

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΟΔΟΝΤΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ ΣΤΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΩΝ
ΜΟΡΙΩΝ BMP4 ΚΑΙ FOXN1 ΣΕ ΟΔΟΝΤΟΓΕΝΕΙΣ ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΣΤΕΙΣ
ΚΑΙ ΟΡΘΟΚΕΡΑΤΙΝΟΠΟΙΗΜΕΝΕΣ ΟΔΟΝΤΟΓΕΝΕΙΣ ΚΥΣΤΕΙΣ**

ΘΕΡΜΟΣ Α. ΓΡΗΓΟΡΙΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2021

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

Τριμελής επιτροπή

1. Τόσιος Κων/νος
2. Πιπέρη Ευαγγελία
3. Νικητάκης Νικόλαος

“... ”

*Πολεμώ να θυμούμαι τα όνειρα, γιατί αυτά πάντα στάθηκαν μεγάλη βοήθεια στην
ξύπνια ζωή μου”-Νίκος Καζαντζάκης*

Στην οικογένεια μου-γονείς, αδελφές και ανήψια

Στους φίλους μου

Στους «συνοδοιπόρους» μου στο ταξίδι του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών

Στους δάσκαλους και καθηγητές μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	7
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	12
I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	18
1. ΟΔΟΝΤΟΓΕΝΗΣ ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΣΤΗ	20
1.1 Ορισμός.....	20
1.2 Ιστορική αναδρομή και ονοματολογία.....	20
1.3 Ταξινόμησεις κατά τον WHO.....	22
1.4 Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά.....	23
1.4.1 Συχνότητα.....	23
1.4.2 Φύλο και ηλικία.....	24
1.5 Κλινικά χαρακτηριστικά.....	25
1.5.1 ΟΚΚ και Σύνδρομο Σπιλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων (ΣΣΒΚ- Nevoid Basal cell carcinoma syndrome, Gorlin-Goltz Syndrome).....	26
1.6 Ακτινογραφικά χαρακτηριστικά.....	30
1.7 Ιστολογικά χαρακτηριστικά.....	33
1.8 Θεραπεία.....	37
1.9 Αιτιοπαθογένεια.....	39
1.9.1 Προέλευση.....	39
1.9.2 Το σηματοδοτικό μονοπάτι SHH και η παθογένεση της ΟΚΚ.....	42
1.9.3 Γενετικές ή επιγενετικές τροποποιήσεις και έρευνες γονιδιώματος/μεταγραφώματος στην ΟΚΚ.....	45
2. ΟΡΘΟΚΕΡΑΤΙΝΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΟΔΟΝΤΟΓΕΝΗΣ ΚΥΣΤΗ	46
2.1 Ορισμός.....	46
2.2 Ιστορική αναδρομή και ονοματολογία.....	46
2.3 Ταξινόμησεις κατά τον WHO.....	47
2.4 Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά.....	48
2.4.1 Συχνότητα.....	48
2.4.2 Φύλο και ηλικία.....	48
2.5 Κλινικά χαρακτηριστικά.....	49
2.6 Ακτινογραφικά χαρακτηριστικά.....	51
2.7 Ιστολογικά χαρακτηριστικά.....	52
2.8 Θεραπεία.....	55
2.9 Αιτιοπαθογένεια.....	56
3. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΟΚΚ ΜΕ ΟΟΚ	59
3.1 Επιμέρους διαφορές και ομοιότητες ΟΚΚ/ΟΟΚ.....	59
3.2 Ερευνητικές μελέτες σύγκρισης ΟΚΚ/ΟΟΚ.....	62

4.ΜΟΡΦΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΤΟΥ ΟΣΤΟΥ 4 (BMP4)	71
4.1 Γενικά για τις BMPs.....	71
4.2 Δομή των BMPs	72
4.3 Ρύθμιση και μεταγωγή σήματος των BMPs.....	74
4.4 Αλληλεπίδραση με άλλα σηματοδοτικά μονοπάτια.....	75
4.5 Η BMP4 στην εμβρυογένεση.....	77
4.6 Η BMP4 στην οδοντογένεση.....	78
4.7 Η BMP4 σε παθολογικές καταστάσεις.....	82
4.8 Η BMP4 σε οδοντογενείς βλάβες και στην ΟΚΚ.....	84
4.9 Κλινικές/Θεραπευτικές εφαρμογές BMP4.....	86
5.ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ FORKHEAD BOX N1 (FOXN1)	87
5.1 Γενικά για τους Forkhead Box μεταγραφικούς παράγοντες.....	87
5.2 FOXN1-Εισαγωγικά στοιχεία.....	89
5.3 Δομή του μεταγραφικού παράγοντα FOXN1.....	90
5.4 FOXN1 και διάπλαση επιδερμίδας και τριχοθυλακίου.....	92
5.5 Αλληλεπίδραση με άλλα σηματοδοτικά μονοπάτια κατά την εμβρυογένεση.....	95
5.6 Ο FOXN1 σε παθολογικές καταστάσεις.....	98
5.7 Κλινικές/Θεραπευτικές εφαρμογές FOXN1.....	100
6.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΓΕΝΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ	101
7.ΥΠΟΘΕΣΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	102
II. ΣΚΟΠΟΣ	104
III. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	106
1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ	108
1.1 Υλικό μελέτης.....	108
1.2 Μέθοδος.....	110
1.2.1 Ανοσοϊστοχημική χρώση.....	110
1.2.1.2 Πρωτόκολλο ανοσοϊστοχημικής χρώσης.....	112
1.2.3 Αξιολόγηση ανοσοϊστοχημικής χρώσης.....	114
1.2.3.1 Θετικοί Μάρτυρες.....	114
1.2.3.2 Σύστημα αξιολόγησης ανοσοϊστοχημείας.....	114
1.2.3.3 Αυτοματοποιημένη αξιολόγηση του ποσοστού θετικών κυττάρων με πρόγραμμα ψηφιακής ανάλυσης εικόνας.....	116
1.3 Στατιστική ανάλυση.....	120
2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	123
2.1 Τελικό δείγμα μελέτης.....	123

2.1.1 Δημογραφικά και κλινικά στοιχεία δείγματος ΟΚΚ	123
2.1.2 Δημογραφικά και κλινικά στοιχεία δείγματος ΟΟΚ	126
2.1.3 Ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά ΟΚΚ και ΟΟΚ	129
2.2 Ανοσοϊστοχημική έκφραση BMP4	132
2.2.1 Ανοσοϊστοχημική έκφραση BMP4 σε ιστό-θετικό μάρτυρα	132
2.2.2 Ανοσοϊστοχημική έκφραση BMP4 σε ΟΚΚ	134
2.2.2.1 Έκφραση στο επιθήλιο	134
2.2.2.2 Έκφραση στο συνδετικό ιστό	136
2.2.3 Ανοσοϊστοχημική έκφραση BMP4 σε ΟΟΚ	138
2.2.3.1 Έκφραση στο επιθήλιο	138
2.2.3.2 Έκφραση στο συνδετικό ιστό	140
2.2.4 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα και σύγκριση ΟΚΚ-ΟΟΚ.....	141
2.2.5 Συσχέτιση έκφρασης BMP4 με επιμέρους κλινικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά ΟΚΚ/ΟΟΚ.....	146
2.2.5.1 Συσχέτιση με ιστολογικά ευρήματα τα οποία έχουν συσχετισθεί με υποτροπή σε ΟΚΚ.....	146
2.2.5.2 Συσχέτιση έκφρασης BMP4 με παρουσία έγκλειστου δοντιού σε ΟΟΚ	149
2.2.6 Συσχέτιση έκφρασης BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό	150
2.3 Ανοσοϊστοχημική έκφραση FOXN1	152
2.3.1 Ανοσοϊστοχημική έκφραση FOXN1 σε ιστό-θετικό μάρτυρα.....	152
2.3.2 Ανοσοϊστοχημική έκφραση FOXN1 σε ΟΚΚ.....	154
2.3.3 Ανοσοϊστοχημική έκφραση FOXN1 σε ΟΟΚ.....	156
2.3.4 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα και σύγκριση ΟΚΚ-ΟΟΚ.....	158
2.3.5 Συσχέτιση έκφρασης FOXN1 με επιμέρους κλινικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά ΟΚΚ/ΟΟΚ	162
2.3.5.1 Συσχέτιση με ιστολογικά ευρήματα που έχουν συσχετισθεί με υποτροπή σε ΟΚΚ	162
2.3.5.2 Συσχέτιση έκφρασης FOXN1 με παρουσία έγκλειστου δοντιού σε ΟΟΚ.....	165
2.3.6 Συσχέτιση έκφρασης FOXN1 με την έκφραση BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό	166
IV.ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	172
V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	198
VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	200
VII. ABSTRACT	203

VIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 206

IX. ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ 233

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η Οδοντογενής Κερατινοκύστη και η Ορθοκερατινοποιημένη Οδοντογενής κύστη αποτελούν δύο οδοντογενείς αναπτυξιακές κύστεις με μη επαρκώς εξακριβωμένη αιτιοπαθογένεια και κοινό χαρακτηριστικό την παραγωγή, διαφορετικού τύπου, κερατίνης στο επενδυτικό τους επιθήλιο. Αν και ξεκίνησαν μαζί την «πορεία» τους, ως δύο υπότυποι της ίδιας οντότητας, η επιστημονική πρόοδος κατέδειξε διαφορές σε αρκετά επίπεδα ανάμεσα στις δύο βλάβες, με κυριότερο την βιολογική τους συμπεριφορά. Είναι εύλογη, λοιπόν, η αναζήτηση παραγόντων οι οποίοι «καθορίζουν» το διαφορετικό πρότυπο επιθηλιακής διαφοροποίησης των δύο αυτών οδοντογενών κύστεων και, ενδεχομένως, τη βιολογική τους συμπεριφορά. Το μονοπάτι BMP4-FOXN1 συμμετέχει σε ποικίλες φυσιολογικές διεργασίες και καθορίζει την διάπλαση οργάνων ενδοδερμικής (θύμος αδένας) και εξωδερμικής (τριχοθυλάκιο , επιδερμίδα, νύχια) προέλευσης . Επιπροσθέτως, κατά την οδοντογένεση έχει δειχθεί ότι η πρωτεΐνη BMP4 ασκεί ρυθμιστικό ρολό στο σηματοδοτικό μονοπάτι της SHH πρωτεΐνης η οποία έχει παθογενετικό ρόλο στην ΟΚΚ ενώ σε διεργασίες ορθοκερατινοποίησης, σε άλλους ιστούς, επάγει τον μεταγραφικό παράγοντα FOXN1. Δεδομένων των παραπάνω, κρίθηκε σκόπιμο να μελετηθεί πιθανή συσχέτιση του μονοπατιού BMP4-FOXN1 με τις διαφορές στο πρότυπο επιθηλιακής διαφοροποίησης το οποίο εμφανίζουν η Οδοντογενής Κερατινοκύστη και η Ορθοκερατινοποιημένη Οδοντογενής Κύστη μέσω της μεθόδου της ανοσοϊστοχημείας.

Στο **Γενικό Μέρος** της εργασίας γίνεται εκτενής βιβλιογραφική ανασκόπηση για την Οδοντογενή Κερατινοκύστη, την Ορθοκερατινοποιημένη Οδοντογενή Κύστη καθώς και για τα προς μελέτη μόρια BMP4-FOXN1.

Στο *Ειδικό Μέρος*, στο εδάφιο *Υλικό Μελέτης*, παρατίθεται το πρωτόκολλο της μελέτης και τα κριτήρια επιλογής των περιπτώσεων του δείγματος και στο εδάφιο *Μέθοδος* το πρωτόκολλο της ανοσοϊστοχημείας, ο τρόπος αξιολόγησης της και οι μέθοδοι στατιστικής ανάλυσης των αποτελεσμάτων.

Ακολουθεί η ενότητα *Αποτελέσματα*, στην οποία παρουσιάζονται τα ευρήματα της παρούσας μελέτης με εικόνες-παραδείγματα και αναλυτικούς πίνακες και η ενότητα *Συζήτηση* που γίνεται η κριτική ερμηνεία των ευρημάτων και η σύγκριση τους με βιβλιογραφικά δεδομένα. Στη συνέχεια, τα κύρια ευρήματα της μελέτης συνοψίζονται στην ενότητα *Συμπεράσματα* και ακολουθεί η περίληψη της εργασίας στα Ελληνικά και στα Αγγλικά. Στο τέλος, παρατίθενται οι λίστες των βιβλιογραφικών αναφορών οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν για τη συγγραφή της εργασίας και των συντμήσεων με τη σειρά που συναντώνται στο κείμενο.

Η συγγραφή και ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής διπλωματικής μου εργασίας σηματοδοτεί το τέλος της πορείας μου ως μεταπτυχιακός Α' κύκλου στο Εργαστήριο Στοματολογίας, της Οδοντιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Μια πορεία η οποία ξεκίνησε το 2016 με την ιδιότητα του παρακολουθούντος και πριν ορκιστώ ,επισήμως, ως πτυχιούχος οδοντίατρος.

Η αγάπη για το αντικείμενο της Στοματολογίας είχε ήδη διαφανεί από τα χρόνια των προπτυχιακών μου σπουδών και έτσι η αίτηση για να παρακολουθήσω και να εισαχθώ στο ομώνυμο μεταπτυχιακό πρόγραμμα αποτέλεσε απόλυτα συνειδητή επιλογή. Ο λόγος; μου θύμιζε μια άλλη μου «αγάπη», αυτή για τα μαθηματικά: και στα 2 υπάρχει ένας «άγνωστος X» τον οποίο πρέπει μεθοδικά, μέσω συγκεκριμένων βημάτων και σκέψεων να ανακαλύψεις. Είτε όταν αυτό γίνεται στο επίπεδο του ανθρώπου, δηλαδή κλινικά, είτε στο επίπεδο του μικροσκοπίου και της

ιστοπαθολογίας στόματος. Η επιλογή, λοιπόν, του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών της Στοματολογίας ήταν μονόδρομος για εμένα και δεν με απογοήτευεσε. Εντός του μεταπτυχιακού προγράμματος έμαθα να σκέφτομαι «έξω από το κουτί», να διαχειρίζομαι δύσκολες καταστάσεις, να προσεγγίζω με τον σωστό τρόπο τον ασθενή ενώ, παράλληλα, μυήθηκα στον πλέον αγαπημένο χώρο της ιστοπαθολογίας.

Ο Γάλλος κοινωνιολόγος Maurice Halbwachs τόνισε πως «κανείς δεν είναι μόνος του στην πραγματικότητα». Έτσι και η δική μου πορεία και έρευνα μαζί με τη συγγραφή της διπλωματικής είχε πολλούς «συνοδοιπόρους», επιβεβαιώνοντας ότι το μεταπτυχιακό πρόγραμμα δεν είναι μια «απρόσωπη» έννοια αλλά μια δυναμική ομάδα ανθρώπων οι οποίοι αλληλεπιδρούν καθημερινά. Έτσι μου είναι αδύνατο να παραλείψω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου προς αυτούς:

Ξεκινώντας από τα μέλη της τριμελούς επιτροπής της μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας, δε θα μπορούσα να μην εκφράσω τις ευχαριστίες μου, την τιμή και υποχρέωσή μου προς τον επιβλέποντα μου, Αναπληρωτή Καθηγητή κύριο Τόσιο Κωνσταντίνο. Εκτός από την δύσκολη αποστολή να με «ανεχτεί επιστημονικά» και να με υποστηρίξει στην εκπόνηση της παρούσας μελέτης, συνέβαλε ουσιαστικά τόσο με την διδασκαλία του όσο και με το παράδειγμα του, στην μετάδοση γνώσεων και ιδεών παράλληλα με συνεχή ενθάρρυνση και στήριξη προς το πρόσωπο μου.

Θερμές και ειλικρινείς ευχαριστίες στον Καθηγητή και Διευθυντή του Εργαστηρίου, κύριο Νικητάκη Νικόλαο, για την διδασκαλία του, τη στήριξη και εμπιστοσύνη προς το πρόσωπο μου στο διάστημα της φοίτησης μου και τη συμβολή του στη διαμόρφωση κριτικής σκέψης, ειδικά σε ερευνητικά ζητήματα.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επικουρη Καθηγήτρια, κυρία Πιπέρη Ευαγγελία για τις εύστοχες συμβουλές της, την άψογη συνεργασία μας σε όλα τα επίπεδα και την φιλική της διάθεση και προσέγγιση προς το πρόσωπο μου.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω την απεριόριστη εκτίμησή μου για δυο ομότιμες καθηγήτριες, την τέως Καθηγήτρια Σκλαβούνου Αλεξάνδρα η οποία, ως Διευθύντρια του προγράμματος, με «υποδέχτηκε» στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα και, στη συνέχεια, με εφοδίασε με γνώσεις, στήριξη και γόνιμες συμβουλές καθώς και την τέως Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Οικονομοπούλου Παναγιώτα για τα καίρια σχόλια και την μετάδοση των γνώσεων της.

Τέλος, ιδιαίτερη μνεία θα ήθελα να κάνω στην προσφάτως εκλιπούσα Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Χρυσομάλη Ευανθία και να εκφράσω την λύπη μου για την απώλεια της. Πάντα θα ενθυμούμαι με ιδιαίτερη συγκίνηση τη συνεργασία μας στο διάστημα της φοίτησής μου και τη μεγάλη προθυμία της για μετάδοση επιστημονικής γνώσης παρά τις αντικειμενικές δυσκολίες που αντιμετώπιζε.

Δεν θα μπορούσα να μην εκφράσω την αγάπη μου, την υποχρέωση μου και τις ευχαριστίες μου στους συμφοιτητές με τους οποίους συνεργάστηκα στο διάστημα της φοίτησής μου στο πρόγραμμα. Όχι απλώς επειδή περάσαμε αρκετό χρόνο μαζί κατά τη διάρκεια αυτού του μεταπτυχιακού αλλά επειδή με στήριξαν, με δίδαξαν και μου προσέφεραν ,ανιδιοτελώς, ένα «καταφύγιο» σε δύσκολες στιγμές και καταστάσεις. Χωρίς να θέλω να αδικήσω κανέναν, νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω προσωπικά τους Βασίλη, Νατάσα και Πάρι με τους οποίους πέρασα το μεγαλύτερο μέρος της φοίτησής μου και δημιούργησα δεσμούς, οι οποίοι διατηρήθηκαν και διατηρούνται και, ελπίζω, να διατηρηθούν εκτός των ορίων του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Το ίδιο ισχύει και για τρία άλλα πρόσωπα του μεταπτυχιακού προγράμματος: την υποψήφια Διδάκτορα Καλογήρου Ελένη την οποία θέλω να ευχαριστήσω, εκτός των άλλων, για την αμέριστη συμπαράσταση και τη βοήθεια της στο κομμάτι της διπλωματικής μου εργασίας και τις Μάνου Μαρία και Γιαννοπούλου Τζένη για την υποστήριξη τους και την συμβολή τους στην δημιουργία φιλικού κλίματος και ομαλής λειτουργίας του Εργαστηρίου.

Ιδιαίτερο ευχαριστώ σε όλους τους επιστημονικούς συνεργάτες και υποψήφιους διδάκτορες με τους οποίους συνεργάστηκα άψογα αυτά τα 4 έτη και στην εργαλειοδότητρια Κασίμη Πέγκυ, την ακούραστη δύναμη της κλινικής.

