλιακά νεοπλασματικά κύτταρα όσο και τα μεσεγχυματικά κύτταρα του στρώματος παρουσίαζαν θετικότητα, υποδηλώνοντας, πιθανώς, διαταραχή στη μεταξύ τους αλληλεπίδραση κατά την οδοντογένεση.

Για τους ΓΚΟΟ υπάρχει μελέτη στην οποία βρέθηκε αυξημένη σε 3 όγκους η ολική πρωτεΐνη Bmp [243]. Μάλιστα διαπιστώθηκε ότι η συγκέντρωσή της ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με άλλους όγκους των οστών οι οποίοι μελετήθηκαν. Σε μια περισσότερο εις βάθος μελέτη, αποκλειστικά σε ΓΚΟΟ, βρέθηκε σε ιστούς και σε κυτταροκαλλιέργειες μέσω RT-PCR η παρουσία ποικίλων Bmp's όπως 2, 3, 4, 5 και 6, κυρίως σε κύτταρα του στρώματος και λιγότερο στα πολυπύρρηνα [238]. Η πολλαπλότητα των δράσεων της Bmp4 και η εμπλοκή της τόσο στην οστεοκλαστογένεση όσο και στον σχηματισμό οστού δικαιολογεί την παρουσία της στους ΓΚΟΟ, καθώς και σε άλλα νεοπλάσματα των οστών δεν διαχωρίζει όμως τους όγκους αυτούς από τα ΚΓΚ. Η συνδυασμένη έκφρασή της με την έκφραση των Msx1 και Pax9 υποδηλώνει όμως την πιθανή εκτομεσεγχυματική προέλευση αυτών και καταδεικνύει μια παθοφυσιολογική διαφορά μεταξύ των ΚΓΚ που εμφανίζονται αποκλειστικά στις οδοντοφόρες περιοχές των γνάθων και λοιπών οστικών παθολογιών.

Στην παρούσα μελέτη δείχθηκε ότι σε ποσοστό έως 50% τα στρογγυλά/ωοειδή κύτταρα του στρώματος των ΠΓΚ εκφράζουν την πρωτεΐνη Bmp4.

Στο παρελθόν έχει βρεθεί με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους ότι οι ινοβλάστες του περιοδοντικού συνδέσμου είναι θετικές στις Bmp2-4 καθώς και σε άλλες πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην αναδιαμόρφωση του οστού όπως η οστεοκαλσίνη, η οστεοποντίνη, η σιαλοπρωτεΐνη του οστού και η αλκαλική φωσφατάση [244]. Το δεδομένο αυτό αποτελεί ένδειξη για την ορθότητα της άποψης ότι παθογενετικά τα ΠΓΚ προέρχονται από την περιοδοντική μεμβράνη.

Έχειδειχθεί ότι η πρωτεΐνη Bmp4, μαζί με την Bmp2, παίζουν σημαντικό ρόλο στην επανόρθωση των οστικών καταγμάτων καθώς και κατά την λεγόμενη διατακτική οστεογένεση η οποία χρησιμοποιείται για την επιμήκυνση μακρών οστών αλλά και των γνάθων [245]. Η ανοσοϊστοχημική ανεύρεση της Bmp4 σε ΚΓΚ των γνάθων ίσως αποτελεί ένδειξη πιθανής επανορθωτικής παθογένειας όπως είχε αρχικά αναφερθεί στην παλαιότερη βιβλιογραφία. Το γεγονός όμως ότι οι όγκοι αυτοί είναι οστεολυτικοί μάλλον παρά οστεοπλαστικοί υποδηλώνει μη φυσιολογικές διαδικασίες επανόρθωσης.

Η πρωτεΐνη Pax9, μαζί με τις Bmp4 και Msx1, όπως έχει ήδη αναφερθεί, είναι χαρακτηριστικές των κυττάρων του εκτομεσεγγύματος. Η θετικότητα των γιγαντοκυτταρικών κοκκιωμάτων σε αυτές, υποδηλώνει την εκτομεσεγγυματική τους προέλευση και δικαιολογεί την αποκλειστική εμφάνισή τους στις οδοντοφόρες περιοχές των γνάθων και συχνότερα σε ηλικίες κοντά στην περίοδο της οδοντογένεσης. Όμως το εκτομεσεγγύμα σαν συνεχώς εξελισσόμενη οντότητα παρούσα σε όλα τα σπονδυλόζωα δεν έχει σταθερό και σαφές φαινοτυπικό πρότυπο, και δεν έχουν βρεθεί ακόμα εντελώς αξιόπιστοι μοριακοί δείκτες [165]. Συνεπώς, στην παρούσα χρονική στιγμή μόνο υποθέσεις μπορούν να γίνουν σχετικά με την εκτομεσεγγυματικό φαινότυπο των κυττάρων που απαρτίζουν τις γιγαντοκυτταρικές βλάβες. Παρόλα αυτά η συνδυασμένη έκφραση τριών πρωτεϊνών οι οποίες έχουν συσχετιστεί με το εκτομεσεγγύμα ισχυροποιεί την θεωρία της εκτομεσεγγυματικής προέλευσης του στρώματος των γιγαντοκυτταρικών κοκκιωμάτων των γνάθων.

5.4 Μελλοντικές προοπτικές

Σε μελλοντική έρευνα θα μπορούσε να μελετηθεί η ανοσοϊστοχημική έκφραση μορίων ανιόντων αυτών που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία, όπως η σηματοδοτική οδός Wnt/ β catenin, αλλά και άλλων σηματοδοτικών οδών που εμπλέκονται στην οδοντογένεση, όπως η οδός του Fbf (Fibroblast Growth Factor), του Tnf (Tumor Necrosis Factor) και του Shh (Sonic Hedgehog). Ειδικά η

σηματοδοτική οδός Wnt/ β catenin αποτελείται από μόρια που ελέγχουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση και υπάρχουν πειραματικά δεδομένα που μαρτυρούν την επίδρασή της στις Pax9, Msx1 και Bmp4 [246]. Κατά την πρώιμη οδοντογένεση εκφράζονται στο εκτομεσέγχυμα σηματοδοτικά μόρια τόσο της κανονικής, όσο και της μη κανονικής οδού Wnt/ β catenin, όπως για παράδειγμα η Wnt5a για την οποία πειράματα σε ποντικούς έχουν δείξει ότι επάγει την έκφραση της Pax9 και του Msx1 [247].

Επιπλέον, για την αποσαφήνιση της εκτομεσεγχυματικής προέλευσης των ΚΓΚ, θα μπορούσε να μελετηθεί η έκφραση άλλων μορίων που σχετίζονται με αυτό τον εμβρυϊκό ιστό, όπως της νεστίνης (nestin). Η νεστίνη είναι μια πρωτεΐνη που συναντάται στα ενδιάμεσα ινίδια του κυτταροσκελετού και εκφράζεται στο εκτομεσέγχυμα κατά την εμβρυογένεση των δοντιών και στην ενήλικη ζωή μόνο μετά από τερηδογονόνο ερέθισμα και παραγωγή δευτερογενούς οδοντίνης. Θεωρείται δείκτης του εκτομεσεγχύματος και έχει βρεθεί ανοσοϊστοχημικά ότι εκφράζεται στους οδοντογενείς όγκους με ενεργοποίηση του εκτομεσεγχύματος και όχι στους αμιγώς επιθηλιακούς [248]. Η πρωτεΐνη S8 αποτελεί παράγωγο του αντίστοιχου ομοιωτικού (homeobox) γονιδίου και εκφράζεται κατά την εμβρυογένεση κατεξοχήν στο μεσέγχυμα διαφόρων ιστών, μεταξύ των οποίων και το οδοντογενές εκτομεσέγχυμα [249]. Συμμετέχει στην μορφογένεση των δοντιών στα πρώιμα στάδια καθώς και στις σηματοδοτικές αλληλεπιδράσεις επιθηλίου-εκτομεσεγχύματος. Άλλα μόρια με ισχυρή παρουσία και επίδραση στο εκτομεσέγχυμα και το επιθήλιο κατά την διάρκεια της οδοντογένεσης είναι τα Runx2, cadherins, CD44, και integrin-beta 1 [250].

Τεχνικά, η ανοσοϊστοχημεία είναι εύκολη, γρήγορη και με χαμηλό κόστος. Παρόλα αυτά, μειονεκτεί σε ευαισθησία και ειδικότητα, ενώ δεν υπάρχει μια κοινώς αποδεκτή μέθοδος αξιολόγησης. Συνεπώς, σε μια μελλοντική ερευνητική εργασία θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν περισσότεροι αξιόπιστοι μοριακές μέθοδοι, όπως η τεχνική Western Blot που ανιχνεύει με ακρίβεια συγκεκριμένες πρωτεΐνες σε μονιμοποιημένο ιστό ή κυτταροκαλλιέργεια, ή η Northern Blot που ανιχνεύει αντίγραφα RNA και προσδιορίζει με ακρίβεια την έκφραση ενός γονιδίου. Με αυτές τις μεθόδους, θα μπορούσε να επιβεβαιωθεί περισσότερο αντικειμενικά η έκφραση στα ΚΓΚ και ΠΓΚ των μορίων που ανιχνεύθηκαν ανοσοϊστοχημικά στην παρούσα μελέτη.