Επίσης θέλω να ευχαριστήσω την ιστοτεχνικό Κεμερλή Μαρία για την βοήθεια της στην εκτέλεση του πειράματος της ανοσοϊστοχημείας όπως και τον ηλεκτρολόγο μηχανικό, Γιέτο Στέλιο για την προσφορά του και τις συμβουλές του στον τομέα της ψηφιακής ανάλυσης εικόνας.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στους φίλους μου για την καλοσύνη και τη συμπαράσταση τους σε όλα, ιδιαίτερα από τη στιγμή που οι περισσότεροι από αυτούς βρίσκονται εκτός Ελλάδος αναζητώντας καλύτερες συνθήκες,. Εύχομαι, όταν τελειώσει αυτή η ζοφερή κατάσταση του κορωνοϊού, να ανταμώσουμε και να «αρμενίσουμε» παρέα.

Τέλος, τίποτα δε θα ήταν εφικτό χωρίς τη στήριξη και την αγάπη της οικογένειας μου. Μικρών και μεγάλων. Των γονιών μου και των 2 αδελφών μου. Το να παραθέσω ένα απλό «ευχαριστώ» είναι υποτίμηση όσων έχουν κάνει για εμένα. Υπήρξαν αρωγοί, οδηγοί και χορηγοί στο κομμάτι των σπουδών μου, απόλυτα ανεκτικοί στις εν γένει επιλογές μου και τους οφείλω αυτό το οποίο είμαι σήμερα. Ελπίζω να τους κάνω περήφανους μέσω των προσπαθειών μου και τους αφιερώνω αυτή την εργασία.

Ανδρέα, Βαγιούλα, Μαρία, Άννα, σας Ευχαριστώ!

I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΟΔΟΝΤΟΓΕΝΗΣ ΚΕΡΑΤΙΝΟΚΥΣΤΗ

1.1 Ορισμός

Στην πλέον πρόσφατη ταξινόμηση των όγκων κεφαλής και τραχήλου του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (World Health Organization-WHO), το 2017, η Οδοντογενής Κερατινοκύστη (ΟΚΚ) ορίζεται ως μια «οδοντογενής κύστη η οποία επενδύεται από λεπτού πάχους πολύστιβο πλακώδες παρακερατινοποιημένο επιθήλιο, τα κύτταρα της βασικής στιβάδας του οποίου έχουν βαθυχρωματικούς πυρήνες και πασσαλοειδή διάταξη» [1].

1.2 Ιστορική αναδρομή και ονοματολογία

Οι πρώτες αναφορές για κύστεις των γνάθων με επιθηλιακή επένδυση χρονολογούνται στις αρχές του 19^{ου} αιώνα με την ονομασία «βουτυρώδης κύστη» (“buttery cyst”, “kyste butyreux”). Η συγκεκριμένη ονοματολογία υιοθετήθηκε για να περιγράψει το παχύρρευστο, «βουτυρώδες» περιεχόμενο τους σε σχέση με κύστεις που περιείχαν λεπτόρρευστο ορώδες υγρό χωρίς, ωστόσο, να γίνεται λεπτομερής αναφορά στα ιστολογικά χαρακτηριστικά του κυστικού επιθηλίου [2].

Η πρώτη καταγεγραμμένη αναφορά κύστης με ιστολογική ομοιότητα με την ΟΚΚ γίνεται το 1876 από τον σπουδαίο Πολωνό χειρουργό Mikulicz. Σε άρθρο του, αναφέρει την εμφάνιση κυστικής βλάβης στην κάτω γνάθο γυναίκας 19 ετών, την οποία χαρακτήρισε ως «δερμοειδή» [3]. Τα ιστολογικά ευρήματα που περιγράφει για την επιθηλιακή επένδυση της κύστης είναι χαρακτηριστικά αυτών της ΟΚΚ: «ανώτερη» στιβάδα προς τον αυλό με κύτταρα με μικρούς αποπεπλατυσμένους πυρήνες, «κατώτερη» στιβάδα ευμεγεθών πυρήνων και απουσία εξαρτημάτων δέρματος από το τοίχωμα [3]. Μέχρι και το 1956 υπάρχουν πολλαπλές αναφορές

περιπτώσεων κυστικών βλαβών ιστολογικά ομοίων με την ΟΚΚ με διάφορες ονοματολογίες [2].

Στα νεότερα χρόνια, ο όρος «Οδοντογενής Κερατινοκύστη» αναφέρεται πρώτη φορά το 1956 από τον Philipsen [4] ως ονοματολογία που περιγράφει κάθε κυστική βλάβη που εμφανίζει «κερατινοποίηση του επενδυτικού της επιθηλίου», με τον όρο αυτό να χρησιμοποιείται και από τους Pindborg και Hansen το 1963 [5], αν και η εν λόγω ιστολογική περιγραφή είναι γενική και συναντάται και σε άλλες οδοντογενείς κύστες. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η πρώτη ταξινόμηση οδοντογενών κύστεων και όγκων του WHO το 1971 [6] θεωρεί την ΟΚΚ ταυτόσημη οντότητα με την «αρχέγονη κύστη», μια κυστική βλάβη περιγραφείσα από τους Robinson και συν. [7] ως «κύστη επενδύομενη από επιθήλιο που προκύπτει μετά από εκφυλισμό του αστεροειδούς δικτύου του οργάνου της αδαμαντίνης, πριν το σχηματισμό ενασβεστιούμενων δομών, αναπτύσσεται σε περιοχές που δεν υπάρχουν δόντια και υπάρχει ιστορικό αποτυχίας ανάπτυξης αυτών». Η πεποίθηση περί ταυτόσημης βλάβης προέκυψε ,κατά βάση, από την πιθανή κοινή προέλευση των βλαβών από το αρχέγονο οδοντογενές επιθήλιο [8], με την πλειοψηφία, ωστόσο, των ΟΚΚ να μην αναπτύσσεται σε θέσεις όπου θα αναπτυσσόταν φυσιολογικό ή υπεράριθμο δόντι, κύριο χαρακτηριστικό της περιγραφής της «αρχέγονης» κύστης [9]. Ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι, παρά την πρόοδο στην κατανόηση των επιμέρους χαρακτηριστικών της ΟΚΚ τα επόμενα χρόνια, αυτή εξακολούθησε να αναφέρεται ως κοινή οντότητα με την αρχέγονη κύστη και στις δύο επόμενες ταξινομήσεις του WHO, το 1992 και το 2005 [10,11] . Εν τέλει, στην ταξινόμηση του 2017 έχει παραλειφθεί η οποιαδήποτε αναφορά στον όρο «αρχέγονη κύστη» [1]

Επίσης, αξίζει να αναφερθεί ότι στα πλαίσια της ταξινόμησης της οντότητας το 2005 [11] στην κατηγορία «Οδοντογενείς όγκοι» (βλέπε εδάφιο **Ταξινομήσεις κατά τον**

WHO), εισήχθη ο όρος «Κερατινοκυστικός Οδοντογενής Όγκος (ΚΟΤ)», όρος που αναφέρεται και στην νεότερη ταξινόμηση ενώ χρησιμοποιείται ακόμα σε διάφορες νεότερες εργασίες [12]

1.3 Ταξινόμησης κατά τον WHO

Αν και στις πρώτες ταξινομήσεις οδοντογενών κύστεων και όγκων [6,10] η ΟΚΚ κατατάσσόταν στην κατηγορία των «Οδοντογενών αναπτυξιακών κύστεων», το 2005 όπως προαναφέρθηκε, ο WHO την κατέταξε στην κατηγορία «Οδοντογενείς όγκοι»[11] , παίρνοντας θέση σε ένα ερώτημα που απασχολούσε διαχρονικά τους ερευνητές, αν δηλαδή η ΟΚΚ αποτελεί ένα καλοήθες κυστικό νεόπλασμα [13,14]. Το κύριο σκεπτικό αυτής της ταξινόμησης ήταν ότι η ΟΚΚ:

(α) αποτελεί μια ιδιαίτερα επιθετική βλάβη τοπικά και συνοδεύεται από υψηλό ποσοστό υποτροπής, ανεξαρτήτως του τρόπου αφαίρεσης [14].

(β) εμφανίζεται, σε μεμονωμένα περιστατικά, ως «συμπαγής» βλάβη [15]

(γ) παρουσιάζει σε μεγάλο ποσοστό μετάλλαξη του γονιδίου PTCH1 και απώλεια ετεροζυγωτίας ογκοκατασταλτικών γονιδίων [16] (βλέπε εδάφιο *Αιτιοπαθογένεια*)

Στην τελευταία ταξινόμηση των όγκων κεφαλής και τραχήλου του WHO [1] η ΟΚΚ επαναταξινομήθηκε στις οδοντογενείς κύστεις. Οι συγγραφείς απέδωσαν την επαναταξινόμηση της οντότητας στην απουσία, μέχρι στιγμής, επαρκών δεδομένων, ώστε να θεωρηθεί αμιγώς νεοπλασματικής αρχής βλάβη, δίνοντας έμφαση κυρίως στην μη ανίχνευση μεταλλάξεων PTCH1 στην πλειοψηφία των περιπτώσεων [17]. Επίσης, τόνισαν ότι η μείωση του μεγέθους ή πλήρη υποστροφή των ΟΚΚ μετά από συντηρητική θεραπευτική παρέμβαση όπως η μαρσιποποίηση αντιβαίνει της

κλασικής αντίληψης ότι μια νεοπλασματικής φύσης βλάβη δεν υποστρέφει μετά από άρση του γενεσιουργού της αιτίου [17].

1.4 Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά

1.4.1 Συχνότητα

Ένα από τα κυριότερα προβλήματα που έχουν δημιουργήσει οι επαναταξινομήσεις της ΟΚΚ κατά τον WHO ανά τα χρόνια, είναι η αδυναμία υπολογισμού της σχετικής συχνότητας τόσο της εν λόγω οντότητας όσο και γενικότερα των οδοντογενών βλαβών. Χαρακτηριστικό αυτού του προβλήματος είναι η αύξηση της συχνότητας των οδοντογενών όγκων σε ορισμένες εργασίες έως και 232% [18] μετά την ταξινόμηση του 2005 [11], κυρίως, λόγω της επαναταξινόμησης της ΟΚΚ στην κατηγορία των οδοντογενών όγκων.

Οι περισσότερες επιδημιολογικές εργασίες χρησιμοποιούν είτε την ταξινόμηση του 1992 είτε αυτή του 2005 κατατάσσοντας την ΟΚΚ ως την 3^η [19-25] ή την 2^η [26,27] συχνότερη οδοντογενή κύστη (2^η ή 1^η αν, βέβαια, δεν συμπεριληφθούν οι οδοντογενείς κύστεις φλεγμονώδους προέλευσης), αντιστοιχώντας περίπου στο 11,5% του συνόλου των οδοντογενών κύστεων [28]. Τα ποσοστά εμφάνισης της κυμαίνονται από 1,5% έως 21,5% [23,24] ενώ, όσον αφορά στη γεωγραφική κατανομή, φαίνεται ότι οι περισσότερες περιπτώσεις έχουν αναφερθεί στην Ασιατική ήπειρο και εν συνεχεία στη Λατινική Αμερική [18,29]

Σε πρόσφατη εργασία των Ταμιωλάκη και συν. [30] από το αρχειακό υλικό του Εργαστηρίου Στοματολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, καταγράφηκαν 436 περιπτώσεις ΟΚΚ σε σύνολο 5.145 οδοντογενών κύστεων (και συνολικά 5.294 κύστεων των γνάθων) στο διάστημα 1980-2017. Στην εν λόγω μελέτη, η ΟΚΚ ήταν η 3^η συχνότερη κύστη των γνάθων σε ποσοστό 8,2%,

1.4.2 Φύλο και ηλικία

Συμφώνα με τη μεγαλύτερη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας για την ΟΚΚ από τον McDonald-Jankowski [29], από την οποία εξαιρέθηκαν εργασίες που αφορούσαν συνδρομικές ΟΚΚ και εργασίες που συμπεριλάμβαναν την Ορθοκερατινοποιημένη Οδοντογενή Κύστη (ΟΟΚ) ως υπότυπο της ΟΚΚ, η οντότητα δείχνει ελαφρά προτίμηση στο ανδρικό φύλο με αναλογία 1,5 προς 1, με την πλειοψηφία των ασθενών να βρίσκονται στην 2^η - 4^η δεκαετία και μέση ηλικία τα 37,81±6,33 έτη (ηλικιακό εύρος 6 – 84 έτη). Στην μελέτη των Ταμιωλάκη και συν. [30] παρατηρείται παρόμοια αναλογία ανδρών:γυναικών (1,3:1) με μέση ηλικία ασθενών τα 42,5±19,4 έτη. Αναλυτικότερα, οι άνδρες ασθενείς προσβάλλονταν κυριότερα στην 4^η και 6^η δεκαετία με μέση ηλικία 43,5±19,2 (7–84 έτη) ενώ οι γυναίκες στην 3^η και 7^η δεκαετία με μέση ηλικία τα 41,3±19,6 (5–80 έτη). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στην εν λόγω εργασία έχουν συμπεριληφθεί και περιπτώσεις ΟΚΚ σε έδαφος Συνδρόμου Σπιλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων (ΣΣΒΚ) ενώ η φυλετική και ηλικιακή κατανομή των ασθενών είναι παρόμοια με τις περισσότερες εργασίες από την Ευρωπαϊκή ήπειρο [29].

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι, σε πολλές εργασίες, η ΟΚΚ εμφανίζει τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες δυο διαφορετικές ηλικιακές αιχμές προσβολής, μια σε νεότερες (2^η-3^η δεκαετία) και μια σε μεγαλύτερες (6^η-7^η δεκαετία) ηλικίες [29,30] με αποτέλεσμα πολλοί ερευνητές να θεωρούν ότι υπάρχουν δυο διαφορετικά «είδη» ΟΚΚ. Στις μοναδικές έως σήμερα μελέτες που συγκρίνουν κλινικά και ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά των ΟΚΚ σε νεότερους σε σχέση με μεγαλύτερους ηλικιακά ασθενείς δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες [31,32]

1.5 Κλινικά χαρακτηριστικά

Η ΟΚΚ εμφανίζεται συχνότερα στην κάτω σε σχέση με την άνω γνάθο με αναλογία 2,58 προς 1 [29]. Οι οπίσθιες περιοχές των γνάθων αποτελούν τη συχνότερη υποεντόπιση της βλάβης σε ποσοστό άνω του 80% στην κάτω γνάθο και σε ποσοστό 69% στην άνω γνάθο [29]. Στην εργασία των Ταμιωλάκη και συν. [30], η κάτω γνάθος αποτελούσε τη συχνότερη εντόπιση της ΟΚΚ στο 68,5% των περιπτώσεων. Η εν λόγω εργασία κατέγραψε και τις συχνότερες υποεντοπίσεις των ΟΚΚ διακρίνοντας 6 περιοχές:

(α) τομέων-κυνοδόντων

(β) προγομφίων

(γ) γομφίων και οπισθίως αυτών

(δ) από τομείς έως προγόμφιους

(ε) από τομείς έως γομφίους και,

(στ) από προγομφίους έως γομφίους

Η περιοχή των γομφίων ήταν η συχνότερη υποεντόπιση εμφάνισης και στις δύο γνάθους, με 45% σε σύνολο 118 βλαβών στην άνω γνάθο και 51% σε σύνολο 299 βλαβών στην κάτω γνάθο, και ακαλουθούσε η περιοχή των προγομφίων [30].

Όσον αφορά στα αναφερόμενα σημεία και συμπτώματα, στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ή ύπαρξη κλινικά εμφανούς διόγκωσης σε ποσοστό 58,3% ενώ πόνος και εκροή πύου αναφέρθηκε στο 32,4% και 12,2% των περιπτώσεων, αντίστοιχα [29]. Σε ένα ποσοστό 1,87% αναφέρθηκε υπαισθησία στην κάτω γνάθο ενδεικτική της τοπικά επιθετικής συμπεριφοράς της ΟΚΚ [29].

Εκτός από την κλασική ενδοστική εντόπιση, έχουν αναφερθεί σπάνιες περιπτώσεις ΟΚΚ σε εξωοστικές/περιφερικές εντοπίσεις με συχνότερη θέση τα παρειακά ούλα της άνω γνάθου και, δευτερευόντως, τον παρειακό βλεννογόνο [33-35]. Άλλες ασυνήθεις εντοπίσεις είναι ενδομυϊκά [36] καθώς και εντός του παρειακού χώρου [37].

Ορισμένοι συγγραφείς έχουν εκφράσει τις αμφιβολίες τους σχετικά με το κατά πόσο οι εξωοστικές περιπτώσεις, εξαιρώντας την εντόπιση στα ούλα, αν και ιστολογικά είναι όμοιες με τις ενδοοστικές βλάβες, μπορούν να θεωρηθούν αμιγώς οδοντογενούς προέλευσης αντί για βλάβες αντίστοιχες με δερματικές κερατινοκύστεις, αναφέροντας, μάλιστα, ως αδόκιμη τη χρήση του όρου «οδοντογενής» σε αυτές τις περιπτώσεις [38].

1.5.1 ΟΚΚ και Σύνδρομο Σπιλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων (ΣΣΒΚ-Nevoid Basal cell carcinoma syndrome, Gorlin-Goltz Syndrome)

Το Σύνδρομο Σπιλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων (ΣΣΒΚ) ή σύνδρομο Gorlin-Goltz (OMIM #109400) είναι ένα πολυσυστηματικό σύνδρομο μεταβιβαζόμενο με τον αυτοσωμικό επικρατούντα τύπο κληρονομικότητας. Από τα δεδομένα της βιβλιογραφίας δεν προκύπτει προτίμηση φύλου ενώ η επίπτωση του συνδρόμου κυμαίνεται από 1 περίπτωση στα 57.000 έως 1 στα 164.000 άτομα, με γενικότερη εκτίμηση για 1 περίπτωση στα 60.000 άτομα [39-41]. Βασικό αιτιοπαθογενετικό εύρημα του ΣΣΒΚ αποτελεί η μετάλλαξη του γονίδιου PTCH1, κύριου ρυθμιστή του σηματοδοτικού μονοπατιού Sonic Hedgehog (SHH) (βλέπε εδάφιο *Αιτιοπαθολογία*) η οποία εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 9q22 [42]. Μέχρι στιγμής έχουν περιγραφεί περίπου 280 διαφορετικές γενετικές μεταλλάξεις στο

γονίδιο PTCH1 [42] ενώ έχουν αναφερθεί μεμονωμένες περιπτώσεις ΣΣΒΚ που οφείλονται σε μεταλλάξεις των γονιδίων PTCH2 [43] και SUFU [44].

Δεν υπάρχουν καθολικώς αποδεκτά κριτήρια διάγνωσης του ΣΣΒΚ με τη διάγνωση να βασίζεται κατά κύριο λόγο στα προτεινόμενα από τους Kimonis και συν. κριτήρια [45] (Εικόνα 1). Για να τεθεί η διάγνωση πρέπει να πληρούνται δύο μείζονα κριτήρια, ή ένα μείζον και δύο ελάσσονα κριτήρια ή ένα μείζον κριτήριο με ταυτόχρονη μοριακή επιβεβαίωση μετάλλαξης στα υπεύθυνα γονίδια. Λόγω του ακριβού κόστους του γενετικού ελέγχου αλλά και της μη ύπαρξης μετάλλαξης σε όλους τους ασθενείς, προτάθηκε να γίνεται επιβεβαίωση μετάλλαξης στο γονίδιο PTCH1 (α) προγεννητικά, επί γνωστής μετάλλαξης του γονιδίου στην οικογένεια (β) σε ασθενείς με κλινικά σημεία που δεν επαρκούν για τη διάγνωση του συνδρόμου και (γ) σε ασθενείς που έχουν συγγενή με μετάλλαξη αλλά δεν πληρούν τα κριτήρια διάγνωσης του συνδρόμου [46].