Τέλος, είναι ανάγκη, τόσο τα μόρια που μελετήθηκαν στην συγκεκριμένη εργασία, όσο και άλλα μελλοντικά, να μελετηθούν σε συσχέτιση με την έκφρασή τους και στους ΓΚΟΟ. Έτσι θα κατανοηθεί καλύτερα η παθογένεια των δύο αυτών όγκων

με ίδια ιστολογική εικόνα αλλά διαφορετική κλινική συμπεριφορά και θα προσδιοριστεί η φύση τους.

Περίληψη

Εισαγωγή:

Το Κεντρικό Γιγαντοκυτταρικό Κοκκίωμα (ΚΓΚ) είναι μια σχετικά σπάνια καλοήθης ενδοοστική βλάβη η οποία εμφανίζεται αποκλειστικά στις γνάθους και χαρακτηρίζεται από τον πολλαπλασιασμό ινώδους συνδετικού ιστού συνοδευόμενο από αιμορραγικές εστίες, εναπόθεση αιμοσιδηρίνης, αντιδραστική παραγωγή οστού και πλήθος διάσπαρτων πολυπυρήνων γιγαντοκυττάρων που προσομοιάζουν με οστεοβλάστες. Τα ΚΓΚ προσβάλλουν συχνότερα θήλεα ηλικίας 10 έως 25 ετών και και κλινικά αποτελούν αργά αυξανόμενες ασυμπτωματικές διογκώσεις κυρίως της κάτω γνάθου. Αντιμετωπίζονται με χειρουργική εκπυρήνιση, ενώ έχουν δοκιμαστεί και διάφοροι φαρμακολογικοί παράγοντες με ικανοποιητικά αποτελέσματα. Περίπου το 1/3 των όγκων εμφανίζουν τοπικά επιθετική συμπεριφορά με υψηλό ποσοστό υποτροπής αλλά χωρίς την ικανότητα μετάστασης. Οι γιγαντοκυτταρικοί όγκοι των μακρών οστών (ΓΚΟ) εμφανίζουν παρόμοια ιστολογική εικόνα με τα ΚΓΚ, έχουν όμως διαφορετική βιολογική συμπεριφορά, συνήθως περισσότερο επιθετική.

Το Περιφερικό Γιγαντοκυτταρικό Κοκκίωμα (ΠΓΚ) είναι μια καλοήθης αντιδραστική βλάβη των ούλων που συνήθως οφείλεται σε τοπικούς ερεθιστικούς ή τραυματογόνους παράγοντες. Ιστολογικά είναι παρόμοιο με το ΚΓΚ και ορισμένοι ερευνητές θεωρούν ότι πρόκειται για τον περιφερικό τύπο του ίδιου όγκου. Κλινικά εμφανίζεται σαν ασυμπτωματικό, εξελκωμένο, ερυθρό ή κυανό ογκίδιο, συνήθως μικρότερο των 2 εκατοστών σε διάμετρο. Γυναίκες στην 5^η ή 6^η δεκαετία της ζωής προσβάλλονται συχνότερα. Η απλή χειρουργική αφαίρεση είναι η θεραπεία εκλογής και το ποσοστό υποτροπής ανέρχεται στο 10%.

Παλαιότερες μελέτες έχουν δείξει ότι τα μονοπύρηνια του στρώματος καθώς και τα πολυπύρηνια γιγαντοκύτταρα εκφράζουν την πρωτεΐνη Msx1, γνωστή σαν ρυθμιστής της οδοντογένεσης και εκτομεσεγγυματικός δείκτης. Σύμφωνα με τα μέχρι σήμερα γνωστά ερευνητικά δεδομένα για την περίπλοκη βιολογική διαδικασία της οδοντογένεσης, η Msx1 σχηματίζει στο εκτομεσέγγυμα ετεροδιμερή μόρια με την πρωτεΐνη Pax9 και μαζί ρυθμίζουν την έκφραση της πρωτεΐνης Bmp4.

Σκοπός:

Η ανοσοϊστοχημική διερεύνηση των πρωτεϊνών Pax9 και Bmp4 σε ΚΓΚ και ΠΓΚ και η συσχέτισή τους με την παθογένειά τους και κυρίως με την πιθανή εκτομεσεγγυματική τους προέλευση.

Υλικό:

Ιστολογικά παρασκευάσματα από βιοπτικό υλικό 20 βλαβών διεγνωσμένων κλινικά, ακτινογραφικά και ιστοπαθολογικά ως ΚΓΚ καθώς και 10 βλαβών διεγνωσμένων ως ΠΓΚ. Το υλικό προέρχεται από το Εργαστήριο Στοματολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθήνας και από το Division of Oral Pathology, Department of Diagnostic Sciences of the Dental School of the University of Minnesota, USA.

Οι ιστολογικές τομές βάφτηκαν ανοσοϊστοχημικά με 1) πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι της Pax9 (Abbiotec, USA, 251473) σε συγκέντρωση 1:50, 2) πολυκλωνικό αντίσωμα έναντι της Bmp4 (Lifespan Biosciences, USA) σε συγκέντρωση 1:50. Το πρώτο αντίσωμα βάφτηκε με αυτοματοποιημένη μέθοδο, το δεύτερο δια χειρός.

Τα πλακίδια μελετήθηκαν από δύο διαφορετικούς ερευνητές χωρίς γνώση των κλινικών πληροφοριών. Σε κάθε ένα δόθηκε ιστολογικό score αντίστοιχο του ποσοστού των θετικών κυττάρων και της έντασης της χρώσης για τρεις κυτταρικούς πληθυσμούς: μονοπύρρηνα του στρώματος, πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I και πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II. Το score για το ποσοστό χρώσης ήταν 0-2 (0 για ποσοστό <5%, 1 για ποσοστό 5-50% και 2 για ποσοστό >51%) και για την ένταση της χρώσης 0-3 (0 καθόλου χρώση, 1 ασθενής, 2 μέτρια, 3 ισχυρή). Οι δύο αριθμοί πολλαπλασιάστηκαν μεταξύ τους για να δοθεί ένα συνολικό ανοσοϊστοχημικό score. Η έκφραση των μελετώμενων πρωτεϊνών αναλύθηκε στατιστικά για την σύγκριση μεταξύ ΚΓΚ και ΠΓΚ.

Αποτελέσματα:

Παρατηρήθηκε θετικότητα των μονοπυρήνων κυττάρων για την πρωτεΐνη Pax9 στις 19 από τις 20 περιπτώσεις ΚΓΚ, με score κυρίως 1. Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα ήταν θετικά σε 17 βλάβες με score 2 κατά κύριο λόγο. Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II ήταν κατά κανόνα αρνητικά. Αρνητικά ήταν και τα ΠΓΚ για όλους τους πληθυσμούς κυττάρων που μελετήθηκαν.

Τα μονοπύρρηνα του στρώματος των ΚΓΚ ήταν θετικά για την πρωτεΐνη Bmp4 σε 18 περιπτώσεις συνήθως με score 2. Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I ήταν θετικά σε 17 περιπτώσεις με score συνήθως 4. Τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου II εμφάνισαν θετική έκφραση σε μικρότερο βαθμό. Τα μονοπύρρηνα κύτταρα

των ΠΓΚ ήταν θετικά με score 1 σε 6 περιπτώσεις ενώ τα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα τύπου I και II ήταν κατά κανόνα αρνητικά.

Οι δοκιμασίες χ^2 και Mann-Whitney έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά της έκφρασης των πρωτεϊνών Pax9 και Bmp4 μεταξύ ΚΓΚ και ΠΓΚ για όλους τους πληθυσμούς κυττάρων που αξιολογήθηκαν.

Συμπεράσματα:

Η έκφραση των πρωτεϊνών Pax9 και Bmp4 στα μονοπύρρηνα του στρώματος των ΚΓΚ, σε συνδυασμό με το προηγούμενο εύρημα της θετικότητας της Msx1 είναι ενδεικτική της εκτομεσεγγυματικής προέλευσης των βλαβών αυτών. Επίσης, δίνει μια πιθανή εξήγηση για την αποκλειστική εντόπισή τους σε οδοντοφόρες περιοχές των γνάθων και την συχνή εμφάνισή τους σε νεαρές ηλικίες καθώς και για την διαφορετική τους βιολογική συμπεριφορά σε σχέση με τους ΓΚΟ. Η διαφορετική έκφραση των πρωτεϊνών στα ΠΓΚ πιθανώς αντικατοπτρίζει την διαφορετική αιτιοπαθογένειά τους.

Summary

Immunohistochemical evaluation of Pax9 and Bmp4 expression in central and peripheral giant cell granulomas of the jaws

Introduction:

Central Giant Cell Granuloma (CGCG) is a relatively rare benign intraosseous lesion that occurs exclusively in the jaws and is characterized by the proliferation of fibrous tissue accompanied by hemorrhagic focuses, hemosiderin deposits, reactive bone formation and an abundance of multi-nuclear giant cells that resemble osteoclasts. CGCGs most commonly affect female patients aged between 10 and 25 years of age and appear as slowly growing asymptomatic osteolytic masses usually in the mandible. Treatment consists in surgical removal but there are also some pharmacological options with good results to consider. Approximately 1/3 of CGCGs show a locally aggressive behavior with a high tendency to recur but they never metastasize. In contrast, the Giant Cell Tumor of bone (GCT), despite the same histologic appearance, has a higher rate of recurrence and lung metastasis is frequent.

Peripheral Giant Cell Granuloma (PGCG) is a benign soft tissue tumor that affects the gingiva and is usually attributed to trauma or mechanical irritation. Histologically has the same appearance with CGCG and some investigators believe that it represents its peripheral counterpart. It appears as an asymptomatic red to blue nodule, usually smaller than 2 cm in diameter and sometimes ulcerated. Women at the 5th or 6th decade of life are more commonly affected. Simple surgical removal is the appropriate treatment with 10% chance of recurrence.

It has been shown before that both the mononuclear stromal cells and the multinucleated giant cells express the Msx1 protein which is widely known as a regulator of tooth morphogenesis expressed in dental ectomesenchyme. Odontogenesis is a complex biological mechanism, mostly unknown and widely open to scientific research. Our current understanding shows that Msx1 highly interacts with Paired-Box Protein 9 (pax9) and probably through the creation of heterodimers, they together regulate the expression of Bone Morphogenetic Protein 4 in the dental ectomesenchyme.

Aim:

Immunohistochemical evaluation of Pax9 and Bmp4 proteins in CGCG and PGCG and the investigation of their possible ectomesenchymal origin.

Material:

The material used in this study was biopsy material from 20 lesions which were diagnosed clinically, radiologically and histopathologically as central giant cell granulomas and 10 lesions which were diagnosed as peripheral giant cell granulomas. The material was obtained from the Department of Oral Pathology of the Dental School of the National and Kapodistrian University of Athens, and the Division of Oral Pathology, Department of Diagnostic Sciences of the Dental School of the University of Minnesota, USA.

The tissue sections were stained by means of Immunohistochemistry with the following antibodies: 1) PAX9: rabbit polyclonal, Abbiotec (USA), catalogue number 251473 concentration 1:50 2.) BMP4: rabbit polyclonal, Lifespan Biosciences (USA), concentration 1:50. The first one was stained by an automated procedure using Leica Bond-Max, the second one by hand.

The results were blindly evaluated without knowledge of any clinical information. Each specimen and each antibody were assessed regarding the intensity of stain and percentage of stained multinucleated giant cells type I, multinucleated giant cells type II, oval mononuclear cells and spindle-shaped mononuclear cells. Percentage score was 0-2 (0 for <5% cells, 1 for 5-50% cells, 2 for >50% cells) and intensity score was 0-3 (0 no staining, 1 weak, 2 moderate, 3 strong). The two numbers were multiplied to provide the immunoreactivity score (IRS). Statistical methods were used to compare the expression of the proteins between CGCGs and PGCGs for all cell populations studied. Immunohistochemical evaluation was performed by two observers independently

Results:

19 out of 20 CGCG had positive Pax9 expression on the oval mononuclear cells of the stroma, mostly with score 1. Multinucleated giant cells type I were mostly with score 2 in 17 out of 20 tumors but type II were completely negative. Most cases were stained weakly or moderately. PGCG were completely negative.

Mononuclear stromal cells were Bmp4 positive in 18 out of 20 cases of CGCGs, mostly with score 2. The multinucleated giant cells type II were positive in 17 cases, mostly with score 4. Type II multinucleated cells were stained somewhat less (15 cases). Mononuclear cells of PGCGs in only 6 cases with score 1 while multinucleated giant cell type I and II were generally negative.

X^2 and Mann-Whitney statistical tests showed a statistical significant difference between stained cell populations for the expression of Bmp4. Statistical analysis for Pax9 was not carried out because of the total negativity of PGCGs

Conclusions:

The expression of Pax9 and Bmp4 by the mononuclear component of CGCGs, coupled with the previous finding of Msx1 expression, is an indication of the ectomesenchymal origin of those cells. These findings may provide an explanation for their exclusive appearance on the edentulous areas of the jaws in younger ages when tooth formation takes place and maybe their different biological behavior from GCTs.

Βιβλιογραφία

1. Houpis, C.H., et al., *Parathyroid hormone-related peptide (PTHrP), parathyroid hormone/parathyroid hormone-related peptide receptor 1 (PTHrP1), and MSX1 protein are expressed in central and peripheral giant cell granulomas of the jaws.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2010. **109**(3): p. 415-24.
2. Tosios, K.I., R. Gopalakrishnan, and I.G. Koutlas, *So-called hybrid central odontogenic fibroma/central giant cell lesion of the jaws. A report on seven additional cases, including an example in a patient with cherubism, and hypotheses on the pathogenesis.* Head Neck Pathol, 2008. **2**(4): p. 333-8.
3. Jaffe, H.L., *Giant-cell reparative granuloma, traumatic bone cyst, and fibrous (fibro-oseous) dysplasia of the jawbones.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1953. **6**(1): p. 159-75.
4. Umiker, W. and R.G. Gerry, *Pseudo giant cell tumor (reparative granuloma) of the jaw.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1954. **7**(2): p. 113-23.
5. Abrams, B. and M. Shear, *A histological comparison of the giant cells in the central giant cell granuloma of the jaws and the giant cell tumor of long bone.* J Oral Pathol, 1974. **3**(5): p. 217-23.
6. Franklin, C.D., G.T. Craig, and C.J. Smith, *Quantitative analysis of histological parameters in giant cell lesions of the jaws and long bones.* Histopathology, 1979. **3**(6): p. 511-22.
7. Austin, L.T., Jr., D.C. Dahlin, and R.Q. Royer, *Giant-cell reparative granuloma and related conditions affecting the jawbones.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1959. **12**: p. 1285-95.
8. Wertheimer, F.W., *Enzyme histochemistry of giant-cell reparative granulomas.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1967. **23**(4): p. 464-9.
9. Waldron, C.A. and W.G. Shafer, *The central giant cell reparative granuloma of the jaws. An analysis of 38 cases.* Am J Clin Pathol, 1966. **45**(4): p. 437-47.
10. Adkins, K.F., M.G. Martinez, and L.H. Robinson, *Cellular morphology and relationships in giant-cell lesions of the jaws.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1969. **28**(2): p. 216-22.
11. El-Labban, N.G. and K.W. Lee, *Myofibroblasts in central giant cell granuloma of the jaws: an ultrastructural study.* Histopathology, 1983. **7**(6): p. 907-18.
12. Kruse-Losler, B., et al., *Central giant cell granuloma of the jaws: a clinical, radiologic, and histopathologic study of 26 cases.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006. **101**(3): p. 346-54.
13. Andersen, L., O. Fejerskov, and H.P. Philipsen, *Oral giant cell granulomas. A clinical and histological study of 129 new cases.* Acta Pathol Microbiol Scand A, 1973. **81**(5): p. 606-16.
14. Eisenbud, L., et al., *Central giant cell granuloma of the jaws: experiences in the management of thirty-seven cases.* J Oral Maxillofac Surg, 1988. **46**(5): p. 376-84.
15. Sidhu, M.S., H. Parkash, and S.S. Sidhu, *Central giant cell granuloma of jaws--review of 19 cases.* Br J Oral Maxillofac Surg, 1995. **33**(1): p. 43-6.
16. de Lange, J., H.P. van den Akker, and H. Klip, *Incidence and disease-free survival after surgical therapy of central giant cell granulomas of the jaw in The Netherlands: 1990-1995.* Head Neck, 2004. **26**(9): p. 792-5.
17. Motamedi, M.H., et al., *Peripheral and central giant cell granulomas of the jaws: a demographic study.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2007. **103**(6): p. e39-43.