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

Εικόνα 1: Διαγνωστικά κριτήρια ΣΣΒΚ. Τροποποιημένο από [45]

Όπως διαφαίνεται από το όνομα της νόσου, η εμφάνιση βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων στο δέρμα αποτελεί μείζων κλινική εκδήλωση μαζί με ποικίλες σκελετικές ανωμαλίες [46]. Η εμφάνιση ΟΚΚ σε ασθενείς με ΣΣΒΚ ποικίλει στη βιβλιογραφία (65-100%) και πολλές φορές αποτελεί το 1^ο σημείο του συνδρόμου [47]. Χαρακτηριστικό στους συνδρομικούς ασθενείς είναι η εμφάνιση πολλαπλών βλαβών (κατά μέσο όρο 5 βλάβες) και σε μικρότερη ηλικία (1^η, 2^η και 3^η δεκαετία) σε σχέση με μη συνδρομικούς ασθενείς [48,49]. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η

πολλαπλότητα ΟΚΚ στην οπίσθια άνω γνάθο σε νέους ασθενείς εγείρει την υποψία ύπαρξης ΣΣΒΚ [32]. Στην εργασία των Ταμιωλάκη και συν. [30] στον ελληνικό πληθυσμό καταγράφηκαν 9 περιπτώσεις ΟΚΚ σε έδαφος ΣΣΒΚ σε σύνολο 436 ΟΚΚ, με μειονέκτημα της εν λόγω εργασίας το ότι βασίζεται ,αναδρομικά, στις αναφορές ύπαρξης συνδρόμου στα παραπεμπτικά ιστολογικής εξέτασης. Από αυτούς τους ασθενείς, 2 παρουσιάστηκαν με 1 ΟΚΚ, 4 ασθενείς με 2 βλάβες και 3 ασθενείς με 4 βλάβες [30].

Οι συνδρομικές ΟΚΚ εμφανίζουν επιθετικότερη συμπεριφορά και αυξημένο κίνδυνο υποτροπής [50]. Οι διαφορές συνδρομικών και σποραδικών ΟΚΚ δεν περιορίζονται μόνο στο προφίλ των ασθενών και στην κλινική συμπεριφορά αλλά και σε ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά. Συγκεκριμένα, σε συνδρομικές κύστεις περιγράφεται αυξημένη παρουσία επιθηλιακών νησιδίων, θυγατρικών κύστεων και εκβλαστήσεων ενώ στο ανοσοϊστοχημικό προφίλ τους επισημαίνεται υπερέκφραση δεικτών κυτταρικού πολλαπλασιασμού με αποτέλεσμα πολλοί συγγραφείς να προτείνουν ότι οι συνδρομικές και σποραδικές ΟΚΚ¹ αποτελούν δύο διαφορετικούς φαινότυπους της ΟΚΚ [51].

Σε σπάνιες περιπτώσεις έχει αναφερθεί η εμφάνιση ΟΚΚ (πολλαπλών ή μη) και σε άλλα σύνδρομα, όπως το σύνδρομο Noonan [52] , το σύνδρομο Ehlers-Danlos [53] και το σύνδρομο Simpson-Golabi-Behmel [54].

¹ **Σποραδικές ΟΚΚ:** ΟΚΚ που εμφανίζονται μεμονωμένα και όχι στα πλαίσια κληρονομικής αλλαγής γονιδίων ή σε έδαφος συνδρόμου.

1.6 Ακτινογραφικά χαρακτηριστικά

Σε ποσοστό έως 73%, η ΟΚΚ εμφανίζεται ως μια καλά περιγεγραμμένη μονόχωρη ακτινοδιάγνωση, με τα όρια της βλάβης να είναι καλά περιγεγραμμένα στο 64,5% των περιπτώσεων και ακτινοσκιερά στο 60% των περιπτώσεων [1,29,55].

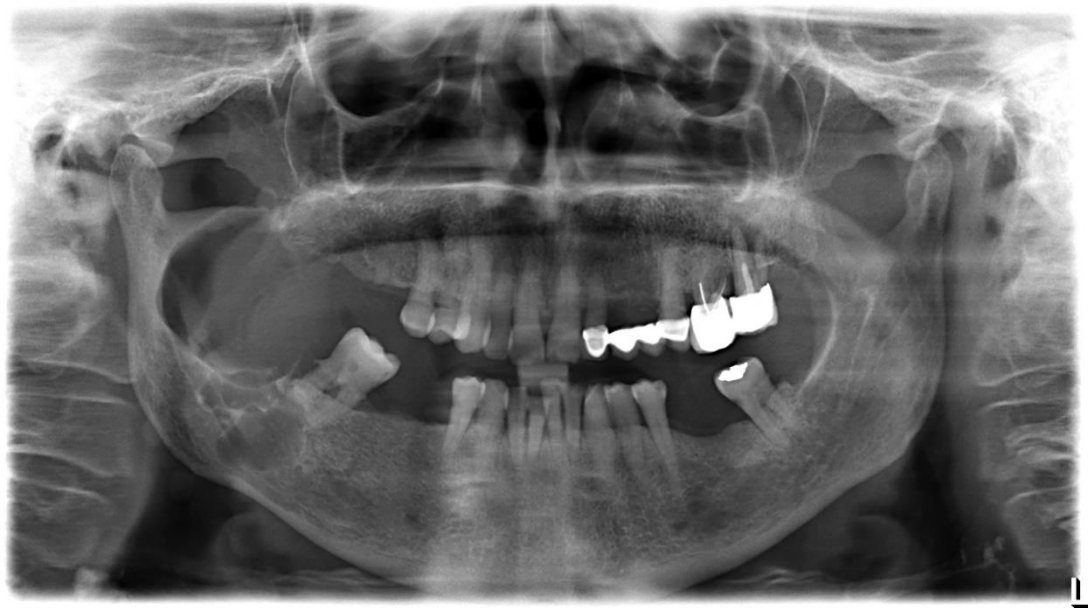
Στις περιπτώσεις ΟΚΚ οι οποίες εμφανίζονται ως πολύχωρες διαγνώσεις, μπορεί να προκληθεί σύγχυση με άλλες οδοντογενείς βλάβες όπως το αδαμαντινοβλάστωμα ή το οδοντογενές μύζωμα, ιδιαίτερα στην περιοχή γωνίας-κλάδου [29]. Για το αδαμαντινοβλάστωμα αναφέρεται ότι είναι συχνότερη η παρειογλωσσική επέκταση καθώς και η επιθετικότερη τοπική συμπεριφορά, όπως καταδεικνύεται από παρεκτόπιση ή/και απορρόφηση ριζών και μικροδιατρήσεις των οστικών πετάλων, ενώ στο οδοντογενές μύζωμα συχνή είναι η παρουσία κάθετων γραμμοειδών υπολειμματικών δοκίδων εντός της βλάβης και απορρόφησης ριζών [56,57]. Στην ΟΚΚ η απορρόφηση ριζών αναφέρεται σε ποσοστό 23% [29].

Όσον αφορά άλλα επιμέρους ακτινογραφικά χαρακτηριστικά, το 25-52% των ΟΚΚ σχετίζεται με έγκλειστο δόντι, με μέσο ποσοστό το 35,4% (Εικόνα 2), ενώ σε σπάνιες περιπτώσεις η εντόπιση της ΟΚΚ στην πρόσθια περιοχή της άνω γνάθου μπορεί να δώσει χαρακτηριστική «δίκην καρδιάς» ακτινογραφική εικόνα, μιμούμενη την ρινοϋπερώια κύστη [29,58]. Επιπροσθέτως, σε ποσοστό 28% η ΟΚΚ εμφανίζεται στον πλάγιο περιοδοντικό χώρο, ανάμεσα σε ρίζες παρακείμενων δοντιών, θέση που οδηγεί συχνά στη λανθασμένη ακτινογραφική διάγνωση της πλάγιας περιοδοντικής κύστης [58]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συχνά εντοπιζόμενη ακρορριζική θέση της ΟΚΚ, ιδιαίτερα στην πρόσθια άνω γνάθο, οδηγεί σε περιττές ενδοδοντικές θεραπείες ή εξαγωγές δοντιών [59], με την ΟΚΚ να αποτελεί τη συχνότερη, μη πολυφική

αιτιολογίας, ακρορριζική βλάβη, γεγονός το οποίο καταδεικνύεται και από την εργασία των Κοντογιάννη και συν. [60]. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, μπορεί να παρατηρηθεί απορρόφηση ριζών, μετατόπιση δοντιών, εισχώρηση της ακτινοδιαυγαστικής αλλοίωσης ανάμεσα στα ακρορρίζια εμπλεκόμενων δοντιών (“scalloping”) και παρεκτόπιση του πόρου του κάτω φατνιακού νεύρου [29,61].

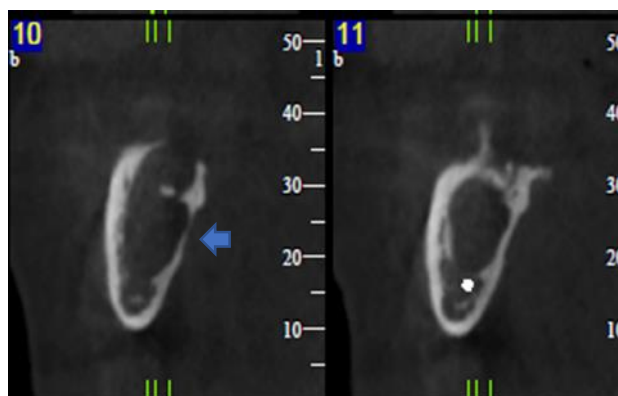
Στην αξονική τομογραφία (Computed Tomography-CT) έχει διαπιστωθεί καλύτερη απεικόνιση της γλωσσικής επέκτασης της ΟΚΚ και της σχέσης των βλαβών με τις ρίζες των δοντιών ενώ είναι πιο διακριτές οι προαναφερθείσες διαφορές με το αδαμαντινοβλάστωμα [56]. Σε πρόσφατη εργασία των Alves και συν. [62], οι οποίοι συνέκριναν πανοραμική ακτινογραφία και CT για την απεικόνιση επιμέρους χαρακτηριστικών των ΟΚΚ, αποδείχτηκε ότι η CT μπορεί να δώσει πιο ευκρινή εικόνα για χαρακτηριστικά όπως το σχήμα της βλάβης, η υπολειμματική δοκίδωση του οστού, η παρειογλωσσική επέκταση της καθώς και η σχέση της με τις ρίζες των δοντιών. Σε καταστάσεις διαφοροδιαγνωστικού προβληματισμού με την οδοντοφόρο ή την ακρορριζική κύστη χρήσιμες πληροφορίες έχει αποδειχθεί ότι παρέχουν οι εγκάρσιες τομές της CT [63].

Παρόμοια ευρήματα με την CT αναφέρονται και στην αξονική τομογραφία κωνικής δέσμης (Cone Beam Computed Tomography-CBCT), όπου η ανάλυση είναι καλύτερη και τα επίπεδα ακτινοβολίας χαμηλότερα [56] ενώ είναι λίγες οι μελέτες οι οποίες αξιολογούν την χρησιμότητα της μαγνητικής τομογραφίας (Magnetic Resonance Imaging-MRI) στην ΟΚΚ [64,65].



Εικόνα 2: Ακτινογραφική εικόνα ΟΚΚ. Παρατηρείται σαφώς περιγεγραμμένη διαυγαστική αλλοίωση στον κλάδο της κάτω γνάθου δεξιά.

(πηγή: ευγενική παραχώρηση από αρχείο Δρ. Μελακόπουλου Ιωάννη).

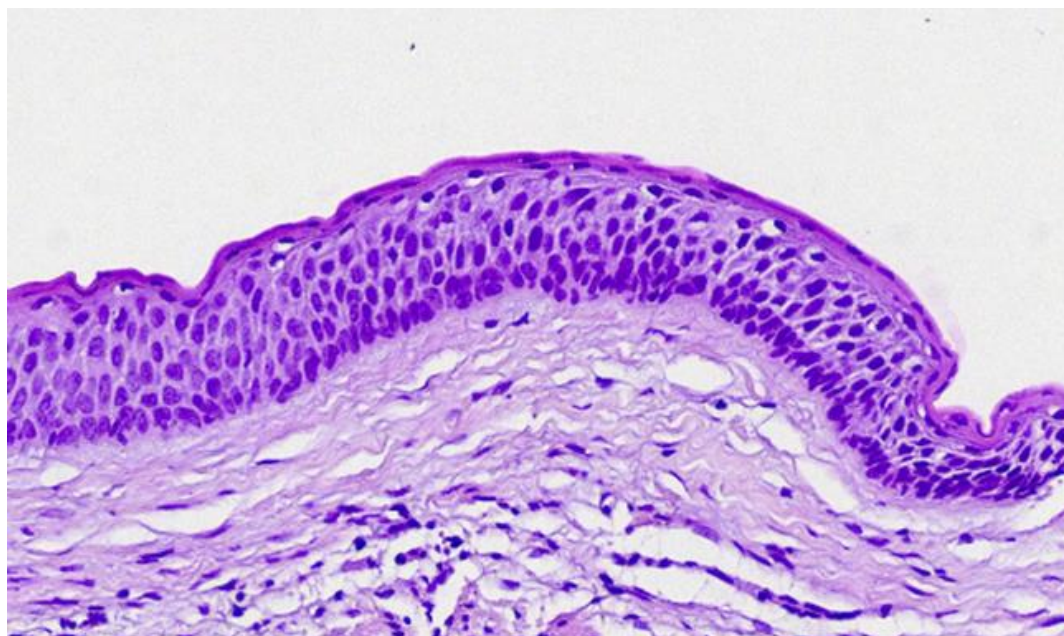


Εικόνα 3: Διαδοχικές τομές από υπολογιστική τομογραφία κωνικής δέσμης (πάχος τομών: 1 χιλιοστό) σε ασθενή με ΟΚΚ. Παρατηρείται λεπύτνωση του γλωσσικού πετάλου (βέλος) και γειτνίαση της βλάβης με το άνω όριο του κάτω φατνιακού πόρου (λευκή κουκίδα)

(πηγή: ευγενική παραχώρηση από προσωπικό αρχείο Δρ. Μελακόπουλου Ιωάννη).

1.7 Ιστολογικά χαρακτηριστικά

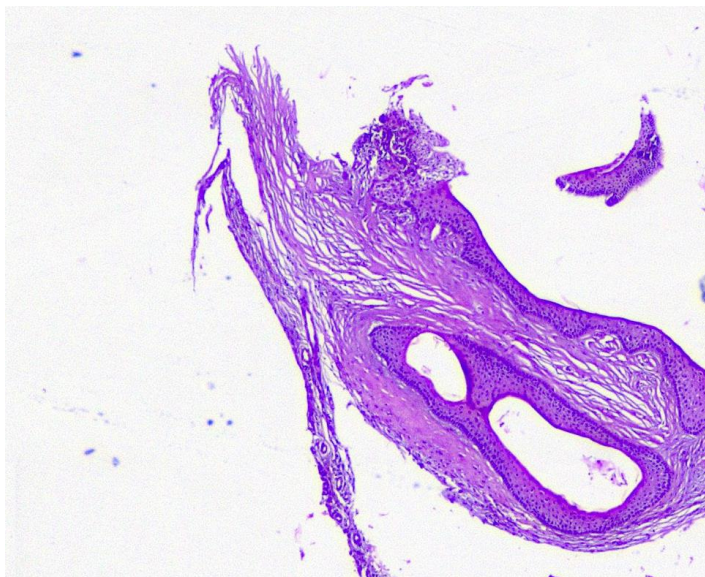
Όπως αναφέρθηκε και στο εδάφιο «**Ορισμός**», σύμφωνα με τον WHO, η ιστολογική εικόνα της ΟΚΚ συνίσταται από «μη φλεγμαίνον τοίχωμα που επενδύεται από λεπτού πάχους, 5-8 στίχων κυττάρων, παρακερατινοποιημένο επιθήλιο χωρίς επιθηλιακές καταδύσεις. Η παρακερατίνη στιβάδα εμφανίζει κυματοειδή διαμόρφωση, ενώ η βασική στιβάδα είναι ευδιάκριτη, με τα κύτταρά της να έχουν υπερχρωματικούς πυρήνες. Κύριο χαρακτηριστικό των τελευταίων είναι η πασσαλοειδής διάταξη ενώ εστιακά μπορεί να παρουσιάζουν ανάστροφη πόλωση» (Εικόνα 4) [1]. Τα παραπάνω ιστολογικά χαρακτηριστικά είναι ενδεικτικά ΟΚΚ και η διάγνωση δε θα πρέπει να τίθεται μόνο επί παρουσία παρακερατίνης στιβάδας, καθώς και άλλες κύστεις μπορεί να εμφανίσουν κερατινοποίηση, όπως π.χ η υπολειμματική κύστη ή η ακρορριζική κύστη επί άρσης της φλεγμονής [66].



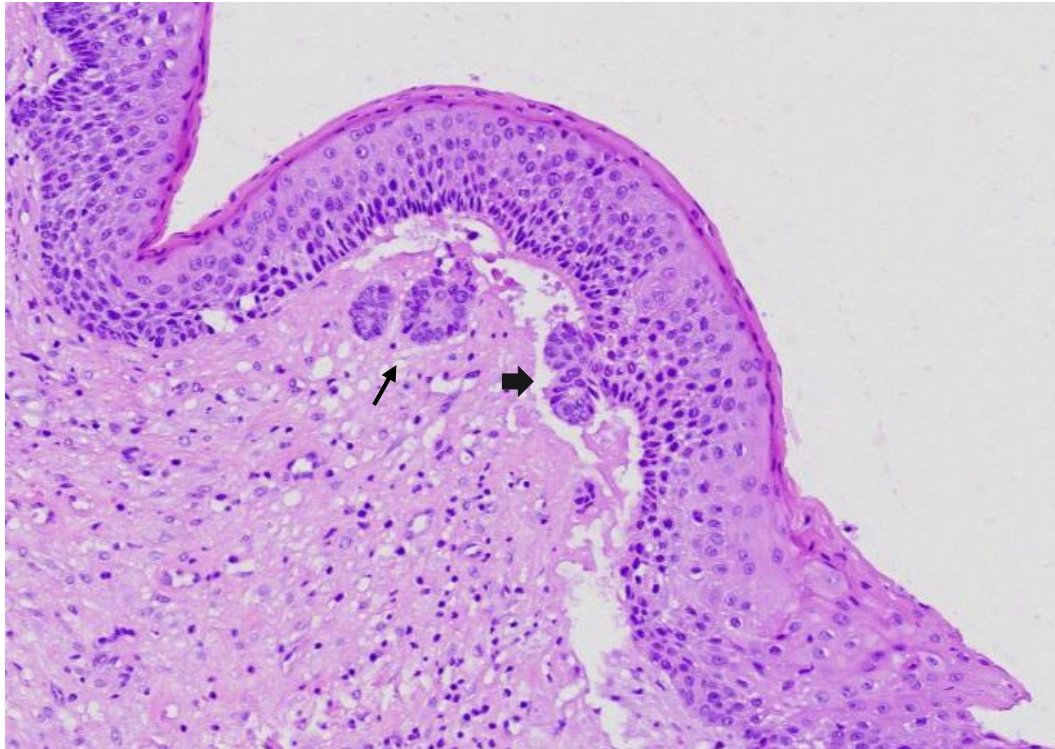
Εικόνα 4: Ιστολογική εικόνα ΟΚΚ. Παρατηρείται παρακερατίνη στιβάδα με κυματοειδή επιφάνεια και πασσαλοειδώς διατεταγμένα κύτταρα στη βασική στιβάδα του επιθηλίου

με βαθυχρωμασία των πυρήνων τους (χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, x400) (πηγή: Εργαστήριο Στοματολογίας Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ)

Άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της ΟΚΚ, που εμφανίζονται με σαφώς μεγαλύτερη συχνότητα σε σχέση με άλλες οδοντογενείς κύστεις, είναι η ταινιοειδής αποκόλληση του επιθηλίου από τον υποκείμενο συνδετικό ιστό, η παρουσία θυγατρικών/δορυφόρων κύστεων στο τοίχωμα της και η ύπαρξη επιθηλιακών εκβλαστήσεων βολβώδους διαμόρφωσης (Εικόνα 4,5) [67]. Τα τελευταία δύο χαρακτηριστικά, μαζί με την παρουσία επιθηλιακών νησιδίων, αποτελούν ιστολογικά χαρακτηριστικά που σε πρόσφατη μετα-ανάλυση [68] έχουν συσχετιστεί με μεγαλύτερο κίνδυνο υποτροπής. Επιπροσθέτως, τα ίδια χαρακτηριστικά έχει αναφερθεί ότι παρατηρούνται πιο συχνά σε περιπτώσεις πολλαπλών ΟΚΚ ή σε περιπτώσεις οι οποίες σχετίζονται με το ΣΣΒΚ [67,69]. Επιπλέον, μπορεί να παρατηρηθεί υποεπιθηλιακή υαλινοποίηση του κολλαγόνου, υπερπλασία της παρακερατίνης στιβάδας ή τμήματα του επιθηλίου με ορθοκερατινοποίηση [67,69].