18. Sun, Z.J., et al., *Central giant cell granuloma of the jaws: clinical and radiological evaluation of 22 cases*. Skeletal Radiol, 2009. **38**(9): p. 903-9.
19. Farrier, S.L., et al., *A 10-year review of the occurrence and treatment of central giant cell granulomas, in a District General Hospital*. J Oral Pathol Med, 2006. **35**(6): p. 332-7.
20. Lin, Y.J., et al., *Central giant cell granuloma of the mandible in a 7-year-old boy: a case report*. Quintessence Int, 2007. **38**(3): p. 253-9.
21. Shirani, G., et al., *Management of a locally invasive central giant cell granuloma (CGCG) of mandible: report of an extraordinary large case*. J Craniomaxillofac Surg, 2011. **39**(7): p. 530-3.
22. Vered, M., A. Buchner, and D. Dayan, *Central giant cell granuloma of the jawbones--new insights into molecular biology with clinical implications on treatment approaches*. Histol Histopathol, 2008. **23**(9): p. 1151-60.
23. Chuong, R., et al., *Central giant cell lesions of the jaws: a clinicopathologic study*. J Oral Maxillofac Surg, 1986. **44**(9): p. 708-13.
24. Ficarra, G., L.B. Kaban, and L.S. Hansen, *Central giant cell lesions of the mandible and maxilla: a clinicopathologic and cytometric study*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1987. **64**(1): p. 44-9.
25. Whitaker, S.B. and C.A. Waldron, *Central giant cell lesions of the jaws. A clinical, radiologic, and histopathologic study*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1993. **75**(2): p. 199-208.
26. Theologie-Lygidakis, N., et al., *Treatment of central giant-cell granulomas of the jaws in children: conservative or radical surgical approach?* J Craniomaxillofac Surg, 2011. **39**(8): p. 639-44.
27. Minic, A. and Z. Stajcic, *Prognostic significance of cortical perforation in the recurrence of central giant cell granulomas of the jaws*. J Craniomaxillofac Surg, 1996. **24**(2): p. 104-8.
28. Triantafillidou, K., et al., *Brown tumors of the jaws associated with primary or secondary hyperparathyroidism. A clinical study and review of the literature*. Am J Otolaryngol, 2006. **27**(4): p. 281-6.
29. Jebasingh, F., et al., *Bilateral maxillary brown tumours as the first presentation of primary hyperparathyroidism*. Oral Maxillofac Surg, 2008. **12**(2): p. 97-100.
30. Bufalino, A., et al., *Giant cell lesions in noonan syndrome: case report and review of the literature*. Head Neck Pathol, 2010. **4**(2): p. 174-7.
31. Cohen, M.M., Jr. and R.J. Gorlin, *Noonan-like/multiple giant cell lesion syndrome*. Am J Med Genet, 1991. **40**(2): p. 159-66.
32. Lee, J.S., et al., *Phenotypic and genotypic characterisation of Noonan-like/multiple giant cell lesion syndrome*. J Med Genet, 2005. **42**(2): p. e11.
33. Chrcanovic, B.R., R.S. Gomez, and B. Freire-Maia, *Neurofibromatosis type 1 associated with bilateral central giant cell granuloma of the mandible*. J Craniomaxillofac Surg, 2011. **39**(7): p. 538-43.
34. Edwards, P.C., et al., *Clinically aggressive central giant cell granulomas in two patients with neurofibromatosis 1*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006. **102**(6): p. 765-72.
35. Turkoglu, K., et al., *Primary ciliary dyskinesia: Kartagener syndrome with central giant cell granuloma. A case report*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2010. **110**(4): p. e49-56.
36. Smith, P.G., A.J. Marrogi, and J.J. Delfino, *Multifocal central giant cell lesions of the maxillofacial skeleton: a case report*. J Oral Maxillofac Surg, 1990. **48**(3): p. 300-5.
37. Cassatly, M.G., A.M. Greenberg, and W.K. Kopp, *Bilateral giant cell granulomata of the mandible: report of case*. J Am Dent Assoc, 1988. **117**(6): p. 731-3.

38. Davis, G.B. and H. Tideman, *Multiple recurrent central giant cell granulomas of the jaws. Case report.* J Maxillofac Surg, 1977. **5**(2): p. 127-9.
39. Bilodeau, E., K. Chowdhury, and B. Collins, *A case of recurrent multifocal central giant cell granulomas.* Head Neck Pathol, 2009. **3**(2): p. 174-8.
40. Orhan, E., et al., *Idiopathic bilateral central giant cell reparative granuloma of jaws: a case report and literature review.* Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2010. **74**(5): p. 547-52.
41. Curtis, N.J. and D.M. Walker, *A case of aggressive multiple metachronous central giant cell granulomas of the jaws: differential diagnosis and management options.* Int J Oral Maxillofac Surg, 2005. **34**(7): p. 806-8.
42. Cohen, M.A. and Y. Hertzanu, *Radiologic features, including those seen with computed tomography, of central giant cell granuloma of the jaws.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1988. **65**(2): p. 255-61.
43. De Lange, J. and H.P. Van den Akker, *Clinical and radiological features of central giant-cell lesions of the jaw.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2005. **99**(4): p. 464-70.
44. Ortega, A., et al., *Nonendodontic periapical lesions: a retrospective study in Chile.* Int Endod J, 2007. **40**(5): p. 386-90.
45. Kuc, I., E. Peters, and J. Pan, *Comparison of clinical and histologic diagnoses in periapical lesions.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2000. **89**(3): p. 333-7.
46. Dahlkemper, P., et al., *Periapical central giant cell granuloma: a potential endodontic misdiagnosis.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2000. **90**(6): p. 739-45.
47. Bodner, L. and J. Bar-Ziv, *Radiographic features of central giant cell granuloma of the jaws in children.* Pediatr Radiol, 1996. **26**(2): p. 148-51.
48. De Corso, E., et al., *Advanced giant cell reparative granuloma of the mandible: radiological features and surgical treatment.* Acta Otorhinolaryngol Ital, 2006. **26**(3): p. 168-72.
49. Nackos, J.S., R.H. Wiggins, 3rd, and H.R. Harnsberger, *CT and MR imaging of giant cell granuloma of the craniofacial bones.* AJNR Am J Neuroradiol, 2006. **27**(8): p. 1651-3.
50. Kumar, R., et al., *Recurrent giant cell reparative granuloma of hard palate: role of Tc-99m-MDP three-phase bone scan.* Clin Imaging, 2000. **24**(3): p. 143-5.
51. Flanagan, A.M., et al., *The multinucleate cells in giant cell granulomas of the jaw are osteoclasts.* Cancer, 1988. **62**(6): p. 1139-45.
52. Liu, B., S.F. Yu, and T.J. Li, *Multinucleated giant cells in various forms of giant cell containing lesions of the jaws express features of osteoclasts.* J Oral Pathol Med, 2003. **32**(6): p. 367-75.
53. Tobon-Arroyave, S.I., et al., *Overexpression of matrix metalloproteinase (MMP)-1 and -9 in central giant cell lesions of the jaws: implications for clinical behavior.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2010. **110**(6): p. 755-63.
54. Itonaga, I., et al., *Cellular mechanisms of osteoclast formation and lacunar resorption in giant cell granuloma of the jaw.* J Oral Pathol Med, 2003. **32**(4): p. 224-31.
55. Torabinia, N., S.M. Razavi, and Z. Shokrolahi, *A comparative immunohistochemical evaluation of CD68 and TRAP protein expression in central and peripheral giant cell granulomas of the jaws.* J Oral Pathol Med, 2011. **40**(4): p. 334-7.
56. Soriano, P., et al., *Targeted disruption of the c-src proto-oncogene leads to osteopetrosis in mice.* Cell, 1991. **64**(4): p. 693-702.