Εικόνα 5: Δημιουργία θυγατρικής κύστης στο τοίχωμα ΟΚΚ (χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης x100) (πηγή: Εργαστήριο Στοματολογίας Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ)



Εικόνα 6 : Επιθηλιακές εκβλαστήσεις του επιθηλίου της ΟΚΚ (παχύ βέλος) και επιθηλιακά νησίδια στον συνδετικό ιστό (λεπτό βέλος) (χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200) (πηγή: Εργαστήριο Στοματολογίας Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ)

Σε φλεγμαίνουσες ΟΚΚ τα τυπικά ιστολογικά χαρακτηριστικά μπορεί να χαθούν, δίνοντας μη ειδική ιστολογική εικόνα [67]. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να παρατηρούνται ευρήματα όπως υπερπλασία ή ατροφία του επιθηλίου, απώλεια παρακερατίνης στιβάδας, δημιουργία επιθηλιακών καταδύσεων, παρουσία εντυπωμάτων κρυστάλλων χοληστερόλης, δυστροφικές ενασβεστιώσεις και σωματία Rushton καθιστώντας δύσκολη τη διαφορδιάγνωση από ακρορριζική ή φλεγμαίνουσα οδοντοφόρο κύστη [67]. Ωστόσο, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων παρατηρούνται περιοχές τυπικής ιστολογικής εικόνας ΟΚΚ που κατευθύνουν τη διάγνωση [66,70]. Ασυνήθη ιστολογικά ευρήματα τα οποία έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία είναι η παρουσία χόνδρου [71] ή οδοντινοειδούς υλικού [72] στο τοίχωμα της κύστης, η παρουσία μελανίνης και μελανοκυττάρων στη βασική στιβάδα του επιθηλίου [73],

και η παρουσία κυττάρων με διαυγές κυτταρόπλασμα ή βλενωδών κυττάρων εντός του επιθηλίου [67]

Τέλος, όπως προαναφέρθηκε, έχει περιγραφεί ένας ιδιαίτερος τύπος συμπαγούς ΟΚΚ [15] ο οποίος αποτελείται από πολλαπλούς ποικίλου μεγέθους και σχήματος κυστικούς χώρους σε υπόστρωμα πυκνού ινώδους συνδετικού ιστού, καθένας εκ των οποίων φέρει τα τυπικά ιστολογικά χαρακτηριστικά της ΟΚΚ. Δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα τα οποία να τονίζουν πιθανή διαφορετική βιολογική συμπεριφορά και ανοσοϊστοχημικό προφίλ του συμπαγούς τύπου σε σχέση με των κλασικό [74].

Σε σπάνιες περιπτώσεις, μπορεί να παρατηρηθεί αδαμαντινοβλαστική εκτροπή του επιθηλίου της ΟΚΚ. Σε αυτή την περίπτωση, διαπιστώνεται ιστολογικά η παρουσία της «τριάδας των Vickers και Gorlin» που συνίστανται σε βαθυχρωματικούς πυρήνες των κυττάρων, πασσαλοειδή διάταξη και ανάστροφη πόλωση των πυρήνων των κυττάρων της βασικής στιβάδας καθώς και παρουσία κυτταροπλασματικών κενोटόπιων στα κύτταρα της βασικής στιβάδας [75].

Εκτός από την αδαμαντινοβλαστική εκτροπή θα πρέπει να αποκλειστεί η κακοήθης εξαλλαγή της ΟΚΚ σε κεντρικό ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα, η οποία συμβαίνει συνήθως με παρόμοιο τρόπο όπως στον στοματικό βλεννογόνο, δηλαδή σε έδαφος προϋπάρχουσας επιθηλιακής δυσπλασίας του κυστικού επιθηλίου [76,77].

Συγκεκριμένα, έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία 26 περιπτώσεις εξαλλαγής του επιθηλίου της ΟΚΚ σε κεντρικό ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα, με κύρια χαρακτηριστικά αυτών των βλαβών να αποτελούν η χρονιότητα, η ύπαρξη φλεγμονής και οι πολλαπλές προηγούμενες υποτροπές [77]. Λόγω της σπανιότητας των κεντρικών ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων σε έδαφος ΟΚΚ, δεν υπάρχουν αξιόπιστα ερευνητικά δεδομένα σχετικά με την αξιολόγηση και διάκριση ΟΚΚ με

μεγαλύτερη πιθανότητα κακοήθους εξαλλαγής, αν και διαφαίνεται ότι η ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης p53 στα κύτταρα της βασικής στιβάδας είναι πιο έντονη σε αυτές τις ΟΚΚ [77].

1.8 Θεραπεία

Η θεραπεία της ΟΚΚ είναι κατά βάση χειρουργική. Έχουν περιγραφεί και χρησιμοποιηθεί αρκετές διαφορετικές χειρουργικές τεχνικές, όπως εκκυρήνιση με ή χωρίς συνοδό περιφερική απόξεση, εκκυρήνιση σε συνδυασμό με χρήση διαλύματος Carnoy (κλασσικού ή τροποποιημένου), εκκυρήνιση με περιφερική οστεοτομία με ή χωρίς χρήση κυανού του μεθυλενίου, κρυοθεραπεία ή ηλεκτροκαυτηριασμός, μαρσιποποίηση ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με μια εκ των προαναφερθεισών μεθόδων σε δεύτερο χρόνο και, τέλος, ευρεία χειρουργική εκτομή [78,79]. Η επιλογή της κατάλληλης τεχνικής ποικίλει από κέντρο σε κέντρο και εξαρτάται από:

(α) το μέγεθος της βλάβης. Σε μικρού μεγέθους βλάβες προτείνεται η εκκυρήνισή τους με συνοδό χρήση διαλύματος Carnoy και περιφερική οστεοτομία, ενώ σε μεγαλύτερης έκτασης βλάβης πραγματοποιείται αρχικά μαρσιποποίηση και σε δεύτερο χρόνο, το προαναφερθέν πρωτόκολλο [80,81].

(β) την ύπαρξη πολλαπλών υποτροπών, περίπτωση κατά την οποία συστήνονται επιθετικότερες τεχνικές, όπως η τμηματική γναθεκτομή [80].

(γ) τη γειτνίαση με ζωτικά ανατομικά μέρη, π.χ κάτω φατνιακό νεύρο, έδαφος ιγμορείου, όπου μπορούν αρχικά να επιλεγθούν συντηρητικότερες τεχνικές, όπως η μαρσιποποίηση [80,81].

Αν και, όπως φαίνεται, έχει χρησιμοποιηθεί ευρεία ποικιλία χειρουργικών τεχνικών, δεν έχει πραγματοποιηθεί επαρκής αριθμός τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών σχετικά με την ενδεδειγμένη χειρουργική μέθοδο εξαίρεσης της ΟΚΚ [82].

Αποτέλεσμα αυτού είναι να αναζητούνται πληροφορίες για την πιο αξιόπιστη χειρουργική τεχνική σε συστηματικές ανασκοπήσεις, οι οποίες, ωστόσο, αξιολογούν εργασίες με μεγάλο βαθμό ετερογένειας σε τεχνικές, δείγμα και χρόνο παρακολούθησης. Σε σύγχρονες συστηματικές ανασκοπήσεις αναφέρονται ποσοστά υποτροπής της ΟΚΚ, ανεξαρτήτως χειρουργικής τεχνικής, τα οποία κυμαίνονται μεταξύ 16,6%-28% [29,68]. Οι Al Moraissi και συν. [78] αναφέρουν ότι τα ποσοστά υποτροπής μειώνονται, όταν εφαρμόζεται πιο επιθετική τεχνική, δηλαδή 8,4% σε περιπτώσεις στις οποίες έχει πραγματοποιηθεί τμηματική εκτομή έναντι 23% μετά από εκκυρήνιση, ενώ οι Chrcanovich και συν. [68] αναφέρουν παρόμοια ποσοστά, δηλαδή 2,2% για τμηματική γναθεκτομή, 28,7% για μαρσιποποίηση και 22,5% για εκκυρήνιση.

Λόγω της αυξημένης πιθανότητας υποτροπής ακόμα και χρόνια μετά την θεραπεία, προτείνονται διάφορα σχήματα παρακολούθησης, όπως παρακολούθηση με τη χρήση πανοραμικής ακτινογραφίας κάθε έξι μήνες για τα πρώτα δύο χρόνια από την αφαίρεση της ΟΚΚ, κάθε χρόνο για τα επόμενα πέντε χρόνια και έπειτα κάθε δύο χρόνια για τα επόμενα δέκα χρόνια [79], ενώ άλλοι συγγραφείς [83] τονίζουν ότι το ελάχιστο χρονικό διάστημα παρακολούθησης πρέπει να είναι τα δέκα έτη. Οι Cunha και συν. [84] προτείνουν να γίνεται επανεξέταση ανά εξάμηνο για τον πρώτο μετεγχειρητικό χρόνο, χωρίς να διευκρινίζουν με ποια μέθοδο, ακολούθως ετήσια επανεξέταση μέχρι τη συμπλήρωση δέκα χρόνων από την εξαίρεση της ΟΚΚ καθώς και να πραγματοποιείται CT ανά δύο έτη από την αφαίρεση της βλάβης.

Ο κίνδυνος υποτροπής φαίνεται να επηρεάζεται και από ποικίλους κλινικούς, ακτινογραφικούς και ιστολογικούς παράγοντες, πέραν της χειρουργικής τεχνικής. Αυτοί είναι η ύπαρξη ΣΣΒΚ [80], η πολύχρωμη ακτινογραφική εικόνα, η εμπλοκή ριζών δοντιών εντός της βλάβης, γεγονός που έχει οδηγήσει στην πρόταση να συναφαιρούνται τα εμπλεκόμενα δόντια [85] αλλά και το μεγάλο μέγεθος της βλάβης [68]. Το φύλο του ασθενούς και η εντόπιση της βλάβης δεν έχουν συσχετισθεί με υποτροπή [86,87]. Σε ιστολογικό επίπεδο, η παρουσία επιθηλιακών εκβλαστήσεων, νησιδίων ή/και θυγατρικών κύστεων έχει υποστηριχθεί ότι σχετίζεται με αυξημένα ποσοστά υποτροπής [68,84]. Ωστόσο, το κύριο αίτιο υποτροπής φαίνεται να είναι η ατελής αρχική αφαίρεση [88].

Τέλος, όσον αφορά στις φαρμακευτικές μεθόδους, έχουν αναφερθεί ελπιδοφόρα αποτελέσματα με τη χρήση βισμοδεγίμπης [89], ενός αναστολέα του σηματοδοτικού μονοπατιού SHH ο οποίος χορηγείται από του στόματος, αφού προκάλεσε μείωση μεγέθους ή και πλήρη αποδρομή ΟΚΚ σε 8 ασθενείς με ΣΣΒΚ σε διάστημα παρακολούθησης 19,5±4 μήνες. Μια άλλη, επικουρική της χειρουργικής μεθόδου, τεχνική είναι η εφαρμογή στα οστικά τοιχώματα των βλαβών, κρέμας 5-φθοριοουρακίλης, ενός αναστολέα της πυριμιδίνης ο οποίος επάγει απόπτωση κυττάρων μέσω αναστολής της πρωτεΐνης SHH [90]. Αυτή η τεχνική σχετίστηκε με μικρότερη πιθανότητα μετεπεμβατικής παραισθησίας και υποτροπής [90].

1.9 Αιτιοπαθογένεια

1.9.1 Προέλευση

Η παθογένεση της ΟΚΚ δεν έχει αποσαφηνισθεί. Η επικρατέστερη θεωρία προέλευσης της ΟΚΚ είναι από τα υπολείμματα της οδοντικής ταινίας, μιας

ταινιοειδούς πάχυνσης του στοματικού επιθηλίου η οποία αποτελείται από επιθηλιακά κύτταρα με κύρια εξειδίκευση την παραγωγή οδοντικών ιστών [91]. Στα αρχικά στάδια της οδοντογένεσης, η οδοντική ταινία εισέρχεται στο υποκείμενο μεσέγγυμα, σχηματίζοντας σφαιροειδείς δομές ή οδοντικά εκβλαστήματα σε 10 προκαθορισμένες θέσεις στις γνάθους, όπου θα προκύψουν τα νεογλά δόντια και, από την επέκτασή της, τα μόνιμα δόντια [92,93]. Κατά την μετάβαση στο στάδιο του κώδωνα, η οδοντική ταινία αποδιοργανώνεται και διασπάται σε πολλαπλά μέρη τα οποία, συνήθως, εκφυλίζονται και απορροφούνται, με μερικά, ωστόσο, να παραμένουν είτε στο συνδετικό ιστό των ούλων είτε εντός του οστού, με προτίμηση την οπίσθια περιοχή των γνάθων [94,95], ως επιθηλιακά υπολείμματα του Serres (υπολείμματα οδοντικής ταινίας). Τα εν λόγω υπολείμματα, τα οποία έχουν ανευρεθεί, τυχαία, σε υψηλό ποσοστό ιστοπαθολογικών μελετών σε τεμάχια βλεννογόνου του οπισθογομφίου τριγώνου και εντός οδοντοθυλακίων εγκλείστων, φαίνεται να διατηρούν την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται κάτω από άγνωστα ερεθίσματα και να δίνουν γένεση στις ΟΚΚ [93]. Σε ποικίλες μελέτες, έχει αποδειχθεί ότι η ΟΚΚ παρουσιάζει ίδιο ανοσοφαινότυπο κυτοκερατινών με την οδοντική ταινία [96] και παρόμοιο με τα επιθηλιακά υπολείμματα του Malassez [97]. Τα τελευταία, σε μελέτη σε ποντίκια, έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να δώσουν γέννηση σε κερατινοποιούμενες κύστεις, οι οποίες, όμως, ιστολογικά ομοιάζουν με ορθοκερατινοποιημένες οδοντογενείς κύστεις [98].

Άλλη θεωρία προτείνει πως η ΟΚΚ προέρχεται από «προς τα κάτω» επέκταση των κυττάρων της βασικής στιβάδας του καλυπτικού επιθηλίου, καθότι σε διάφορες ερευνητικές εργασίες έχει παρατηρηθεί η ύπαρξη νησιδίων ή μικροκύστεων κάτωθεν του επιθηλίου του βλεννογόνου και περίξ αφαιρεθεισών ΟΚΚ, τα οποία φαίνονται να εξορμούνται από τη βασική στιβάδα [91,99,100]. Δεν διευκρινίζεται κατά πόσο σε

αυτές τις περιπτώσεις υπήρχε διάτρηση των οστικών πετάλων και επέκταση των ΟΚΚ προς το καλυπτικό επιθήλιο. Σε μια τέτοια περίπτωση δεν μπορεί να αποκλειστεί τα παρατηρούμενα νησίδα ή/και μικροκύστες να αποτελούν ευρήματα αμιγώς της ενδοστικής βλάβης με επέκταση προς το στοματικό επιθήλιο. Συνεπώς, η προέλευση της ΟΚΚ από τα βασικά κύτταρα του στοματικού επιθηλίου, ίσως, να αποτελεί ελκυστική θεωρία παθογένεσης αποκλειστικά των περιφερικών ΟΚΚ [34].

Δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα σχετικά με τη συμμετοχή του συνδετικού ιστού της ΟΚΚ στην παθογένεση της, αν και είναι άξια αναφοράς η εργασία των Vetdofte και συν. [101] οι οποίοι παρατήρησαν πως, όταν ανθρώπινες ΟΚΚ μεταμοσχεύτηκαν σε αθυμικά (nude) ποντίκια, τα ιστολογικά χαρακτηριστικά των βλαβών διατηρήθηκαν μόνο, όταν υποστηρίζονταν από το δικό τους συνδετικό ιστό. Αντίθετα, όταν ο υποκείμενος συνδετικός ιστός ήταν των ποντικίων, τότε διατηρούταν η παρακερατίνη στιβάδα, αλλά το πάχος του επιθηλίου γινόταν λεπτότερο και τα κύτταρα της βασικής στιβάδας έχαναν τα τυπικά ιστολογικά χαρακτηριστικά της ΟΚΚ [101]. Ο συνδετικός ιστός, ίσως, να παίζει έμμεσο ρόλο στην επιθετική συμπεριφορά της βλάβης, όπως καταδεικνύεται από ανοσοιστοχημικές μελέτες οι οποίες έδειξαν αυξημένη έκφραση μεταλλοπρωτεϊνών [102], αυξημένο αριθμό λεμφοαγγείων θετικών για D2-40 (ποδοπλανίνη) και μυοϊνοβλαστών στο συνδετικό ιστό ΟΚΚ σε σύγκριση με ακρορριζικές κύστες και οδοντοθυλάκια [103]. Έμμεσες αποδείξεις πιθανής ενεργότητας του συνδετικού ιστού της ΟΚΚ, ενδεχομένως, αποτελούν και οι περιπτώσεις δημιουργίας εξωκυττάρων ουσιών, όπως χόνδρου και οδοντινοειδούς υλικού [71,72].