57. Wang, C., et al., *Expression of c-Src and comparison of cytologic features in cherubism, central giant cell granuloma and giant cell tumors*. Oncol Rep, 2006. **15**(3): p. 589-94.
58. Syrio, N.F., et al., *IL-10 and IL-10 receptor overexpression in oral giant cell lesions*. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2011. **16**(4): p. e488-92.
59. Papanicolaou, P., et al., *Increased TNF-alpha, IL-6 and decreased IL-1beta immunohistochemical expression by the stromal spindle-shaped cells in the central giant cell granuloma of the jaws*. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2012. **17**(1): p. e56-62.
60. de Matos, F.R., et al., *Immunoexpression of TNF-alpha and TGF-beta in central and peripheral giant cell lesions of the jaws*. J Oral Pathol Med, 2012. **41**(2): p. 194-9.
61. de Souza, P.E., et al., *Systemic leukocyte activation in patients with central giant cell lesions*. J Oral Pathol Med, 2005. **34**(5): p. 312-7.
62. Lim, L. and J.R. Gibbins, *Immunohistochemical and ultrastructural evidence of a modified microvasculature in the giant cell granuloma of the jaws*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1995. **79**(2): p. 190-8.
63. Vered, M., A. Buchner, and D. Dayan, *Giant cell granuloma of the jawbones--a proliferative vascular lesion? Immunohistochemical study with vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor*. J Oral Pathol Med, 2006. **35**(10): p. 613-9.
64. de Souza, P.E., et al., *Immunohistochemical expression of p53, MDM2, Ki-67 and PCNA in central giant cell granuloma and giant cell tumor*. J Oral Pathol Med, 1999. **28**(2): p. 54-8.
65. Souza, P.E., R.A. Mesquita, and R.S. Gomez, *Evaluation of p53, PCNA, Ki-67, MDM2 and AgNOR in oral peripheral and central giant cell lesions*. Oral Dis, 2000. **6**(1): p. 35-9.
66. Idowu, B.D., et al., *Mutations in SH3BP2, the cherubism gene, were not detected in central or peripheral giant cell tumours of the jaw*. Br J Oral Maxillofac Surg, 2008. **46**(3): p. 229-30.
67. Sadri, D., et al., *Quantitative analysis of argyrophilic nuclear organizer regions in giant cell lesions of jaws*. J Oral Pathol Med, 2010. **39**(5): p. 431-4.
68. Carvalho, V.M., et al., *Novel mutations in the SH3BP2 gene associated with sporadic central giant cell lesions and cherubism*. Oral Dis, 2009. **15**(1): p. 106-10.
69. Amaral, F.R., et al., *NFATc1 and TNFalpha expression in giant cell lesions of the jaws*. J Oral Pathol Med, 2010. **39**(3): p. 269-74.
70. Amaral, F.R., et al., *Clonality analysis of giant cell lesions of the jaws*. Braz Dent J, 2010. **21**(4): p. 361-4.
71. Csillag, A., et al., *A central giant cell granuloma influenced by pregnancy*. Dentomaxillofac Radiol, 1997. **26**(6): p. 357-60.
72. O'Regan, E.M., D.H. Gibb, and E.W. Odell, *Rapid growth of giant cell granuloma in pregnancy treated with calcitonin*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2001. **92**(5): p. 532-8.
73. Whitaker, S.B. and J.E. Bouquot, *Estrogen and progesterone receptor status of central giant cell lesions of the jaws*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1994. **77**(6): p. 641-4.
74. Kamel, A. and T.M. Elsharkawy, *Estrogen receptor proteins in peripheral and central giant cell granulomas of the jaws*. Egypt Dent J, 1995. **41**(3): p. 1243-6.
75. Ravi, S.B., et al., *Collision lesion of mandible--coexistence of keratocystic odontogenic tumor with central giant cell granuloma: a rare case report*. J Contemp Dent Pract, 2013. **14**(2): p. 355-9.

76. Farzaneh, A.H. and P.M. Pardis, *Central giant cell granuloma and fibrous dysplasia occurring in the same jaw*. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2005. **10 Suppl 2**: p. E130-2.
77. Odell, E.W., et al., *Hybrid central giant cell granuloma and central odontogenic fibroma-like lesions of the jaws*. Histopathology, 1997. **30**(2): p. 165-71.
78. Allen, C.M., H.L. Hammond, and P.G. Stimson, *Central odontogenic fibroma, WHO type. A report of three cases with an unusual associated giant cell reaction*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1992. **73**(1): p. 62-6.
79. Kawakami, T., M. Antoh, and T. Minemura, *Giant cell reaction to ameloblastoma: an immunohistochemical and ultrastructural study of a case*. J Oral Maxillofac Surg, 1989. **47**(7): p. 737-41.
80. Sankaranarayanan, S., et al., *"Hybrid" lesion of the maxilla*. J Oral Maxillofac Pathol, 2011. **15**(3): p. 299-302.
81. Kransdorf, M.J. and D.E. Sweet, *Aneurysmal bone cyst: concept, controversy, clinical presentation, and imaging*. AJR Am J Roentgenol, 1995. **164**(3): p. 573-80.
82. Sun, Z.J., et al., *Aneurysmal bone cysts of the jaws*. Int J Surg Pathol, 2009. **17**(4): p. 311-22.
83. Radcliffe, A. and I. Friedmann, *Reparative giant-cell granuloma of the jaw*. Br J Surg, 1957. **45**(189): p. 50-4.
84. Auclair, P.L., et al., *A clinical and histomorphologic comparison of the central giant cell granuloma and the giant cell tumor*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1988. **66**(2): p. 197-208.
85. Schlorf, R.A. and S.H. Koop, *Maxillary giant cell reparative granuloma*. Laryngoscope, 1977. **87**(1): p. 10-7.
86. Neville, B.W., Damm D. D., Allen C. M., Bouquot J. E., *Oral and Maxillofacial Pathology*. Third ed2009: Saunders, Elsevier Inc. 626-629.
87. de Lange, J., H.P. van den Akker, and H. van den Berg, *Central giant cell granuloma of the jaw: a review of the literature with emphasis on therapy options*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2007. **104**(5): p. 603-15.
88. Sabanas, A.O., et al., *Postradiation sarcoma of bone*. Cancer, 1956. **9**(3): p. 528-42.
89. Forte, V., et al., *Recurring giant-cell granuloma at the site of previous radiation therapy*. J Otolaryngol, 1990. **19**(4): p. 285-7.
90. Rawashdeh, M.A., A.B. Bataineh, and T. Al-Khateeb, *Long-term clinical and radiological outcomes of surgical management of central giant cell granuloma of the maxilla*. Int J Oral Maxillofac Surg, 2006. **35**(1): p. 60-6.
91. Bataineh, A.B., T. Al-Khateeb, and M.A. Rawashdeh, *The surgical treatment of central giant cell granuloma of the mandible*. J Oral Maxillofac Surg, 2002. **60**(7): p. 756-61.
92. Roberts, J., C. Shores, and A.S. Rose, *Surgical treatment is warranted in aggressive central giant cell granuloma: a report of 2 cases*. Ear Nose Throat J, 2009. **88**(3): p. E8-E13.
93. Eckardt, A., et al., *Central giant cell granulomas of the jaws. Nuclear DNA analysis using image cytometry*. Int J Oral Maxillofac Surg, 1989. **18**(1): p. 3-6.
94. Matos, F.R., et al., *Immunoexpression of MMP-9, VEGF, and vWF in central and peripheral giant cell lesions of the jaws*. J Oral Pathol Med, 2011. **40**(4): p. 338-44.
95. Whitaker, S.B., et al., *Giant cell lesions of the jaws: evaluation of nucleolar organizer regions in lesions of varying behavior*. J Oral Pathol Med, 1993. **22**(9): p. 402-5.
96. O'Malley, M., et al., *Central giant cell granulomas of the jaws: phenotype and proliferation-associated markers*. J Oral Pathol Med, 1997. **26**(4): p. 159-63.
97. Kauzman, A., et al., *Central giant cell granuloma of the jaws: assessment of cell cycle proteins*. J Oral Pathol Med, 2004. **33**(3): p. 170-6.

98. Carinci, F., et al., *Genetic profiling of central giant cell granuloma of the jaws*. J Craniofac Surg, 2005. **16**(3): p. 399-407.
99. Kermer, C., W. Millesi, and I.M. Watzke, *Local injection of corticosteroids for central giant cell granuloma. A case report*. Int J Oral Maxillofac Surg, 1994. **23**(6 Pt 1): p. 366-8.
100. Adornato, M.C. and K.A. Patcoff, *Intralesional corticosteroid injection for treatment of central giant-cell granuloma*. J Am Dent Assoc, 2001. **132**(2): p. 186-90.
101. Rajeevan, N.S. and C.S. Soumithran, *Intralesional corticosteroid injection for central giant cell granuloma. A case report*. Int J Oral Maxillofac Surg, 1998. **27**(4): p. 303-4.
102. Carlos, R. and H.O. Sedano, *Intralesional corticosteroids as an alternative treatment for central giant cell granuloma*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2002. **93**(2): p. 161-6.
103. Comert, E., M. Turanli, and S. Ulu, *Oral and intralesional steroid therapy in giant cell granuloma*. Acta Otolaryngol, 2006. **126**(6): p. 664-6.
104. Kurtz, M., M. Mesa, and P. Alberto, *Treatment of a central giant cell lesion of the mandible with intralesional glucocorticosteroids*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2001. **91**(6): p. 636-7.
105. Nogueira, R.L., et al., *Intralesional injection of triamcinolone hexacetonide as an alternative treatment for central giant-cell granuloma in 21 cases*. Int J Oral Maxillofac Surg, 2010. **39**(12): p. 1204-10.
106. Tobon-Arroyave, S.I., et al., *Immunohistochemical expression of RANK, GR α and CTR in central giant cell granuloma of the jaws*. Oral Oncol, 2005. **41**(5): p. 480-8.
107. Harris, M., *Central giant cell granulomas of the jaws regress with calcitonin therapy*. Br J Oral Maxillofac Surg, 1993. **31**(2): p. 89-94.
108. Pogrel, M.A., *Calcitonin therapy for central giant cell granuloma*. J Oral Maxillofac Surg, 2003. **61**(6): p. 649-53; discussion 53-4.
109. Pogrel, M.A., et al., *Calcitonin treatment for central giant cell granulomas of the mandible: report of two cases*. J Oral Maxillofac Surg, 1999. **57**(7): p. 848-53.
110. de Lange, J., et al., *Treatment of central giant cell granuloma of the jaw with calcitonin*. Int J Oral Maxillofac Surg, 1999. **28**(5): p. 372-6.
111. de Lange, J., et al., *Calcitonin therapy in central giant cell granuloma of the jaw: a randomized double-blind placebo-controlled study*. Int J Oral Maxillofac Surg, 2006. **35**(9): p. 791-5.
112. Borges, H.O., et al., *Calcitonin: a non-invasive giant cells therapy*. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2008. **72**(7): p. 959-63.
113. Allon, D.M., Y. Anavi, and S. Calderon, *Central giant cell lesion of the jaw: nonsurgical treatment with calcitonin nasal spray*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009. **107**(6): p. 811-8.
114. Vered, M., A. Buchner, and D. Dayan, *Immunohistochemical expression of glucocorticoid and calcitonin receptors as a tool for selecting therapeutic approach in central giant cell granuloma of the jawbones*. Int J Oral Maxillofac Surg, 2006. **35**(8): p. 756-60.
115. Kaban, L.B., et al., *Antiangiogenic therapy of a recurrent giant cell tumor of the mandible with interferon alfa-2a*. Pediatrics, 1999. **103**(6 Pt 1): p. 1145-9.
116. Kaban, L.B., et al., *Antiangiogenic therapy with interferon alpha for giant cell lesions of the jaws*. J Oral Maxillofac Surg, 2002. **60**(10): p. 1103-11; discussion 1111-3.
117. Goldman, K.E., et al., *Complications of alpha-interferon therapy for aggressive central giant cell lesion of the maxilla*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2005. **100**(3): p. 285-91.

118. de Lange, J., et al., *Limited regression of central giant cell granuloma by interferon alpha after failed calcitonin therapy: a report of 2 cases*. Int J Oral Maxillofac Surg, 2006. **35**(9): p. 865-9.
119. Burgess, T.L., et al., *The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts*. J Cell Biol, 1999. **145**(3): p. 527-38.
120. Bekker, P.J., et al., *The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women*. J Bone Miner Res, 2001. **16**(2): p. 348-60.
121. Bekker, P.J., et al., *A single-dose placebo-controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women*. J Bone Miner Res, 2004. **19**(7): p. 1059-66.
122. Dewar, A.L., et al., *Imatinib as a potential antiresorptive therapy for bone disease*. Blood, 2006. **107**(11): p. 4334-7.
123. Bernier, J.L. and L.R. Cahn, *The peripheral giant cell reparative granuloma*. J Am Dent Assoc, 1954. **49**(2): p. 141-8.
124. Kfir, Y., A. Buchner, and L.S. Hansen, *Reactive lesions of the gingiva. A clinicopathological study of 741 cases*. J Periodontol, 1980. **51**(11): p. 655-61.
125. Macleod, R.I. and J.V. Soames, *Epulides: a clinicopathological study of a series of 200 consecutive lesions*. Br Dent J, 1987. **163**(2): p. 51-3.
126. Daley, T.D., et al., *The major epulides: clinicopathological correlations*. J Can Dent Assoc, 1990. **56**(7): p. 627-30.
127. Zarei, M.R., G. Chamani, and S. Amanpoor, *Reactive hyperplasia of the oral cavity in Kerman province, Iran: a review of 172 cases*. Br J Oral Maxillofac Surg, 2007. **45**(4): p. 288-92.
128. Ala Aghbali, A., et al., *Reactive hyperplasia of the oral cavity: a survey of 197 cases in tabriz, northwest iran*. J Dent Res Dent Clin Dent Prospects, 2010. **4**(3): p. 87-9.
129. Amirchaghmaghi, M., et al., *Survey of reactive hyperplastic lesions of the oral cavity in mashhad, northeast iran*. J Dent Res Dent Clin Dent Prospects, 2011. **5**(4): p. 128-31.
130. Mighell, A.J., P.A. Robinson, and W.J. Hume, *Peripheral giant cell granuloma: a clinical study of 77 cases from 62 patients, and literature review*. Oral Dis, 1995. **1**(1): p. 12-9.
131. Katsikeris, N., E. Kakarantza-Angelopoulou, and A.P. Angelopoulos, *Peripheral giant cell granuloma. Clinicopathologic study of 224 new cases and review of 956 reported cases*. Int J Oral Maxillofac Surg, 1988. **17**(2): p. 94-9.
132. Bhaskar, S.N., et al., *Giant cell reparative granuloma (peripheral): report of 50 cases*. J Oral Surg, 1971. **29**(2): p. 110-5.
133. Shadman, N., et al., *Peripheral giant cell granuloma: a review of 123 cases*. Dent Res J (Isfahan), 2009. **6**(1): p. 47-50.
134. Χούπης Κ, Μ.Σ., Τιτσινίδης Σ, *Γιγαντοκυτταρικό κοκκίωμα: Κλινικοπαθολογική μελέτη 465 περιπτώσεων*. Στοματολογία, 2008. **65**(1): p. 23-31.
135. Bhaskar, S.N., *Oral Tumors of Infancy and Childhood. A Survey of 293 Cases*. J Pediatr, 1963. **63**: p. 195-210.
136. Jones, J.H., *Soft tissue oral tumours in children: their structure, histogenesis and behaviour*. Proc R Soc Med, 1966. **59**(7): p. 673-80.
137. Grand, E., et al., *Post-traumatic development of a peripheral giant cell granuloma in a child*. Dent Traumatol, 2008. **24**(1): p. 124-6.
138. Flaitz, C.M., *Peripheral giant cell granuloma: a potentially aggressive lesion in children*. Pediatr Dent, 2000. **22**(3): p. 232-3.
139. Pandolfi, P.J., et al., *An aggressive peripheral giant cell granuloma in a child*. J Clin Pediatr Dent, 1999. **23**(4): p. 353-5.

140. Gandara-Rey, J.M., et al., *Peripheral giant-cell granuloma. Review of 13 cases*. Med Oral, 2002. **7**(4): p. 254-9.
141. Bodner, L., et al., *Growth potential of peripheral giant cell granuloma*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 1997. **83**(5): p. 548-51.
142. Caillouette, J.C. and N. Mattar, *Massive peripheral giant-cell reparative granuloma of the jaw: a pregnancy dependent tumor*. Am J Obstet Gynecol, 1978. **131**(2): p. 176-9.
143. Daley, T.D., N.O. Nartey, and G.P. Wysocki, *Pregnancy tumor: an analysis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1991. **72**(2): p. 196-9.
144. Gunhan, M., et al., *Estrogen and progesterone receptors in the peripheral giant cell granulomas of the oral cavity*. J Oral Sci, 1998. **40**(2): p. 57-60.
145. Anneroth, G. and A. Sigurdson, *Hyperplastic lesions of the gingiva and alveolar mucosa. A study of 175 cases*. Acta Odontol Scand, 1983. **41**(2): p. 75-86.
146. Wolfson, L., H. Tal, and S. Covo, *Peripheral giant cell granuloma during orthodontic treatment*. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 1989. **96**(6): p. 519-23.
147. Nedir, R., T. Lombardi, and J. Samson, *Recurrent peripheral giant cell granuloma associated with cervical resorption*. J Periodontol, 1997. **68**(4): p. 381-4.
148. Warrington, R.D., D.J. Reese, and G. Allen, *The peripheral giant cell granuloma*. Gen Dent, 1997. **45**(6): p. 577-9.
149. Dayan, D., A. Buchner, and S. Spirer, *Bone formation in peripheral giant cell granuloma*. J Periodontol, 1990. **61**(7): p. 444-6.
150. Neville, B.W., Damm D. D., Allen C. M., Bouquot J. E., *Oral and Maxillofacial Pathology*. Third ed2009: Saunder, Elsevier Inc.
151. Hirshberg, A. and A. Buchner, *Metastatic tumours to the oral region. An overview*. Eur J Cancer B Oral Oncol, 1995. **31B**(6): p. 355-60.
152. Sorensen, H., *Giant-cell epulis; analysis of 26 cases*. J Laryngol Otol, 1958. **72**(7): p. 546-57.
153. Giansanti, J.S. and C.A. Waldron, *Peripheral giant cell granuloma: review of 720 cases*. J Oral Surg, 1969. **27**(10): p. 787-91.
154. Chaparro-Avendano, A.V., L. Berini-Aytes, and C. Gay-Escoda, *Peripheral giant cell granuloma. A report of five cases and review of the literature*. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2005. **10**(1): p. 53-7; 48-52.
155. Lev, R., et al., *Esthetic treatment of peripheral giant cell granuloma using a subepithelial connective tissue graft and a split-thickness pouch technique*. J Periodontol, 2010. **81**(7): p. 1092-8.
156. Peters, H. and R. Balling, *Teeth. Where and how to make them*. Trends Genet, 1999. **15**(2): p. 59-65.
157. Mina, M. and E.J. Kollar, *The induction of odontogenesis in non-dental mesenchyme combined with early murine mandibular arch epithelium*. Arch Oral Biol, 1987. **32**(2): p. 123-7.
158. Kollar, E.J. and C. Fisher, *Tooth induction in chick epithelium: expression of quiescent genes for enamel synthesis*. Science, 1980. **207**(4434): p. 993-5.
159. Kapadia, H., G. Mues, and R. D'Souza, *Genes affecting tooth morphogenesis*. Orthod Craniofac Res, 2007. **10**(4): p. 237-44.
160. Kulkarni, M., T. Agrawal, and S. Kheur, *Tooth agenesis: newer concept*. J Clin Pediatr Dent, 2011. **36**(1): p. 65-9.
161. Neubuser, A., et al., *Antagonistic interactions between FGF and BMP signaling pathways: a mechanism for positioning the sites of tooth formation*. Cell, 1997. **90**(2): p. 247-55.
162. Bei, M., *Molecular genetics of tooth development*. Curr Opin Genet Dev, 2009. **19**(5): p. 504-10.