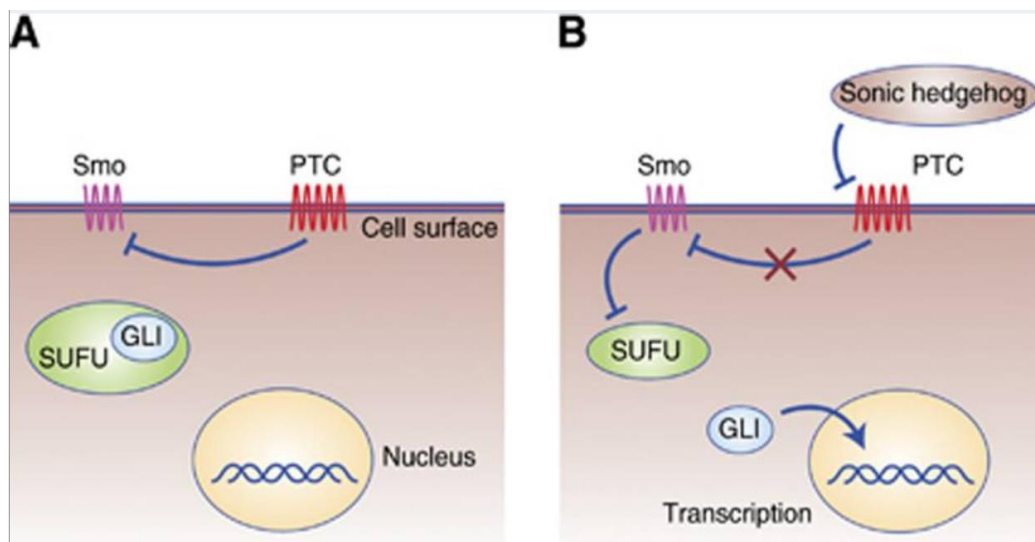
Ιδιαίτερο ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι οι Aragaki και συν. [96] απέδειξαν ίδιο ανοσοϊστοχημικό προφίλ κυτοκερατινών της ΟΚΚ με τη διόγκωση του θυλακίου της τρίχας (hair follicle bulge), μιας εξειδικευμένης περιοχής πάχυνσης στο τριχοθυλάκιο

που περιέχει πολυδύναμα βλαστοκύτταρα [104]. Επίσης, και ο ειδικός για βλαστοκύτταρα μεταγραφικός παράγοντας SOX2, είναι θετικός στην OKK [105] αλλά και στην συγκεκριμένη περιοχή [106]. Αξιοσημείωτο είναι, επίσης, ότι δερματικές κύστεις ιστολογικά όμοιες με τις OKK έχει υποστηριχθεί ότι προέρχονται από το τριχοθυλάκιο [107]. Η διάπλαση της τρίχας και των δοντιών ακολουθεί το ίδιο αναπτυξιακό πρότυπο ,με αλληλεπίδραση του μεσεγγύματος και του επιθηλίου, κάτω από την επίδραση κοινών σηματοδοτικών μορίων και δημιουργία επιθηλιακών παχύνσεων που εισέρχονται στο μεσέγγυμα [108]. Με δεδομένα τα παραπάνω, μια πιθανή «έκτροπη διαφοροποίηση» των υπολειμμάτων της οδοντικής ταινίας, και επακολούθως παθογένεσης OKK, χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

1.9.2 Το σηματοδοτικό μονοπάτι SHH και η παθογένεση της OKK

Η ανακάλυψη, το 1996, ότι μεταλλάξεις του γονιδίου PTCH1 στο μονοπάτι της SHH πρωτεΐνης αποτελούν σταθερό εύρημα στο ΣΣΒΚ, κύριο σημείο του οποίου αποτελεί η OKK, οδήγησε σε πληθώρα ερευνητικών εργασιών για να διαπιστωθεί πιθανός ρόλος του εν λόγω γονιδίου στην παθογένεση των σποραδικών OKK [109,110]. Στη συνέχεια, επιβεβαιώθηκε ότι η δυσλειτουργία του γονιδίου και της πρωτεΐνης PTCH1 αποτελεί κύριο εύρημα στις OKK [51,111]. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι σε πρόσφατη εργασία των Stojanov και συν. [12] βρέθηκαν μεταλλάξεις οι οποίες απενεργοποιούν το PTCH1 στο 93% των 44 σποραδικών OKK του δείγματος ενώ οι Diniz και συν. [112] ανέφεραν ότι, από όλες τις διαφορετικές ισόμορφες πρωτεΐνες οι οποίες μπορούν να παραχθούν από το γονίδιο της PTCH1, η PTCH1b είναι αυτή που συμμετέχει στην παθογένεση τόσο των συνδρομικών όσο και των μη συνδρομικών OKK.

Για να γίνει κατανοητός ο ρόλος της PTCH1 και του μονοπατιού της SHH στην παθογένεση της ΟΚΚ, θα αναλυθεί η φυσιολογική λειτουργία του μονοπατιού κατά την διάπλαση των ιστών. Όπως φαίνεται στην εικόνα 7Α, σε φάση ηρεμίας η PTCH1 εντοπίζεται στην κυτταρική μεμβράνη και αναστέλλει τη μεταγωγή του σήματος της SHH μέσω έμμεσης καταστολής της πρωτεΐνης SMO [113]. Αν και ο ακριβής μηχανισμός καταστολής του SMO από την PTCH1 δεν έχει διευκρινιστεί, φαίνεται ότι η PTCH1 έχει την ικανότητα να δεσμεύει και να αφαιρεί ένα ειδικό τύπο στερολών, τις οξυστερόλες, από το SMO με αποτέλεσμα την απενεργοποίηση του [114]. Επί ενεργοποίησης του μονοπατιού (Εικ. 7Β), η SHH πρωτεΐνη προσδένεται στην PTCH1 στην κυτταρική μεμβράνη αλλάζοντας τη δομή της, με αποτέλεσμα να σταματάει να δρα ως «αντλία οξυστερολών» [114]. Η SMO ενεργοποιείται μετά την συσσώρευση οξυστερολών γύρω από αυτήν και συνδέεται με το σύμπλοκο GLI2/SUFU, απελευθερώνοντας έτσι τους μεταγραφικούς παράγοντες GLI1/2 οι οποίοι κατευθύνονται στον πυρήνα και ενεργοποιούν τα γονίδια στόχους του μονοπατιού [113,114].



Εικόνα 7 : Σχηματική απεικόνιση του σηματοδοτικού μονοπατιού *Sonic Hedgehog* α) επί απουσίας συνδετών Hh β) επί σύνδεσης Hh [115].

Εύλογο είναι ότι, επί δυσλειτουργίας ή απώλειας της πρωτεΐνης PTCH1, δεν επέρχεται καταστολή του μονοπατιού SHH, με αποτέλεσμα την υπερλειτουργία του και τη συνεχή μεταγωγή σημάτων πολλαπλασιασμού [113].

Η OKK με μετάλλαξη του γονιδίου PTCH1 έχει θεωρηθεί ότι μπορεί να προκύψει με τους εξής τρεις μηχανισμούς [116,117]:

(α) Διπλό χτύπημα (double hit theory). Αφορά κατά βάση περιπτώσεις συνδρομικών OKK. Τα κύτταρα έχουν ήδη «ένα χτύπημα», δηλαδή γενετική μετάλλαξη, και αρκεί μια σωματική μετάλλαξη ή μια απώλεια ετεροζυγωτίας ως «δεύτερο χτύπημα» στο αλληλόμορφο γονίδιο για να απενεργοποιηθεί το γονίδιο PTCH1. Αυτή η θεωρία μπορεί να ευσταθεί και για τις μη συνδρομικές OKK, σε περίπτωση που υπάρχουν δύο σωματικές μεταλλάξεις στο γονίδιο PTCH1 ή μια σωματική μετάλλαξη και απώλεια ετεροζυγωτίας [116,117].

(β) Απλο-ανεπάρκεια (haploinsufficiency). Βρίσκει εφαρμογή κυρίως σε σποραδικές OKK και αφορά την ύπαρξη ενός μόνο αλληλόμορφου PTCH1 το οποίο δεν επαρκεί για να παραγάγει την απαιτούμενη ποσότητα πρωτεΐνης [116,118].

(γ) Μετάλλαξη του PTCH1 στο ένα από τα δύο αλληλόμορφα μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή παθολογικής άρα ανενεργής PTCH1 πρωτεΐνης [117].

Επίσης, στην OKK έχουν αναφερθεί μεταλλάξεις στο γονίδιο SMO, απώλεια ετεροζυγωτίας του PTCH2, αλληλόμορφου της PTCH1, με μη επαρκώς εξακριβωμένο ρόλο και του SUFU (ανασταλτική δράση στο SHH) ενώ υπάρχουν ενδείξεις για συμμετοχή του μεταγραφικού παράγοντα GLI2 [119,120].

1.9.3 Γενετικές ή επιγενετικές τροποποιήσεις και έρευνες γονιδιώματος/μεταγραφώματος στην ΟΚΚ

Πέραν του σηματοδοτικού μονοπατιού SHH, έχει αναφερθεί μεθυλίωση των γονιδίων LINE-1, p16, p21, BCL2L11(Bim) στο 86,10% και TNFRSF25, απώλεια ετεροζυγωτίας των ογκοκατασταλτικών γονιδίων p16, p53, MCC, TSLC1, LATS2 και FHIT και μεταλλάξεις των γονιδίων MAPK, CDON και TP53 [121,122]. Όσον αφορά μελέτες του γονιδιώματος της ΟΚΚ, οι Heikinheimo και συν. [123] διαπίστωσαν ότι το «γονιδιακό προφίλ» της ΟΚΚ, όπως μελετήθηκε με την τεχνική των μικροσυστοιχιών σε 12 μη συνδρομικές ΟΚΚ, ήταν παρόμοιο με το αρχέγονο στοματικό επιθήλιο και την οδοντική ταινία και διαφορετικό από αυτό του οργάνου της αδαμαντίνης και του αδαμαντινοβλαστώματος. Σε άλλη μελέτη, οι Hu και συν. [124], με ανάλυση μεταγραφώματος, περιέγραψαν δύο ξεχωριστές «ομάδες» ΟΚΚ: μια ομάδα η οποία χαρακτηρίζεται από μεταγράφομα ομοιάζον με αυτό των εκκριτικών αδαμαντινοβλαστών και η άλλη από μεταγράφομα ομοιάζον με το αντίστοιχο των οδοντινοβλαστών. Κύρια διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων είναι ότι στην πρώτη, ενεργοποιείται το σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K/AKT, ενώ στη δεύτερη το σηματοδοτικό μονοπάτι της MAPK [124].

2. ΟΡΘΟΚΕΡΑΤΙΝΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΟΔΟΝΤΟΓΕΝΗΣ ΚΥΣΤΗ

2.1 Ορισμός

Η Ορθοκερατινοποιημένη Οδοντογενής Κύστη (ΟΟΚ) ορίζεται ως μια «οδοντογενής κύστη που επενδύεται πλήρως ή κατά την μεγαλύτερη έκταση της από ορθοκερατινοποιημένο πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο» σύμφωνα με την τελευταία ταξινόμηση των όγκων κεφαλής και τραχήλου του WHO το 2017 [1].

2.2 Ιστορική αναδρομή και ονοματολογία

Όπως και στην Οδοντογενή Κερατινοκύστη, η πρώτη, πιθανόν, καταγεγραμμένη αναφορά ΟΟΚ χρονολογείται στα τέλη του 19^{ου} αιώνα από τον Γάλλο Jeannel, ο οποίος περιέγραψε την εμφάνιση μια πολύχωρης κυστικής βλάβης στην άνω γνάθο ενός 43χρόνου άνδρα το 1885 [125]. Αν και το αρχικό άρθρο δεν παραθέτει ιστολογική εικόνα, ο συγγραφέας περιγράφει ότι η βλάβη «επαλειφόταν από παχύ ορθοκερατινοποιημένο επιθήλιο, καλά ανεπτυγμένη κοκκώδη και ακανθωτή στιβάδα και περιεχόμενο από θραύσματα κερατίνης», ωστόσο δεν γίνεται αναφορά στα χαρακτηριστικά των κυττάρων της βασικής στιβάδας [125]. Η πρώτη αναφορά περί σαφούς διαχωρισμού των δύο οντοτήτων (ΟΚΚ και ΟΟΚ) έγινε το 1932 με παράθεση, μάλιστα, χαρακτηριστικών ιστολογικών εικόνων της κάθε οντότητας [126].

Στα νεότερα χρόνια, οι πρώτες αναφορές για βλάβες τύπου ΟΟΚ γίνονται από τους Philipsen το 1956 [4] και Wright το 1981 [127]. Ο πρώτος τοποθέτησε την ΟΟΚ στο ίδιο φάσμα με τις ΟΚΚ ενώ ο δεύτερος έκανε λόγο για «ορθοκερατινοποιημένο υπότυπο» της ΟΚΚ, αναφορές που είχαν αντίκτυπο στις μετέπειτα ταξινομήσεις της οντότητας από τον WHO στην επιδημιολογία της βλάβης (βλέπε εδάφιο *Επιδημιολογία*) αλλά και στην ευρεία χρήση, σε ποικίλα άρθρα, των όρων

«ορθοκερατινοποιημένη οδοντογενής κερατινοκύστη», «ορθοκερατινοποιημένη αρχέγονη κύστη» ή «οδοντογενής κερατινοκύστη με ορθοκερατινοποίηση», χωρίς στις μελέτες αυτές να διευκρινίζεται αν οι βλάβες αποτελούν ΟΚΚ με περιοχές ορθοκερατινοποίησης ή αληθείς ΟΟΚ που ταξινομήθηκαν απλώς στην ίδια κατηγορία με τις ΟΚΚ [128]. Άλλο όνομα το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί είναι το «κύστη των γνάθων με ορθοκερατινοποίηση» [129]. Επίσης, ο όρος «ενδοστική επιδερμοειδής/επιδερμική κύστη» είναι αμφιλεγόμενος, αφού η πλειοψηφία των περιπτώσεων που έχουν δημοσιευθεί με αυτόν τον τίτλο φαίνεται να αφορούν ΟΟΚ, και όχι αληθείς επιδερμοειδείς κύστεις/ επιδερμικές κύστεις εξ εγκλεισμού [130,131]. Τελικώς, το 1998, οι Li και συν. [132] περιέγραψαν 15 κύστεις κάτω από τον περιγραφικό όρο «ορθοκερατινοποιημένη οδοντογενής κύστη», ο οποίος έκτοτε χρησιμοποιείται για να περιγράψει την οντότητα.

2.3 Ταξινόμησης κατά τον WHO

Η πρώτη αναφορά της ΟΟΚ σε ταξινομήσεις του WHO γίνεται στην 3^η έκδοση το 1992 [10] ως υπότυπου της ΟΚΚ, χωρίς ιδιαίτερη μνεία των ιστολογικών της χαρακτηριστικών. Αν και οι διαφορές ανάμεσα στις δύο κύστεις αρχίζουν να γίνονται εμφανείς και να προτείνεται ότι αποτελούν δύο ξεχωριστές οντότητες [132], αρκετοί συγγραφείς εξακολουθούν να κατατάσσουν την ΟΟΚ στο ιστολογικό φάσμα της ΟΚΚ [133].

Με την ταξινόμηση της ΟΚΚ στους οδοντογενείς όγκους το 2005, δεν γίνεται αναφορά στην ακριβή κατηγορία στην οποία θα πρέπει να ταξινομείται η ΟΟΚ, αν και από την περιγραφή των χαρακτηριστικών της ΟΚΚ συνάγεται ότι η ΟΟΚ θα πρέπει να αναφέρεται ως ανεξάρτητη οντότητα με διαφορετική βιολογική συμπεριφορά [11].

Τελικώς, στην ταξινόμηση του 2017 [1], η ΟΟΚ περιγράφεται ως ξεχωριστή οντότητα από την ΟΚΚ ενώ τονίζεται η αποφυγή χρήσης του όρου «ορθοκερατινοποιημένος υπότυπος της ΟΚΚ».

2.4 Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά

2.4.1 Συχνότητα

Η περιγραφή της ΟΟΚ ως υπότυπου της ΟΚΚ είχε σημαντική επίπτωση στον υπολογισμό της πραγματικής της συχνότητας [134]. Από παλαιότερες επιδημιολογικές μελέτες που αφορούν την ΟΚΚ και περιλαμβάνουν την ΟΟΚ στην ίδια κατηγορία με την πρώτη, προκύπτει ότι η αναλογία ΟΚΚ:ΟΟΚ είναι περίπου 9:1, με τα ποσοστά εμφάνισης της ΟΟΚ σε αυτές τις μελέτες να κυμαίνονται από 5,2% έως 16,8% [127,128]. Με βάση τα προαναφερθέντα, υπολογίζεται ότι η ΟΟΚ αποτελεί περίπου το 1% του συνόλου των οδοντογενών κύστεων [1,134]. Στη μεγαλύτερη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας αναφέρεται η εμφάνιση 0,82 περιπτώσεων ΟΟΚ ανά έτος με τη συχνότερη εμφάνιση (1,07 περιπτώσεις/έτος) να καταγράφεται στην Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική [134,135].

Στην εργασία των Ταμιωλάκη και συν. [30], η ΟΟΚ αποτελούσε το 0,2% των κύστεων οδοντογενούς αιτιολογίας, αντιστοιχώντας σε 14 περιπτώσεις σε σύνολο 5.145 οδοντογενών κύστεων και συνολικά 5.294 κύστεων των γνάθων, στο διάστημα 1980-2017.

2.4.2 Φύλο και ηλικία

Η ΟΟΚ δείχνει εμφανή προτίμηση στο ανδρικό φύλο με αναλογία ανδρών:γυναικών 1,95:1, σύμφωνα με την μεγαλύτερη συστηματική ανασκόπηση [134], ενώ σε άλλες

μελέτες η αναλογία αυτή φθάνει το 2,59:1 [135]. Στην μελέτη των Ταμιωλάκη και συν. [30] παρατηρείται πλήρης υπεροχή του ανδρικού φύλου, με 13 περιπτώσεις σε άρρενες έναντι μιας σε θήλυ.

Η ΟΟΚ εμφανίζεται, κυρίως, στην 3^η με 4^η δεκαετία, με μέση ηλικία τα 35 έτη και ηλικία αρχικής εμφάνισης μεταξύ των 34 -37 ετών [134]. Θα πρέπει να σημειωθεί η ηλικία προσβολής των γυναικών ήταν μικρότερη αυτής των ανδρών [134]. Στην μεγαλύτερη επιδημιολογική μελέτη ΟΟΚ, οι Dong και συν. [135] ανέφεραν μέση ηλικία ασθενών τα 38,9 έτη, με εύρος 13-75 έτη, ενώ στις 14 καταγεγραμμένες περιπτώσεις ΟΟΚ του Εργαστηρίου Στοματολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ στο διάστημα 1980-2017 [30], η μέση ηλικία των ασθενών με ΟΟΚ ήταν τα 48±19,5 έτη, ηλικία αρκετά μεγαλύτερη από αυτή η οποία αναφέρεται στην πλειοψηφία των μελετών από την Ευρωπαϊκή ήπειρο [136].

2.5 Κλινικά χαρακτηριστικά

Όπως συμβαίνει και στην ΟΚΚ, η κάτω γνάθος αποτελεί τη συχνότερη θέση εμφάνισης της ΟΟΚ, με αναλογία κάτω προς άνω γνάθου περίπου 2,5 προς 1, ενώ και σε αυτή την περίπτωση προσβάλλονται κυρίως οι οπίσθιες περιοχές αυτής [134]. Το μεγαλύτερο ποσοστό προσβολής της κάτω γνάθου που έχει αναφερθεί είναι 93% [132] ενώ στον Ελληνικό πληθυσμό ανέρχεται σε 64,2% [30]. Τόσο στη συστηματική ανασκόπηση των McDonald-Jankowski [134] η οποία εξετάζει το σύνολο των δημοσιευμένων επιδημιολογικών μελετών ΟΟΚ ανά την υφήλιο, όσο και στην επιδημιολογική μελέτη με το μεγαλύτερο δείγμα ΟΟΚ [135], παρατηρείται ότι, όταν η βλάβη εντοπίζεται στην άνω γνάθο, οι πρόσθιες και οι οπίσθιες περιοχές προσβάλλονται με την ίδια αναλογία. Αυτό, ενδεχομένως, να δικαιολογείται από το

γεγονός ότι η ΟΟΚ συνήθως σχετίζεται με έγκλειστα δόντια (βλέπε εδάφιο *Ακτινογραφικά χαρακτηριστικά*), τα οποία στην άνω γνάθο εντοπίζονται κυρίως στην περιοχή των κυνοδόντων [137].