163. Jernvall, J. and I. Thesleff, *Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis*. Mech Dev, 2000. **92**(1): p. 19-29.
164. Gans, C. and R.G. Northcutt, *Neural crest and the origin of vertebrates: a new head*. Science, 1983. **220**(4594): p. 268-73.
165. Donoghue, P.C., A. Graham, and R.N. Kelsh, *The origin and evolution of the neural crest*. Bioessays, 2008. **30**(6): p. 530-41.
166. Hall, B.K., *The neural crest and neural crest cells: discovery and significance for theories of embryonic organization*. J Biosci, 2008. **33**(5): p. 781-93.
167. Sharpe, P.T., *Neural crest and tooth morphogenesis*. Adv Dent Res, 2001. **15**: p. 4-7.
168. Benito-Gutierrez, E., *A gene catalogue of the amphioxus nervous system*. Int J Biol Sci, 2006. **2**(3): p. 149-60.
169. Meulemans, D. and M. Bronner-Fraser, *Gene-regulatory interactions in neural crest evolution and development*. Dev Cell, 2004. **7**(3): p. 291-9.
170. Thompson, J.A. and M. Ziman, *Pax genes during neural development and their potential role in neuroregeneration*. Prog Neurobiol, 2011. **95**(3): p. 334-51.
171. Peters, H., A. Neubuser, and R. Balling, *Pax genes and organogenesis: Pax9 meets tooth development*. Eur J Oral Sci, 1998. **106 Suppl 1**: p. 38-43.
172. Nakatomi, M., et al., *Genetic interactions between Pax9 and Msx1 regulate lip development and several stages of tooth morphogenesis*. Dev Biol, 2010. **340**(2): p. 438-49.
173. Wang, Q., et al., *Pax genes in embryogenesis and oncogenesis*. J Cell Mol Med, 2008. **12**(6A): p. 2281-94.
174. Lin, D., et al., *Expression survey of genes critical for tooth development in the human embryonic tooth germ*. Dev Dyn, 2007. **236**(5): p. 1307-12.
175. Peters, H., et al., *Pax9-deficient mice lack pharyngeal pouch derivatives and teeth and exhibit craniofacial and limb abnormalities*. Genes Dev, 1998. **12**(17): p. 2735-47.
176. Chen, Y., et al., *Msx1 controls inductive signaling in mammalian tooth morphogenesis*. Development, 1996. **122**(10): p. 3035-44.
177. Bei, M., K. Kratochwil, and R.L. Maas, *BMP4 rescues a non-cell-autonomous function of Msx1 in tooth development*. Development, 2000. **127**(21): p. 4711-8.
178. Boeira Junior, B.R. and S. Echeverrigaray, *Dentistry and molecular biology: a promising field for tooth agenesis management*. Tohoku J Exp Med, 2012. **226**(4): p. 243-9.
179. Ogawa, T., et al., *Studies on Pax9-Msx1 protein interactions*. Arch Oral Biol, 2005. **50**(2): p. 141-5.
180. Ogawa, T., et al., *Functional consequences of interactions between Pax9 and Msx1 genes in normal and abnormal tooth development*. J Biol Chem, 2006. **281**(27): p. 18363-9.
181. Sasaki, Y., et al., *Temporal and spatial expression of Pax9 and Sonic hedgehog during development of normal mouse palates and cleft palates in TGF-beta3 null embryos*. Arch Oral Biol, 2007. **52**(3): p. 260-7.
182. Kingsley, D.M., *What do BMPs do in mammals? Clues from the mouse short-ear mutation*. Trends Genet, 1994. **10**(1): p. 16-21.
183. Wagner, D.O., et al., *BMPs: from bone to body morphogenetic proteins*. Sci Signal, 2010. **3**(107): p. mr1.
184. Bragdon, B., et al., *Bone morphogenetic proteins: a critical review*. Cell Signal, 2011. **23**(4): p. 609-20.
185. Wozney, J.M., et al., *Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities*. Science, 1988. **242**(4885): p. 1528-34.

186. Okamoto, M., et al., *Bone morphogenetic proteins in bone stimulate osteoclasts and osteoblasts during bone development*. J Bone Miner Res, 2006. **21**(7): p. 1022-33.
187. Zhao, M., et al., *Bone morphogenetic protein receptor signaling is necessary for normal murine postnatal bone formation*. J Cell Biol, 2002. **157**(6): p. 1049-60.
188. Kaneko, H., et al., *Direct stimulation of osteoclastic bone resorption by bone morphogenetic protein (BMP)-2 and expression of BMP receptors in mature osteoclasts*. Bone, 2000. **27**(4): p. 479-86.
189. Itoh, K., et al., *Bone morphogenetic protein 2 stimulates osteoclast differentiation and survival supported by receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand*. Endocrinology, 2001. **142**(8): p. 3656-62.
190. Kanatani, M., et al., *Stimulatory effect of bone morphogenetic protein-2 on osteoclast-like cell formation and bone-resorbing activity*. J Bone Miner Res, 1995. **10**(11): p. 1681-90.
191. Boyle, W.J., W.S. Simonet, and D.L. Lacey, *Osteoclast differentiation and activation*. Nature, 2003. **423**(6937): p. 337-42.
192. Wan, M., et al., *Transcriptional mechanisms of bone morphogenetic protein-induced osteoprotegrin gene expression*. J Biol Chem, 2001. **276**(13): p. 10119-25.
193. McCullough, K.A., et al., *Immunohistochemical localization of bone morphogenetic proteins (BMPs) 2, 4, 6, and 7 during induced heterotopic bone formation*. J Orthop Res, 2007. **25**(4): p. 465-72.
194. Pereira, R.C., S. Rydziel, and E. Canalis, *Bone morphogenetic protein-4 regulates its own expression in cultured osteoblasts*. J Cell Physiol, 2000. **182**(2): p. 239-46.
195. Canalis, E., A.N. Economides, and E. Gasserro, *Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton*. Endocr Rev, 2003. **24**(2): p. 218-35.
196. Abe, E., et al., *Essential requirement of BMPs-2/4 for both osteoblast and osteoclast formation in murine bone marrow cultures from adult mice: antagonism by noggin*. J Bone Miner Res, 2000. **15**(4): p. 663-73.
197. Komori, T., et al., *Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts*. Cell, 1997. **89**(5): p. 755-64.
198. Jilka, R.L., et al., *Linkage of decreased bone mass with impaired osteoblastogenesis in a murine model of accelerated senescence*. J Clin Invest, 1996. **97**(7): p. 1732-40.
199. Winnier, G., et al., *Bone morphogenetic protein-4 is required for mesoderm formation and patterning in the mouse*. Genes Dev, 1995. **9**(17): p. 2105-16.
200. Liu, W., et al., *Threshold-specific requirements for Bmp4 in mandibular development*. Dev Biol, 2005. **283**(2): p. 282-93.
201. Merrill, A.E., et al., *Mesenchyme-dependent BMP signaling directs the timing of mandibular osteogenesis*. Development, 2008. **135**(7): p. 1223-34.
202. Nie, X., K. Luukko, and P. Kettunen, *BMP signalling in craniofacial development*. Int J Dev Biol, 2006. **50**(6): p. 511-21.
203. Araujo, T.K., et al., *Preliminary Analysis of the Nonsynonymous Polymorphism rs17563 in BMP4 Gene in Brazilian Population Suggests Protection for Nonsyndromic Cleft Lip and Palate*. Plast Surg Int, 2012. **2012**: p. 247104.
204. Kirker-Head, C.A., et al., *Long-term healing of bone using recombinant human bone morphogenetic protein 2*. Clin Orthop Relat Res, 1995(318): p. 222-30.
205. Xu, T., et al., *Bone morphogenetic protein-4-induced epithelial-mesenchymal transition and invasiveness through Smad1-mediated signal pathway in squamous cell carcinoma of the head and neck*. Arch Med Res, 2011. **42**(2): p. 128-37.
206. Gao, Y.H., L.J. Yang, and A. Yamaguchi, *Immunohistochemical demonstration of bone morphogenetic protein in odontogenic tumors*. J Oral Pathol Med, 1997. **26**(6): p. 273-7.