Εν αντιθέσει με την ΟΚΚ, δεν υπάρχει αποδεδειγμένη συσχέτιση της ΟΟΚ με το ΣΣΒΚ ή άλλα σύνδρομα [134]. Οι Bolbaran και συν. [138] περιέγραψαν μια περίπτωση ΟΟΚ σε έδαφος ΣΣΒΚ ενώ πρόσφατα οι Argyris και συν. [139] ανέφεραν περίπτωση ΟΟΚ με ασυνήθη ιστολογικά χαρακτηριστικά σε ασθενή με διαγνωσμένο σύνδρομο Gardner, ένα σύνδρομο το οποίο χαρακτηρίζεται από πολλαπλές επιδερμοειδείς κύστες, δηλαδή δερματικές βλάβες ιστολογικά όμοιες με την ΟΟΚ. Στην βιβλιογραφία υπάρχουν, επίσης, περιπτώσεις πολλαπλών ή /και αμφοτερόπλευρων ΟΟΚ σε μη συνδρομικούς ασθενείς, κυρίως, στην κάτω γνάθο και σε συσχέτιση με έγκλειστο δόντι [140]. Ακόμη, έχει αναφερθεί περίπτωση ύπαρξης 4 ΟΟΚ αμφοτερόπλευρα σε άνω και κάτω γνάθο, με τις 3 από τις 4 βλάβες να περιβάλλουν τη μύλη έγκλειστων γομφίων [141]. Οι περισσότερες ΟΟΚ αποτελούν τυχαία ευρήματα ενώ η διόγκωση αποτελεί το συχνότερο κλινικό σημείο στο 41% των περιπτώσεων [134,135]. Επιπροσθέτως, έχουν αναφερθεί πόνος και επιμόλυνση των βλαβών με συνοδό πυόρροια ως κύρια συμπτώματα [134,135].

2.6 Ακτινογραφικά χαρακτηριστικά

Οι ΟΟΚ εμφανίζονται στο 93% των περιπτώσεων ως μονόχωρες ακτινοδιαυγάσεις με καλά περιγεγραμμένα όρια, αν και έχουν αναφερθεί μεμονωμένες περιπτώσεις πολύχωρης εμφάνισης, με πολλές, ωστόσο, μελέτες να μην αναφέρουν ακτινογραφικές πληροφορίες [134,142]. Σε λίγες περιπτώσεις έχει αναφερθεί ακτινογραφική εικόνα με επιθετικά χαρακτηριστικά, όπως παρεκτόπιση δοντιών, παρειογλωσσική επέκταση, μικροδιατρήσεις οστικών πετάλων και επέκταση στο ιγμόρειο άντρο [134] ενώ, συνήθως, δεν παρατηρείται απορρόφηση ριζών [142]. Όσον αφορά άλλες ασυνήθεις ακτινογραφικές εκδηλώσεις της ΟΟΚ, οι Kulkarni και συν. [143] περιέγραψαν μια περίπτωση ΟΟΚ σε σχέση με οδόντωμα που εκτεινόταν εντός του ιγμορείου, δίνοντας μικτή εικόνα με στικτές περιοχές ακτινοσκίασης.

Ένα από τα κυριότερα χαρακτηριστικά της ΟΟΚ είναι η συσχέτιση με έγκλειστα δόντια σε ποσοστό που κυμαίνεται από 30% έως 75%, με μέσο ποσοστό το 68% [134,135,144]. Δεν υπάρχουν συνολικά στοιχεία για το ποια έγκλειστα δόντια βρίσκονται πιο συχνά σε σχέση με ΟΟΚ, αν και, από τις έως τώρα δημοσιευμένες περιπτώσεις, διαφαίνεται ότι οι 3^{οι} γομφίοι και στη συνέχεια οι κυνόδοντες, αποτελούν τα συχνότερα προσβαλλόμενα δόντια [134,135,144].

Στην περίπτωση των Argyris και συν. [139] η βλάβη εντοπιζόταν σε πλάγια περιοδοντική θέση, ανάμεσα στις ρίζες προσθίων δοντιών εκτοπίζοντάς τες ενώ έχουν αναφερθεί 8 περιπτώσεις εμφάνισης της ΟΟΚ σε ακρορριζική θέση, με 2/8 βλάβες να προσβάλλουν την πρόσθια άνω γνάθο [145]. Δεν υπάρχουν αναφορές περιφερικών ΟΟΚ



Εικόνα 8 : Ακτινογραφική εικόνα δημοσιευμένου περιστατικού αμφοτερόπλευρων ΟΟΚ: μονόχωρες ακτινοδιαγνώσεις με καλά περιγεγραμμένα όρια σε σχέση με έγκλειστους γομφίους [141]

2.7 Ιστολογικά χαρακτηριστικά

Ιστολογικά, η ΟΟΚ χαρακτηρίζεται από πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο, με εμφανή ορθοκερατίνη στιβάδα, με φολιδωτή, «δίκην φλοιού κρεμμυδιού», διάταξη της ορθοκερατίνης, διακριτή κοκκώδη στιβάδα και ωοειδούς ή επίπεδης μορφολογίας κύτταρα βασικής στιβάδας τα οποία, ωστόσο, δεν χαρακτηρίζονται από πασσαλοειδή διάταξη ή βαθυχρωμασία των πυρήνων [1,127]. Εστιακά, μπορεί να παρατηρηθεί παρακερατινοποιημένο ή μη-κερατινοποιημένο επιθήλιο, κυρίως σε σχέση με δευτερογενή φλεγμονή, ενώ εντός της κοιλότητας υπάρχουν φολίδες κερατίνης [1,127]. Σε περιπτώσεις ύπαρξης, έστω και εστιακά, χαρακτηριστικών ΟΚΚ, η διάγνωση, βάσει ορισμού, θα πρέπει να τροποποιηθεί σε ΟΚΚ [127], αν και ορισμένοι συγγραφείς περιγράφουν αυτές τις περιπτώσεις ως υβριδική βλάβη ΟΟΚ και ΟΚΚ [139]. Ο συνδετικός ιστός είναι πυκνός ινώδης και, συνήθως, ελεύθερος

φλεγμονής [127]. Δεν έχει αναφερθεί η ύπαρξη εκπλαστήσεων, θυγατρικών κύστεων ή/και επιθηλιακών νησιδίων στην ΟΟΚ [129,135].

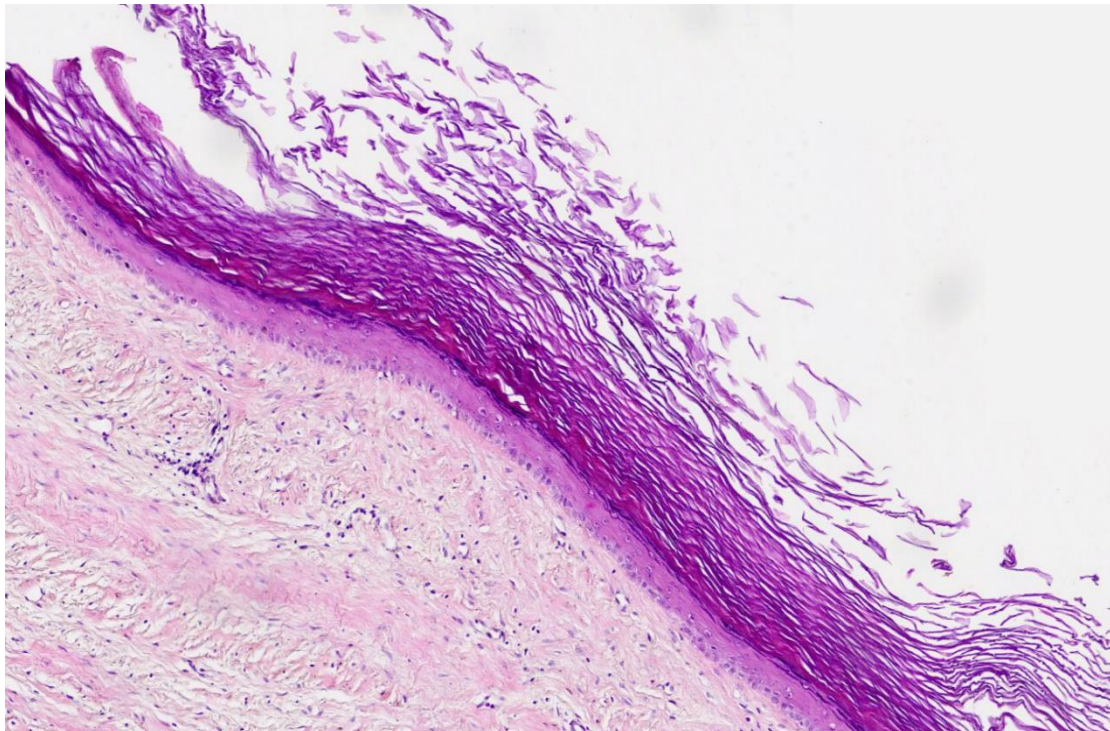
Επί δευτερογενούς φλεγμονής δύναται να παρατηρηθεί δημιουργία επιθηλιακών καταδύσεων, κρύσταλλοι χοληστερόλης, σωματία υαλίνης και δυστροφικές ενασβεστιώσεις [129].

Σε συνολικά 8 περιπτώσεις ΟΟΚ έχει αναφερθεί η ύπαρξη σμηγματογόνων αδένων τόσο στο συνδετικό ιστό [129] όσο και εντός του επιθηλίου [146,147] καθώς και μια περίπτωση ύπαρξης ιδρωτοποιών αδένων και τριχοθυλακίων στο συνδετικό ιστό ΟΟΚ [129]. Σε αυτές τις περιπτώσεις, οι συγγραφείς επισημαίνουν ότι εγείρεται προβληματισμός τόσο για τη διαφοροδιάγνωση τους, κατά πόσο δηλαδή είναι ΟΟΚ με μεταπλασία του οδοντογενούς επιθηλίου ή αληθείς ενδοστικές δερμοειδείς/επιδερμοειδείς κύστεις, όσο και, εν γένει, για την οδοντογενή προέλευση της ΟΟΚ (βλέπε εδάφιο *Αιτιοπαθογένεια*) [147].

Οι Ide και συν. [148] περιέγραψαν μια περίπτωση ΟΟΚ με τμήματα καλά σχηματισμένου χόνδρου στο συνδετικό ιστό, αποδίδοντας την, ωστόσο, σε τυχαία συνύπαρξη ΟΟΚ και ενδοστικής χονδροειδούς ετεροτοπίας (χονδροειδές χωρίστωμα). Οι Argyris και συν. [139] ανέφεραν την ύπαρξη ενασβεστιώσεων και κυττάρων φαντασμάτων στην ΟΟΚ σε περίπτωση ασθενούς με σύνδρομο Gardner, και οι Bernandes και συν. [149] περίπτωση συνύπαρξης ΟΟΚ με ενασβεστιούμενη οδοντογενή κύστη. Έχουν περιγραφεί μη επαρκώς τεκμηριωμένα περιστατικά με παρουσία οδοντινοειδούς ή οστεοειδούς υλικού [150] και αθροίσεων πολυπύρηνων γιγαντοκυττάρων στο συνδετικό ιστό ΟΟΚ [151].

Όπως και στην ΟΚΚ, έτσι και στην ΟΟΚ έχει αναφερθεί δυσπλασία [152] ή/και εξαλλαγή του κυστικού επιθηλίου της σε κεντρικό ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα

[153,154], με τον ακριβή μηχανισμό αυτής της εξαλλαγής να είναι δύσκολο να εξακριβωθεί λόγω της σπανιότητας των περιπτώσεων. Φαίνεται ότι η χρονιότητα των βλαβών και η ύπαρξη πολλαπλών υποτροπών να είναι πιθανοί προδιαθεσικοί παράγοντες [155].



***Εικόνα 9:** Ιστολογική εικόνα ΟΟΚ: Παρατηρείται πεταλιώδης ορθοκερατίνη στιβάδα, διακριτή κοκκώδης στιβάδα και απουσία χαρακτηριστικών της ΟΚΚ στα κύτταρα της βασικής στιβάδας (χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200) (πηγή: Εργαστήριο Στοματολογίας Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ)*

2.8 Θεραπεία

Η παλαιότερη κατάταξη της ΟΟΚ στις Οδοντογενείς Κερατινοκύστεις καθώς και η σπανιότητά της έχουν ως αποτέλεσμα την απουσία μεγάλων τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών ή συστηματικών ανασκοπήσεων που να αφορούν την ενδεδειγμένη θεραπευτική μέθοδο για την αντιμετώπιση της [134,135]. Απότοκο αυτού είναι η λήψη πληροφοριών σχετικά με τη θεραπεία της κύστης από τις λίγες αναδρομικές επιδημιολογικές μελέτες στις οποίες αναφέρεται η θεραπευτική μέθοδος που ακολουθήθηκε και δεδομένα όπως ο χρόνος παρακολούθησης και η ανταπόκριση στη θεραπεία [128,134,135].

Η κύρια μέθοδος που έχει χρησιμοποιηθεί είναι η εκκυρήνιση (με ή χωρίς περιφερική απόξεση) και, δευτερευόντως, η μαρσιποποίηση με εκκυρήνιση σε δεύτερο χρόνο ενώ σε μια επιδημιολογική μελέτη έχει αναφερθεί ή εκκυρήνιση με χρήση διαλύματος Carnoy σε 4 ασθενείς [127,134,142]. Οι Dong και συν. [135] ανέφεραν την εφαρμογή εκκυρήνισης σε 52 από τις 61 βλάβες της εργασίας τους, 2 βλάβες αντιμετωπίστηκαν με μαρσιποποίηση ενώ οι υπόλοιπες 7 βλάβες που χαρακτηρίζονταν από πολύχρωμη εμφάνιση και μεγάλο μέγεθος αντιμετωπίστηκαν με περιφερική οστεοτομία. Όσον αφορά στην επιτυχία ή όχι των θεραπευτικών μεθόδων, σε 42 από τους 61 ασθενείς για τους οποίους καταγράφηκαν δεδομένα μετέπειτα παρακολούθησης (εύρος χρόνου παρακολούθησης 6 -282 μήνες, μέσος χρόνος 76,8 μήνες) δεν αναφέρθηκε καμία περίπτωση υποτροπής. Με τη μέθοδο της εκκυρήνισης αντιμετωπίστηκαν και 8 ασθενείς στην εργασία των Uddin και συν. [156] χωρίς να αναφερθεί υποτροπή (εύρος παρακολούθησης 7-62 μήνες). Στη μεγαλύτερη συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας σημειώνεται ότι, ανεξαρτήτως της θεραπευτικής μεθόδου, το ποσοστό υποτροπής της ΟΟΚ υπολογίζεται σε 2-4%, με τους συγγραφείς, ωστόσο, να τονίζουν ότι πληροφορίες για πιθανή υποτροπή αναφερόνταν μόνο σε 10 από τις 36

επιλεχθείσες εργασίες, οι οποίες προέρχονταν κυρίως από τον Δυτικό κόσμο [134]. Μέχρι σήμερα, δεν έχει γίνει προσπάθεια συσχέτισης κλινικών, ακτινογραφικών ή ιστολογικών παραμέτρων με τον κίνδυνο υποτροπής της ΟΟΚ.

Τέλος, στις περιπτώσεις στις οποίες εμπλέκεται έγκλειστο δόντι προτιμάται η αφαίρεση της βλάβης με το δόντι *en bloc*, αν και σε ορισμένα περιστατικά εμφάνισης της βλάβης στην πρόσθια περιοχή και σε νεαρούς ασθενείς συστήνεται η αφαίρεση της κύστης με τη μέθοδο της εκπυρήνισης ή της μαρσιποποίησης και η προσπάθεια ορθοδοντικής ανατολής του δοντιού [157]. Είναι άγνωστο, ωστόσο, αν αυτή η θεραπευτική προσέγγιση έχει συσχετιστεί με μεγαλύτερο κίνδυνο υποτροπής.

2.9 Αιτιοπαθογένεια

Η ακριβής αιτιοπαθογένεια της ΟΟΚ παραμένει άγνωστη, με την αρχική περιγραφή της ως υπότυπου της ΟΚΚ να έχει επίπτωση και στις προτεινόμενες θεωρίες δημιουργίας της, οδηγώντας τους συγγραφείς στο συμπέρασμα ότι και αυτή η βλάβη προέρχεται από τα υπολείμματα της οδοντικής ταινίας [127]. Με την πάροδο του χρόνου άρχισαν να φαίνονται οι διαφορές των δύο οντοτήτων (βλέπε εδάφιο **Σύγκριση ΟΚΚ με ΟΟΚ**) κι έτσι διατυπώθηκαν εναλλακτικές θεωρίες αιτιοπαθογένειας. Η πολύ συχνή συσχέτιση της ΟΟΚ με έγκλειστο δόντι οδήγησε τους Vuhaahula και συν. [129] να θεωρήσουν την ΟΟΚ ως μια «οδοντοφόρο κύστη με ορθοκερατινοποίηση», υποθέτοντας ότι το λεπτυνθέν επιθήλιο της αδαμαντίνης έχει την ικανότητα να κερατινοποιείται κάτω από κατάλληλα ερεθίσματα σε μια μορφή μεταπλασίας.

Η αναφορά ύπαρξης σμηγματογόνων αδένων και εξαρτημάτων του δέρματος σε ΟΟΚ γέννησε τον προβληματισμό κατά πόσο αυτές οι κύστεις αποτελούν βλάβες

επιδερμικής και όχι οδοντογενούς προέλευσης καθώς και αν βρίσκονται στο φάσμα ενδοστικών δερμοειδών κύστεων, αποτελώντας έτσι μια μορφή ενδοστικών τερατωμάτων ή χωριστωμάτων[146,147]. Ειδικότερα, οι Chi και συν. [147] θεώρησαν ότι η παρουσία των σμηγματογόνων αδένων, πιθανόν, οφείλεται σε μεταπλασία του κυστικού επιθηλίου ως ένδειξη του πολυδύναμου χαρακτήρα του οδοντογενούς επιθηλίου. Οι Aragaki και συν. [96] με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας υποστήριξαν ότι η ΟΟΚ έχει ανοσοφαινότυπο παρόμοιο με αυτόν που συναντάται στην επιδερμίδα και την επιδερμοειδή κύστη, με διάχυτη θετικότητα των κυττάρων της βασικής στιβάδας σε CK14 και CK15 και της υπερβασικής σε CK1,CK2,CK10. Επιπλέον, ανέφεραν ότι τα κύτταρα της ΟΟΚ χαρακτηρίζονται από πλήρως διαφοροποιημένο επιθηλιακό φαινότυπο, ενισχύοντας τον προβληματισμό περί πιθανής επιδερμικής προέλευσης.

Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις ενδοστικών επιδερμοειδών κύστεων επιδερμικού εγκλεισμού στις γνάθους που προέκυψαν μετά από τραύμα στην περιοχή του προσώπου και επακόλουθη εμφύτευση δέρματος ενδοστικά, το οποίο, σε ύστερο χρόνο, έδωσε γένεση σε αυτές τις βλάβες [167]. Η απουσία αναφοράς τραύματος στις περιπτώσεις των ΟΟΚ απομακρύνει το ενδεχόμενο ένα μέρος αυτών να αποτελεί τέτοιου τύπου, «τραυματικής αιτιολογίας», κύστεις [131]. Επίσης, είναι άγνωστο αν η ΟΟΚ μπορεί να προέρχεται από διαφοροποίηση προς επιδερμίδα υπολειμμάτων του εξωδέρματος τα οποία παραμένουν εντός των γνάθων μετά την εμβρυογένεση, κατά τρόπο ανάλογο με την προτεινόμενη προέλευση της ρινουπερώιας κύστης από εμβρυϊκά υπολείμματα του ρινοϋπερώιου πόρου [131,158].

Η παρουσία έντονης ορθοκερατινοποίησης η οποία, κατά περιπτώσεις, μπορεί να εμφανίζει μυρμηκιάδη μορφολογία, και η σπάνια ύπαρξη κυττάρων με διαυγή περιυρηνική άλω που θυμίζουν ιογενώς προσβεβλημένα κύτταρα, οδήγησε δύο

ερευνητικές ομάδες στην υπόθεση ότι οι ΟΟΚ ,ίσως, αποτελούν βλάβες σχετιζόμενες με τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV), υπότυποι του οποίου έχουν ανιχνευτεί και σε άλλες ενδοστικές οδοντογενείς βλάβες [159]. Παρ'ολ αυτά, σε σύνολο 29 ΟΟΚ δεν ανιχνεύτηκε κάποιος υπότυπος του HPV με τη μέθοδο της PCR [160,161].