207. Tabata, M.J., et al., *Bone morphogenetic protein 4 is involved in cusp formation in molar tooth germ of mice*. Eur J Oral Sci, 2002. **110**(2): p. 114-20.
208. Maas, R. and M. Bei, *The genetic control of early tooth development*. Crit Rev Oral Biol Med, 1997. **8**(1): p. 4-39.
209. St Amand, T.R., et al., *Antagonistic signals between BMP4 and FGF8 define the expression of Pitx1 and Pitx2 in mouse tooth-forming anlage*. Dev Biol, 2000. **217**(2): p. 323-32.
210. Tucker, A.S., K.L. Matthews, and P.T. Sharpe, *Transformation of tooth type induced by inhibition of BMP signaling*. Science, 1998. **282**(5391): p. 1136-8.
211. Wang, Y., et al., *BMP activity is required for tooth development from the lamina to bud stage*. J Dent Res, 2012. **91**(7): p. 690-5.
212. Vainio, S., et al., *Identification of BMP-4 as a signal mediating secondary induction between epithelial and mesenchymal tissues during early tooth development*. Cell, 1993. **75**(1): p. 45-58.
213. Vaahtokari, A., et al., *The enamel knot as a signaling center in the developing mouse tooth*. Mech Dev, 1996. **54**(1): p. 39-43.
214. Laurikkala, J., et al., *Identification of a secreted BMP antagonist, ectodin, integrating BMP, FGF, and SHH signals from the tooth enamel knot*. Dev Biol, 2003. **264**(1): p. 91-105.
215. Jernvall, J., et al., *The life history of an embryonic signaling center: BMP-4 induces p21 and is associated with apoptosis in the mouse tooth enamel knot*. Development, 1998. **125**(2): p. 161-9.
216. Gu, K., R.H. Smoke, and R.B. Rutherford, *Expression of genes for bone morphogenetic proteins and receptors in human dental pulp*. Arch Oral Biol, 1996. **41**(10): p. 919-23.
217. Komaki, M., et al., *Twist negatively regulates osteoblastic differentiation in human periodontal ligament cells*. J Cell Biochem, 2007. **100**(2): p. 303-14.
218. Saito, Y., et al., *A cell line with characteristics of the periodontal ligament fibroblasts is negatively regulated for mineralization and Runx2/Cbfa1/Osf2 activity, part of which can be overcome by bone morphogenetic protein-2*. J Cell Sci, 2002. **115**(Pt 21): p. 4191-200.
219. Yang, L., et al., *Effects of adenoviral-mediated coexpression of bone morphogenetic protein-7 and insulin-like growth factor-1 on human periodontal ligament cells*. J Periodontal Res, 2010. **45**(4): p. 532-40.
220. Hosoya, A., et al., *BMP4 signaling regulates formation of Hertwig's epithelial root sheath during tooth root development*. Cell Tissue Res, 2008. **333**(3): p. 503-9.
221. Tucker, A.S., A. Al Khamis, and P.T. Sharpe, *Interactions between Bmp-4 and Msx-1 act to restrict gene expression to odontogenic mesenchyme*. Dev Dyn, 1998. **212**(4): p. 533-9.
222. Gong, S.G. and C. Guo, *Bmp4 gene is expressed at the putative site of fusion in the midfacial region*. Differentiation, 2003. **71**(3): p. 228-36.
223. Nakase, T. and H. Yoshikawa, *Potential roles of bone morphogenetic proteins (BMPs) in skeletal repair and regeneration*. J Bone Miner Metab, 2006. **24**(6): p. 425-33.
224. Miah, S.M., et al., *Point mutations of 3BP2 identified in human-inherited disease cherubism result in the loss of function*. Genes Cells, 2004. **9**(11): p. 993-1004.
225. Gerber, J.K., et al., *Progressive loss of PAX9 expression correlates with increasing malignancy of dysplastic and cancerous epithelium of the human oesophagus*. J Pathol, 2002. **197**(3): p. 293-7.
226. Remmele, W. and H.E. Stegner, *[Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]*. Pathologe, 1987. **8**(3): p. 138-40.

227. Alarmo, E.L., et al., *Bone morphogenetic protein 4 expression in multiple normal and tumor tissues reveals its importance beyond development*. Mod Pathol, 2013. **26**(1): p. 10-21.
228. Hadjidakis, D.J. and Androulakis, I., *Bone remodeling*. Ann N Y Acad Sci, 2006. **1092**: p. 385-96.
229. Αγγελόπουλος Α.Π., Π.Σ., Αγγελοπούλου Ε., *Σύγχρονη Στοματική & Γναθοπροσωπική Παθολογία*. 3η έκδοση ed2000: Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσα.
230. Bar-Shavit, Z., *The osteoclast: a multinucleated, hematopoietic-origin, bone-resorbing osteoimmune cell*. J Cell Biochem, 2007. **102**(5): p. 1130-9.
231. Mashhadi Abbas, F., et al., *Expression of odontogenic genes in human bone marrow mesenchymal stem cells*. Cell J, 2013. **15**(2): p. 136-41.
232. Orestes-Cardoso, S., et al., *Msx1 is a regulator of bone formation during development and postnatal growth: in vivo investigations in a transgenic mouse model*. Connect Tissue Res, 2002. **43**(2-3): p. 153-60.
233. Shames, D.S., et al., *A genome-wide screen for promoter methylation in lung cancer identifies novel methylation markers for multiple malignancies*. PLoS Med, 2006. **3**(12): p. e486.
234. Chang, Y.T., et al., *Expression of the caudal-type homeodomain transcription factor CDX2 is related to clinical outcome in biliary tract carcinoma*. J Gastroenterol Hepatol, 2007. **22**(3): p. 389-94.
235. Takahashi, O., et al., *Dysregulated expression of HOX and ParaHOX genes in human esophageal squamous cell carcinoma*. Oncol Rep, 2007. **17**(4): p. 753-60.
236. Muratovska, A., et al., *Paired-Box genes are frequently expressed in cancer and often required for cancer cell survival*. Oncogene, 2003. **22**(39): p. 7989-97.
237. Yazaki, Y., et al., *Immunohistochemical localization of bone morphogenetic proteins and the receptors in epiphyseal growth plate*. Anticancer Res, 1998. **18**(4A): p. 2339-44.
238. Kudo, N., et al., *Expression of bone morphogenetic proteins in giant cell tumor of bone*. Anticancer Res, 2009. **29**(6): p. 2219-25.
239. Ono, A., et al., *An immunohistochemical evaluation of BMP-2, -4, osteopontin, osteocalcin and PCNA between ossifying fibromas of the jaws and peripheral cemento-ossifying fibromas on the gingiva*. Oral Oncol, 2007. **43**(4): p. 339-44.
240. Aberg, T., J. Wozney, and I. Thesleff, *Expression patterns of bone morphogenetic proteins (Bmps) in the developing mouse tooth suggest roles in morphogenesis and cell differentiation*. Dev Dyn, 1997. **210**(4): p. 383-96.
241. Kim, S.G., et al., *The differential expression pattern of BMP-4 between the dentigerous cyst and the odontogenic keratocyst*. J Oral Pathol Med, 2005. **34**(3): p. 178-83.
242. Kumamoto, H. and K. Ooya, *Expression of bone morphogenetic proteins and their associated molecules in ameloblastomas and adenomatoid odontogenic tumors*. Oral Dis, 2006. **12**(2): p. 163-70.
243. Laitinen, M., et al., *Measurement of total and local bone morphogenetic protein concentration in bone tumours*. Int Orthop, 1997. **21**(3): p. 188-93.
244. Ivanovski, S., et al., *Expression of bone associated macromolecules by gingival and periodontal ligament fibroblasts*. J Periodontal Res, 2001. **36**(3): p. 131-41.
245. Khanal, A., et al., *The BMP signaling and its Smads in mandibular distraction osteogenesis*. Oral Dis, 2008. **14**(4): p. 347-55.
246. Chen, J., et al., *Wnt/beta-catenin signaling plays an essential role in activation of odontogenic mesenchyme during early tooth development*. Dev Biol, 2009. **334**(1): p. 174-85.

- 247. Peng, L., et al., *Expression of Wnt5a in tooth germs and the related signal transduction analysis*. Arch Oral Biol, 2010. **55**(2): p. 108-14.
- 248. Fujita, S., K. Hideshima, and T. Ikeda, *Nestin expression in odontoblasts and odontogenic ectomesenchymal tissue of odontogenic tumours*. J Clin Pathol, 2006. **59**(3): p. 240-5.
- 249. Karg, H., et al., *Spatiotemporal expression of the homeobox gene S8 during mouse tooth development*. Arch Oral Biol, 1997. **42**(9): p. 625-31.
- 250. Xiao, L. and T. Tsutsui, *Three-dimensional epithelial and mesenchymal cell co-cultures form early tooth epithelium invagination-like structures: expression patterns of relevant molecules*. J Cell Biochem, 2012. **113**(6): p. 1875-85.