Σε άλλες ερευνητικές εργασίες, οι Diniz και συν. [162] απέδειξαν ότι 4/7 ΟΟΚ του δείγματος έφεραν απώλεια ετεροζυγωτίας στο γονίδιο PTCH, το οποίο, όπως προαναφέρθηκε, αποτελεί γενετική ανωμαλία σχετιζόμενη με την αιτιοπαθογένεια της ΟΚΚ. Ωστόσο, ανοσοϊστοχημικές μελέτες δεν καταδεικνύουν υπερέκφραση της SHH ή μορίων-στόχων του στις ΟΟΚ [51]. Έμμεσες πληροφορίες για τον ρόλο του PTCH και του σηματοδοτικού μονοπατιού SHH δίνει η εργασία των Grachtchouk και συν. [98] στην οποία διαπιστώθηκε ότι, σε ποντίκια με γενετική τροποποίηση ώστε να υπερεκφράζουν το μόριο GLI2, παρατηρήθηκε δημιουργία κύστεων με ιστολογική ομοιότητα με ΟΟΚ. Επίσης, οι Hoon Cha και συν. [163] ανίχνευσαν μεταλλάξεις του γονιδίου BRAF σε 1/11 ΟΟΚ, με το ρόλο, ωστόσο, του συγκεκριμένου γονιδίου και κατ' επέκταση του σηματοδοτικού μονοπατιού MAPK/ERK να παραμένει άγνωστος στην ΟΟΚ.

3. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΟΚΚ ΜΕ ΟΟΚ

3.1 Επιμέρους διαφορές και ομοιότητες ΟΚΚ/ΟΟΚ

Συνοψίζοντας τα παραπάνω εδάφια, γίνεται κατανοητό ότι, παρά την αρχική αντίληψη περί δυο διαφορετικών υποτύπων της ίδιας οντότητας, η ΟΚΚ και η ΟΟΚ αποτελούν δύο ξεχωριστές οντότητες με αρκετές διαφορές και λιγότερες ομοιότητες σε όλα τα επίπεδα. Συγκεκριμένα:

α) Σε επιδημιολογικό επίπεδο, αν και από άποψη προσβολής φύλου και μέσης ηλικίας οι δύο βλάβες ομοιάζουν, υπάρχει σαφής διαφορά στη συχνότητα τους, με την ΟΚΚ να αποτελεί το 10% περίπου των οδοντογενών κύστεων [29] και επιπολασμό περίπου 15,1 ασθενείς ανά εκατομμύριο πληθυσμού [164], ενώ η ΟΟΚ υπολογίζεται ότι αποτελεί το 1% του συνόλου των οδοντογενών κύστεων [134].

β) Σε κλινικό επίπεδο, και οι δύο βλάβες δείχνουν προτίμηση για τις οπίσθιες περιοχές της κάτω γνάθου, ωστόσο από πλευράς βιολογικής συμπεριφοράς, η ΟΚΚ μπορεί να φθάσει σε μεγαλύτερο μέγεθος, προκαλώντας συχνότερα έκπτυξη των οστικών πετάλων, αυτόματα κατάγματα, οίδημα, πυόρροια και πόνο σε σχέση με την ΟΟΚ, η οποία, σχεδόν, στο 50% των περιπτώσεων αποτελεί τυχαίο εύρημα [29,134]. Επίσης, περιπτώσεις ΟΚΚ εμφανίζονται σε έδαφος συνδρόμου, κυρίως του ΣΣΒΚ, με χαρακτηριστικά την πολλαπλή εμφάνιση και τον αυξημένο κίνδυνο υποτροπών, εν αντιθέσει με την ΟΟΚ που, μέχρι σήμερα, δεν έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζεται στα πλαίσια κάποιου συνδρόμου [29,127,134].

γ) Σε ακτινογραφικό επίπεδο, η ΟΚΚ μπορεί να δώσει πολύχωρη εμφάνιση συχνότερα από την ΟΟΚ [29,134] καθώς και άλλα επιμέρους ακτινογραφικά χαρακτηριστικά ενδεικτικά επιθετικής βιολογικής συμπεριφοράς, όπως παρεκτόπιση δοντιών, απορρόφηση ριζών και παρειογλωσσική επέκταση [29,56,134]. Η

κυριότερη, ωστόσο, διαφορά των δύο οντοτήτων έγκειται στην διαφορετική συχνότητα συσχέτισης με έγκλειστο δόντι, η οποία στην ΟΟΚ φθάνει το εντυπωσιακό ποσοστό 69,4%, ενώ στην ΟΚΚ ανέρχεται σε ποσοστό, 35,4% [29,134].

δ) Σε ιστολογικό επίπεδο, αν και οι δύο κύστεις αποτελούν τις κατεξοχήν οδοντογενείς κυστικές βλάβες με επιθηλιακό πρότυπο διαφοροποίησης το οποίο προσομοιάζει με το καλυπτικό επιθήλιο βλεννογόνων ή της επιδερμίδας [127], η μεν ΟΚΚ χαρακτηρίζεται από παρακερατινοποιημένο επιθήλιο με κυματοειδή επιφάνεια που συχνά εμφανίζεται αποκολλημένο από τον υποκείμενο συνδετικό ιστό [67], ενώ η ΟΟΚ από ορθοκερατινοποιημένο επιθήλιο με εμφανή κοκκώδη στιβάδα [127]. Τα κύτταρα της βασικής στιβάδας στην ΟΚΚ έχουν χαρακτηριστική πασσαλοειδή διάταξη με βαθυχρωματικούς πυρήνες, εύρημα που απουσιάζει από την ΟΟΚ [67,132]. Στην ΟΚΚ παρατηρούνται, αρκετά συχνά, ιστολογικά ευρήματα όπως η παρουσία επιθηλιακών νησιδίων και εκβλαστήσεων καθώς και θυγατρικών κύστεων [67], ευρήματα τα οποία δεν έχουν αναφερθεί στην ΟΟΚ [135], ενώ στην τελευταία υπάρχουν περισσότερες αναφορές περιστατικών στα οποία παρατηρήθηκαν σμηγματογόνοι αδένες ή/και εξαρτήματα του δέρματος εντός της βλάβης [146,147]. Τέλος, αν και δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για διαφορές στο συνδετικό ιστό των δύο βλαβών, από εργασίες με χρήση πολωμένου μικροσκοπίου, φαίνεται ότι το δίκτυο των κολλαγόνων ινών στην ΟΟΚ είναι πιο καλά οργανωμένο σε σχέση με αυτό της ΟΚΚ [165].

ε) Αν και η σύγκριση ανάμεσα στις δύο βλάβες όσον αφορά στην θεραπεία και την ανταπόκριση σε αυτήν είναι αρκετά επισφαλής, λόγω της έλλειψης καλά σχεδιασμένων κλινικών μελετών [134], φαίνεται ότι η ΟΟΚ ανταποκρίνεται καλά σε συντηρητικές τεχνικές (εκπυρήνιση, μαρσιτοποίηση), με μικρό ποσοστό υποτροπής [134,135], εν αντιθέσει με την ΟΚΚ, όπου απαιτούνται επιθετικότερες χειρουργικές

μέθοδοι προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος υποτροπής και, κατά συνέπεια, μεγαλύτερη ανάγκη μακροχρόνιας παρακολούθησης [80]. Γενικότερα και ανεξαρτήτως θεραπευτικής μεθόδου, τα ποσοστά υποτροπής της ΟΚΚ τα οποία αναφέρονται στην βιβλιογραφία κυμαίνονται στο 25-27% [68,78], ενώ της ΟΟΚ στο 2-4 % [134,135].

Στ) Σε επίπεδο αιτιοπαθογένειας, και οι δυο βλάβες εικάζεται ότι προέρχονται από υπολείμματα της οδοντικής ταινίας [127], αν και αυτό βασίζεται σε παλαιότερες κατά βάση μελέτες. Για την ΟΟΚ σημείο ενδιαφέροντος είναι η διερεύνηση πιθανής σχέσης της με την επιδερμίδα, κυρίως, λόγω του ίδιου ανοσοϊστοχημικού προτύπου με αυτήν και της ομοιότητας της με την επιδερμοειδή κύστη σε ιστολογικό επίπεδο [96]. Στην ΟΚΚ, συνδρομική ή μη, κύριο εύρημα γενετικά είναι η δυσλειτουργία του γονιδίου και της πρωτεΐνης PTCH1 με αποτέλεσμα την υπερδραστηριότητα του σηματοδοτικού μονοπατιού SHH [118], ενώ η ανίχνευση απώλειας ετεροζυγωτίας ή μεταλλάξεων σε ογκοκατασταλτικά γονίδια, όπως το TP53 [121] έχει ενισχύσει τη συζήτηση περί νεοπλασματικής φύσης της βλάβης [13]. Παράλληλα, και στην ΟΚΚ παρατηρείται ομοιότητα, ιστολογικά και ανοσοφαινοτυπικά, με εξαρτήματα του δέρματος, συγκεκριμένα με την τριχοσηγηματογόνο μονάδα και με δερματικές κυστικές βλάβες [38,96]. Απουσιάζουν μελέτες γονιδιώματος, μεταγραφώματος ή επιγενετικών τροποποιήσεων στην ΟΟΚ, με μεταλλάξεις του PTCH1 και δραστηριότητα του SHH να έχουν επισημανθεί σε λίγες μελέτες [51,162].

3.2 Ερευνητικές μελέτες σύγκρισης OKK/OOK

Στον πίνακα 1 αναφέρονται όλες οι ερευνητικές μελέτες, στις οποίες έχει γίνει σύγκριση OKK και OOK από το 1992 έως το 2019.

Αν και η κριτική αξιολόγηση των εν λόγω εργασιών ξεφεύγει από τους σκοπούς αυτής της εργασίας, θα πρέπει να σημειωθεί ότι συλλέχθηκαν 54 εργασίες, 49 εκ των οποίων χρησιμοποίησαν τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας, 3 την PCR, ενώ 2 εργασίες έκαναν χρήση του πολωμένου μικροσκοπίου, μετά από χρώση με Picrosirius red προς ανάδειξη των κολλαγόνων ινών. Επίσης, 35 από τις 54 μελέτες χρησιμοποίησαν στατιστικές μεθόδους για να συγκρίνουν τα παρατηρούμενα αποτελέσματα ανάμεσα στις δύο βλάβες.

Οι κατηγορίες μορίων οι οποίες διερευνήθηκαν με μεγαλύτερη συχνότητα ήταν αυτές των κυτοκερατινών, των δεικτών πολλαπλασιασμού και μορίων που σχετίζονται με την ογκοκαταστολή ή την ογκογένεση. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι οι Da Silva και συν. [166], Koizumi και συν. [167] και Aragaki και συν. [96] απέδειξαν ότι η OOK εκφράζει CK1, CK2, CK5, CK10 και CK 14 σε πιο ομοιόμορφη κατανομή ανάμεσα στις στιβάδες σε σχέση με την OKK, υποδεικνύοντας πιο ομαλή διαφοροποίηση, σταθερή επιθηλιακή δομή και ομοιότητα με την επιδερμίδα [96]. Αντίθετα, η OKK εκφράζει σε μεγαλύτερη συχνότητα τις CK16, CK17 και CK19, διατηρώντας πιο έντονη οδοντογενή «ταυτότητα» και συνεχές δυναμικό αναδιαμόρφωσης της επιθηλιακής της δομής, και τις CK4 και CK13 που έχει δειχθεί ότι σχετίζονται με παρακερατινοποιημένα επιθήλια όπως του οισοφάγου [96,167]. Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η ανίχνευση της CK14 η οποία αποτελεί δείκτη κυττάρων βασικής στιβάδας σε υπερβασικές θέσεις της OKK, αναδεικνύοντας έναν πιο άωρο επιθηλιακό φαινότυπο [96].

Όσον αφορά τους δείκτες πολλαπλασιαστικού δυναμικού, σε αρκετές εργασίες οι δείκτες p53, IPO38, Ki-67 έχουν βρεθεί να είναι πιο αυξημένοι, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, στο επιθήλιο της ΟΚΚ σε σχέση με αυτό της ΟΟΚ [135,167,168]. Το ίδιο συμβαίνει και σε δείκτες ογκογένεσης και επιθετικής συμπεριφοράς όπως η κυκλίνη D1 [136] και αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών όπως η BCL2 [168] ενώ μόρια του σηματοδοτικού μονοπατιού SHH έχει αποδειχθεί ότι εκφράζονται σε όλες τις στιβάδες της ΟΚΚ, εν αντιθέσει με την ΟΟΚ, στις οποίες η δραστηριότητα των εν λόγω μορίων περιορίζεται στην βασική στιβάδα [51].

Συμπερασματικά, το επιθήλιο της ΟΚΚ φαίνεται να εμφανίζει «διαταραγμένη» κερατινοποίηση ενώ είναι πιο «δραστήριο» και με συνεχή πολλαπλασιαστική τάση σε σχέση με αυτό της ΟΟΚ δικαιολογώντας έτσι την επιθετικότερη βιολογική της συμπεριφορά.

Αναφορικά με τον συνδετικό ιστό των δύο βλαβών, η ΟΚΚ εμφανίζει αυξημένη έκφραση δεικτών αγγειογένεσης, όπως ο VEGF και η ποδοπλανίνη [169,170] και αριθμού μυοϊνοβλαστών [171], ενώ η ΟΟΚ φαίνεται να έχει ένα πιο καλά οργανωμένο δίκτυο πρωτεϊνών εξωκυττάριας ουσίας και κολλαγόνου, όπως δείχνουν ανοσοϊστοχημικές μελέτες και μελέτες σε πολωμένο μικροσκόπιο [165,166]. Τα παραπάνω ευρήματα, ως ένα βαθμό, υποδεικνύουν το ηπιότερο επεκτατικό δυναμικό της ΟΟΚ, όπως και την πιο σταθερή της δομή εντός των γνάθων, έναντι της ΟΚΚ, εξηγώντας, ενδεχομένως, την αποτελεσματικότητα συντηρητικών τεχνικών, όπως η απλή εκπυρήνιση, στην αντιμετώπιση της [165,166].

Πίνακας 1: Ερευνητικές μελέτες με δείγμα ΟΚΚ/ΟΟΚ

Συγγραφέας (έτος) [παραπομπή]	ΟΚ Κ	ΟΟ Κ	Δείκτης/μόριο υπό διερεύνηση	Αποτέλεσμα
High και συν. (1993) [172]	30	6	ErCAM	ΟΚΚ>ΟΟΚ
Vuhahula και συν. (1993) [129]	10	12	Ινβολουκρίνη, KL-1 Κυτοκερατίνες χαμηλού μοριακού βάρους TK Επιθηλιακό Μεμβρανικό αντιγόνο (EMA), Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA)	ΟΚΚ>ΟΟΚ (κυτοκερατίνες χαμηλού μοριακού βάρους, EMA, CEA) ΟΚΚ=ΟΟΚ (ινβολουκρίνη, TK) ΟΚΚ<ΟΟΚ (KL-1),
Siar και συν. (1995) [173]	13	2	Πανκρεατίνη, S-100 Δεσμίνη Βιμεντίνη	ΟΚΚ>ΟΟΚ (πανκρεατίνη), Αρνητικό έκφραση δεσμίνης,βιμεντίνης 1 θετική περίπτωση ΟΚΚ στην S-100
Piatelli και συν. (1998) [174]	12	2	Bcl2	ΟΚΚ=ΟΟΚ
Li και συν. (1998) [132]	15	15	Πανκρεατίνη, KL-1 CK10/13, Επιθηλιακό Μεμβρανικό αντιγόνο (EMA), Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA) ki-67	ΟΚΚ>ΟΟΚ (όλα τα μόρια)
Kimi και συν. # (2000) [175]	37	4	bcl2 p53 ki-67	ΟΚΚ>ΟΟΚ(bcl2 ^{SS} , p53, ki-67)

Da-Silva και συν. (2002) [166]	12	12	CK10 CK13 CK14 Φιμπρονεκτίνη, Κολλαγόνο (I, III) Tenascin	OKK<OOK (CK10, CK14) OKK>OOK (CK13, Fib, Ten) OKK=OOK (Col I, III)
Piatelli και συν. (2002) [176]	13	5	CD1a	OKK<OOK
Piatelli και συν. (2003) [177]	10	18	TGF-β	OKK<OOK (βασική στιβάδα, συνδ.ιστός), OKK>OOK (ανώτερες επιθ.στιβάδες)
Piatelli και συν. (2003) [178]	12	10	Καλρετινίνη	OKK>OOK
Baghaei και συν. # (2004) [179]	10	10	p53 ki-67	OKK>OOK (ki67 ^{SS}) OKK<OOK (p53)
Thosaporn και συν. # (2004) [180]	10	7	IPO-38	OKK>OOK ^{SS}
Koizumi # (2004) [167]	14	9	ki-67 CK7 CK10 CK13 CK17-20 Bcl2,Bax	OKK<OOK (CK10) OKK>OOK (CK13, 17, 19, bcl2, bax) OKK>OOK (ki-67) ^{SS} Αρνητική έκφραση των CK7, 18, 20
Lo Muzio και συν. # (2005) [181]	25	28	p63	OKK>OOK
Vered και συν. # (2005) [171]	8	9	Α-ακτινη λείων μυϊκών ινών (α-SMA)	OKK>OOK
Iezzi και συν. # (2007) [182]	19	16	KAI-1	OKK<OOK
Yagyuu και συν. # (2008) [183]	29	4	SHH PTCH SMO	OKK>OOK (SHH, PTCH, SMO ^{SS})

Vered και συν. # (2009) [51]	33	6	PTCH1 SMO GLI-1 Bcl2	OKK>OOK ^{SS} (όλα τα μόρια)
Rubini και συν. # (2009) [169]	25	16	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF)	OKK=OOK (επιθήλιο) OKK>OOK (συνδετικός ιστός) ^{SS}
Rangiani & Motahary # (2009) [168]	28	9	Bax Bcl2	OKK>OOK (bcl2 ^{SS}) OKK=OOK (bax)
Dong και συν. # (2010) [135]	15	15	p63 ki-67	OKK>OOK ^{SS} (και τα δύο μόρια)
Aragaki και συν. (2010) [96]	20	20	CK1, CK2, CK4-10, CK13-20, Τριχοκερατίνες Λορικρίνη (Lor) Bcl2 Gli2 mTOR	OKK<OOK (CK1, 2, 5, 10, 14, 15, Lor) OKK>OOK (CK4, 6, 8, 13, 16-19) OKK>OOK (Bcl2, Gli2, mTOR) Αρνητική έκφραση τριχοκερατινών
Okamoto και συν. (2010) [170]	46	11	Ποδοπλανίνη	OKK>OOK
Baretto και συν. (2011) [184]	14	3	β-κατενίνη γ-κατενίνη π-καντχερίνη	OKK=OOK
Johann και συν. # (2011) [185]	8	4	Μεταλλοθειονίνη	OKK>OOK ^{SS}
Caetano-Ados και συν. # (2011) [186]	20	5	Ποδοπλανίνη ki-67	OKK>OOK (Ποδοπλανίνη, ki-67 ^{SS})
Senguyen και συν. # (2011) [187]	41	8	Ιντερλευκίνη 1 α (IL1a) Ιντερλευκίνη 6 (IL6)	OKK>OOK ^{SS} (και τα δύο μόρια)
Cox και συν. # (2012) [152]	5	5	p53	OKK=OOK

Hayashi και συν. # (2012) [188]	20	15	CK1 CK13 Bcl2 Bax	OKK<OOK ^{SS} (CK1, Bax) OKK >OOK ^{SS} (CK13, bcl2)
Deyhimi και συν. # (2012) [189]	15	15	p53 TGFα	OKK>OOK ^{SS} (και τα δύο μόρια)
Gani και συν. # (2012) [190]	15	15	ki-67 Κυκλίνη D1	OKK>OOK ^{SS} (και τα δύο μόρια)
Roy και συν. # (2013) [191]	10	10	α-ακτινη λείων μυϊκών ινών (α-SMA)	OKK>OOK ^{SS}
Tsuji και συν. # (2013) [192]	25	15	CK10 CK13 CK17 CK19	OKK<OOK (CK10) OKK>OOK (CK 13, 17, 19 ^{SS})
Jaafari-Ashkavandi και συν. # (2014) [193]	18	3	Καβεολίνη	OKK=OOK
Jaafari-Ashkavadi και συν. # (2014) [194]	10	3	CD56	OKK>OOK ^{SS}
Hoshino και συν. (2015) [195]	28	11	Λανγκερίνη CK10 CK13 CK14 CK16 CK17 CK 19	OKK<OOK (Λανγκερίνη, CK10, 14, 16), OKK>OOK (CK13, 17, 19)
Vera-Sirera και συν. # (2015) [136]	46	12	Κυκλίνη D1	OKK>OOK ^{SS}

Ramadoss και συν. # (2015) [196]	3	2	CK10 CK14, Υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) Tenascin ki-67	OKK<OOK ^{SS} (CK10, 14) OKK>OOK ^{SS} (EGFR, Tenascin, Ki-67)
Yamada και συν. (2015) [197]	30	8	SHH PTCH SMO	OKK>OOK (SHH,SMO-ακανθωτή στιβάδα) OKK<OOK (SHH,SMO-βασική στιβάδα) OKK>OOK (PTCH)
Mascitti και συν. # (2016) [198]	15	5	p73 TRAIL	OKK>OOK ^{SS} (p73) OKK<OOK (TRAIL)
Vera-Sirera και συν. # (2016) [199]	46	12	GLUT- 1	OKK>OOK ^{SS} (επιθήλιο)
Vera-Sirera και συν. # (2016) [200]	46	12	CD56	OKK>OOK ^{SS}
Sarode και συν. # (2017) [201]	34	11	FAK	OKK>OOK ^{SS}
Dandena και συν. # (2017) [202]	20	20	ki-67 Α-ακτινη λείων μυϊκών ινών (α-SMA)	OKK>OOK ^{SS} (και τα δύο μόρια)
Mascitti και συν. # (2018) [203]	30	6	p53 p63 p73	OKK>OOK (όλα τα μόρια)
Antonio και συν. (2018) [204]	19	2	Μοεσίνη Rho-A	OKK>OOK (και τα δύο μόρια)
Argyris και συν. (2018) [205]	3	1	p63/p40	OKK=OOK

Kureel και συν. # (2019) [206]	25	25	CK10 CK13 CK19 Φιμπρονεκτίνη	OKK<OOK (CK10) OKK>OOK (13, 19, Φιμπρονεκτίνη)
Hakeem και συν. (2019) [207]	5	5	p16	OKK>OOK
Miranda da Costa και συν. # (2019) [208]	20	8	Επαγόμενος από την υποξίας παράγοντας 1 α (HIF 1α) Notch1 Adam12 HB-EGF	OKK>OOK (όλα τα μόρια)

Μελέτες με δείγμα OKK/OOK με χρήση άλλης μεθόδου πέραν της ανοσοϊστοχημείας				
Diniz και συν. (2011) [162]	7	7	Απώλεια ετεροζυγωτίας PTCH (PCR)	OKK (5/7), OOK (4/7)
Zhang και συν. # (2011) [165]	15	15	Picrosirius red stain: δείκτης ώριμου κολλαγόνου (Πολωμένο μικροσκόπιο)	Πιο ώριμο κολλαγόνο στην OOK ^{SS}
Lalla και συν. (2016) [160]	16	13	HPV DNA (PCR)	Κανένα θετικό αποτέλεσμα
Hoon Cha και συν. (2017) [163]	38	11	BRAFv600e mutations (PCR)	OKK (63, 2%) OOK (9, 1%)
Manthapuri και συν. # (2019) [209]	61	10	Picrosirius red stain: δείκτης ώριμου κολλαγόνου (Πολωμένο μικροσκόπιο)	Πιο ώριμο κολλαγόνο στην OOK ^{SS}

OKK>OOK ή OKK <OOK : Υψηλότερη /εντονότερη έκφραση του υπο μελέτη μορίου στην OKK σε σχέση με την OOK ή το αντίστροφο,

OKK=OOK : Καμία αναφερόμενη διαφορά στην έκφραση του υπο μελέτη μορίου ανάμεσα στις δύο ομάδες

#: Εργασίες στις οποίες έχουν χρησιμοποιηθεί στατιστικές μέθοδοι για την σύγκριση των αποτελεσμάτων, **SS**: Στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα.

4. ΜΟΡΦΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΤΟΥ ΟΣΤΟΥ 4 (BMP4)

4.1 Γενικά για τις BMPs

Οι Μορφογενετικές Πρωτεΐνες του Οστού (Bone morphogenetic proteins-BMPs) αποτελούν μια μεγάλη και φυλογενετικά διατηρημένη ομάδα αυξητικών παραγόντων και τη μεγαλύτερη υποομάδα της υπερικογένειας των TGFβ (Transforming Growth Factor beta) μακρομορίων [210]. Η ανακάλυψη τους έγινε το 1965 από τους Urist και συν. [211], οι οποίοι μεταμοσχεύοντας οστική απασβεστοποιημένη θεμέλια ουσία σε κουνέλια και ποντίκια, παρατήρησαν τον σχηματισμό οστίτη ιστού ένα εύρημα που έδωσε το όνομα στις BMPs. Έως σήμερα έχουν αναγνωρισθεί 20 τύποι BMPs ενώ μόρια με παρόμοιες λειτουργίες με αυτές έχουν ανακαλυφθεί και σε άλλα είδη, όπως η *Drosophila* [210]. Σημειώνεται ότι οι περισσότερες πληροφορίες για τον τρόπο λειτουργίας των BMPs προέρχονται από τη μελέτη της δράσης τους στην οστεογένεση [210]. Μάλιστα, η ανακάλυψη της σημασίας των BMPs στη βιολογία των οστών και της δυνατότητας επαγωγής οστεογένεσης έχει οδηγήσει σε προσπάθειες ανάπτυξης φαρμακευτικών παρεμβάσεων γενικά στις BMPs, και ειδικά στις BMP2 και BMP4, για την αντιμετώπιση διαφόρων νεοπλασμάτων και παθήσεων των οστών [212].

Έχει αποδειχθεί ότι ορισμένα μέλη αυτής της ομάδας μακρομορίων, όπως οι BMP2/4/6/7, συμμετέχουν σε πολλές διεργασίες της εμβρυογένεσης όπως η διάπλαση των πνευμόνων, της καρδιάς, του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) και του δέρματος [213]. Η σημασία των BMPs στην εμβρυϊκή ζωή επισημαίνεται από το γεγονός ότι ποντίκια με μετάλλαξη στο γονίδιο της BMP2 ή της BMP4 δεν επιβιώνουν μετά την 9^η εμβρυϊκή μέρα, λόγω συγγενών καρδιακών ανωμαλιών και αναστολής διαφοροποίησης του μεσοδέρματος [214,215].

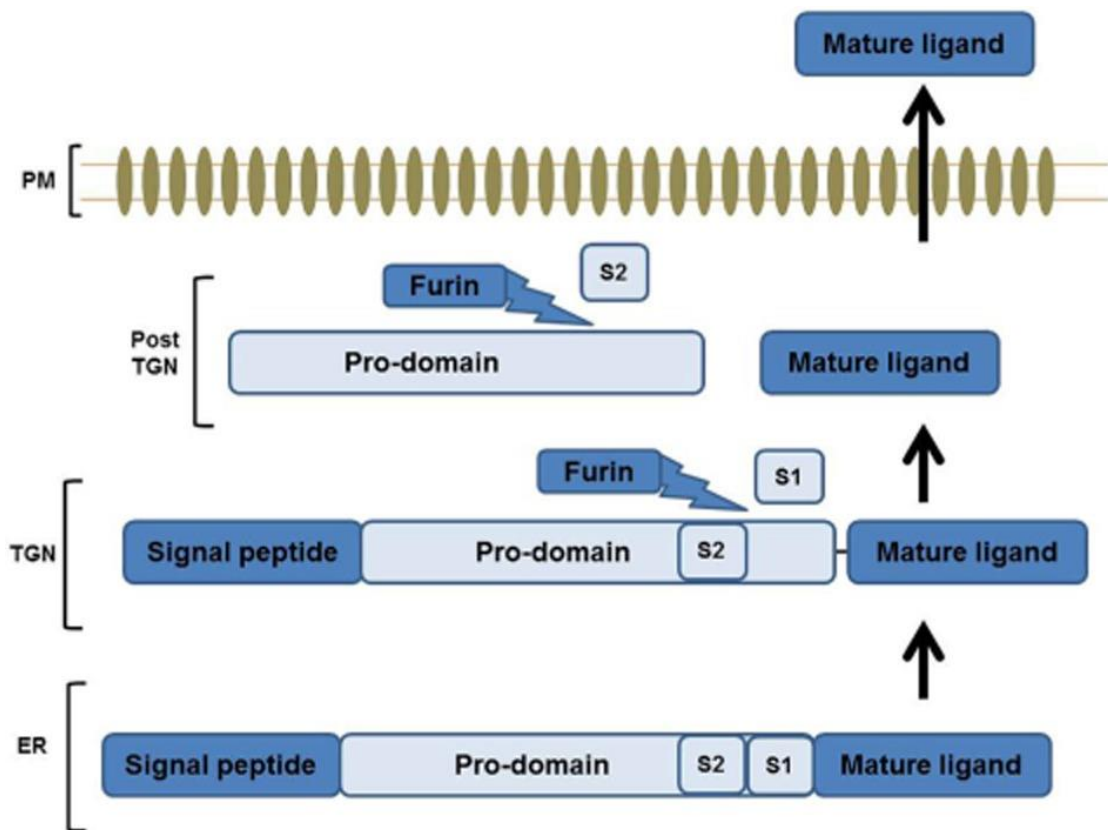
Τα μακρομόρια αυτά φαίνεται να διαδραματίζουν ρόλο και σε φυσιολογικές διεργασίες στην ενήλικη ζωή, όπως η αγγειακή αναδιαμόρφωση σε καταστάσεις υποξίας [216] αλλά και σε παθολογικές καταστάσεις, όπως η φλεγμονώδης απόκριση [217], η αθηρωμάτωση [218] και η διαβητική αγγειοπάθεια [219].

Διττός είναι ο ρόλος των BMPs στην νεοπλασία, αφού σε διάφορα είδη καρκίνων, όπως τα αδενοκαρκινώματα μαστού, παχέως εντέρου και προστάτη έχει αποδειχθεί ότι η δράση τους όχι απλώς συμβάλλει στην καρκινογένεση αλλά και στην αύξηση του μεταστατικού δυναμικού αυτών των όγκων [220-222]. Αντιθέτως, σε άλλους τύπους καρκίνου, όπως το καρκίνωμα του στομάχου, επιδεικνύουν ογκοκατασταλτική δραστηριότητα ενώ η αυξημένη έκφραση BMP4 στο γλοίωμα αποτελεί θετικό προγνωστικό δείκτη [223,224].

4.2 Δομή των BMPs

Όπως και άλλα μέλη της οικογένειας του TGFβ, οι BMPs συντίθενται στο κυτταρόπλασμα ως πρόδρομες πρωτεΐνες με 400-500 αμινοξέα και διαθέτουν ένα N-τελικό άκρο, μια αμινοτελική προ-περιοχή (prodomain) και μια καρβοξυλική τελική περιοχή (C-terminal) [210]. Για την ενεργοποίηση τους απαιτείται η πρωτεολυτική τους επεξεργασία από πρωτεάσες, ειδικά για την BMP4 τις furin, PC6, και PC7 [210,212,225]. Αυτή γίνεται σε δύο διαδοχικά σημεία της αλυσίδας των αμινοξέων τους: αρχικά στο σημείο S1, με την αποκοπή να γίνεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο, και ακολούθως, στο σημείο S2, με την επεξεργασία να συμβαίνει στην δια-Golgi (trans-Golgi) περιοχή (Εικόνα 10). Έτσι προκύπτει η λειτουργική καρβοξυλική ομάδα που αποτελείται από 50-100 αμινοξέα με 7 κυστεΐνες, οι 6 εκ των οποίων σχηματίζουν ειδικά ζεύγη, τους «κόμβους κυστεΐνης» ενώ η έβδομη κυστεΐνη έχει

επιτελικό ρόλο στην δημιουργία διμερών μέσω δισουλφιδικών δεσμών, οδηγώντας έτσι στο σχηματισμό της ενεργού μορφής του μακρομορίου [210]. Αυτή, εν συνεχεία, είτε αποθηκεύεται ως κυστίδιο στο κυτταρόπλασμα είτε εκκρίνεται στον εξωκυττάριο χώρο [210,212,213]. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι BMPs διαφέρουν από άλλα μακρομόρια της οικογένειας του TGFβ στο γεγονός ότι δε χρειάζονται περαιτέρω επεξεργασία για την ενεργοποίησή τους και ασκούν άμεση βιολογική δράση, άπαξ και επιτευχθεί ή πρόσδεση τους σε κατάλληλους διαμεμβρανικούς υποδοχείς [213].



Εικόνα 10 : Κατεργασία της πρόδρομης μορφής των BMPs προς δημιουργία της ενεργού μορφής της πρωτεΐνης («mature ligand») [212].

4.3 Ρύθμιση και μεταγωγή σήματος των BMPs

Σε αρχικό επίπεδο, ο έλεγχος της βιοδιαθεσιμότητας και δυνατότητας πρόσδεσης των BMPs γίνεται από ειδικές πρωτεΐνες-ανταγωνιστές οι οποίες περιέχουν ομόλογες περιοχές δεσμών κυστεΐνης [226]. Έχουν αναγνωρισθεί πάνω από 15 τέτοια μόρια, με τα πλέον γνωστά να είναι τα Noggin (ανταγωνιστής BMP2/4/5/6/13/14), Chordin (ανταγωνιστής BMP2/4/7), Twisted Gastrulation (ανταγωνιστής BMP2/4) και Gremlin (ανταγωνιστής BMP2/4/7) [210,227]. Ενδεικτικό της περιπλοκότητας της αλληλεπίδρασης των BMPs και των μορίων-ανταγωνιστών τους είναι το γεγονός ότι οι ίδιες οι BMPs επάγουν την έκφραση των ανταγωνιστών τους σε διάφορες βιολογικές διεργασίες όπως η οστεογένεση [228].

Η μεταγωγή σήματος των BMPs αρχίζει με τη σύνδεσή τους σε διαμεμβρανικούς υποδοχείς σερίνης-θρεονίνης (BMPR) οι οποίοι διακρίνονται σε δύο τύπους ανάλογα με την παρουσία (στην περίπτωση των τύπου I) ή απουσία (στην περίπτωση των τύπου II) μιας αλληλουχίας αμινοξέων πλούσιας σε σερίνη-γλυκίνη, κοντά στην περιοχή της κινάσης [210]. Οι υποδοχείς τύπου I χωρίζονται σε 5 υπότυπους: τους ALK1 (ACVRL1), ALK2 (ACVR1), ALK3 (BMPR-IA), ALK4 (ACVR1B) και ALK6 (BMPR-IB). Από την πλευρά τους, οι τύπου II υποδοχείς χωρίζονται σε 3 υποτύπους: τους BMPR2, ACVR2A και ACVR2B [210,229]. Για να μπορέσει να γίνει ενδοκυττάρια μεταγωγή σήματος των BMPs χρειάζεται η ενεργοποίηση των υποδοχέων τύπου II, ένα βήμα το οποίο οδηγεί σε φωσφορυλίωση των τομέων σερίνης/θρεονίνης των υποδοχέων τύπου I [230].

Στη συνέχεια, τα σήματα των BMPs μεταβιβάζονται είτε μέσω του SMAD-εξαρτώμενου μονοπατιού («κανονική οδός») είτε απευθείας μέσω ενεργοποίησης άλλων μονοπατιών, όπως τα ERK1/2, MAPK και JNK («μη κανονική οδός»), αν και η

ακριβής ενεργοποίηση και δράση της τελευταίας οδού δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί έως σήμερα [231].

Στην «κανονική οδό», με την πρόσδεση συνδετών BMP, τα μόρια SMAD1/5/8 (R-SMADs) φωσφορυλιώνονται και απελευθερώνονται από τους διαμεμβρανικούς υποδοχείς και στη συνέχεια συνδέονται με την πρωτεΐνη SMAD4 (co-SMAD), δημιουργώντας ένα σύμπλοκο το οποίο μετατοπίζεται στον πυρήνα και ενεργοποιεί γονίδια-στόχους [232]. Αυτό πραγματοποιείται είτε μέσω απευθείας πρόσδεσης στο DNA, είτε μέσω αλληλεπίδρασης με άλλες πρωτεΐνες με ικανότητα πρόσδεσης στο DNA, αλλά ακόμα και μέσω «προσέλκυσης» άλλων μεταγραφικών παραγόντων [232]. Σε ενδοκυττάριο επίπεδο, η ρύθμιση αυτών των διεργασιών γίνεται από τα SMAD6/7 (i-SMAD), μόρια με δυνατότητα να δεσμεύουν τα R-SMADs, αποτρέποντας εν τέλει τη μετανάστευσή τους στον πυρήνα [229].

4.4 Αλληλεπίδραση με άλλα σηματοδοτικά μονοπάτια

Το μονοπάτι των BMPs, πέρα από την ομοιότητα μεταγωγής σήματος με το μονοπάτι του TGFβ, έχει αποδειχθεί ότι αλληλεπιδρά με ποικίλα άλλα σηματοδοτικά μονοπάτια ασκώντας είτε συνεργική είτε ανταγωνιστική δράση, γεγονός που εξαρτάται από το όργανο/ιστό («tissue-specific interactions») και την εκάστοτε βιολογική λειτουργία [213,233].

Ενδεικτικά, το μονοπάτι της MAPK δρα ανταγωνιστικά με αυτό των BMPs, εμποδίζοντας τη μετατόπιση των R-SMAD στον πυρήνα σε διάφορες βιολογικές διεργασίες [234], ενώ η BMP2 δρα συνεργικά με την πρωτεΐνη STAT3 του JAK/STAT μονοπατιού κατά την διάπλαση του ΚΝΣ [235]. Επίσης, καλά μελετημένη αλληλεπίδραση φαίνεται να υπάρχει και με το μονοπάτι Wnt/β-

κατενίνης: καταρχάς, τα σύμπλοκα των R-SMAD και β-κατενίνης/Lef μοιράζονται κοινά γονίδια-στόχους κατά την εμβρυογένεση ενώ οι BMPs αναστέλλουν την πρόσδεση των συνδετών του Wnt σε διεργασίες όπως η χονδρογένεση [236].

Αντιθέτως, συνεργική δράση φαίνεται να υπάρχει σε διάφορα νεοπλάσματα, όπως ο καρκίνος του παχέως εντέρου και του προστάτη [237,238].

Τέλος, περιπτώσεις αλληλεπίδρασης του μονοπατιού SHH με αυτό των BMPs έχουν αναφερθεί σε ποικίλες παθολογικές ή φυσιολογικές διεργασίες [239,240], όπως και στην οδοντογένεση-μια αλληλεπίδραση που θα αναλυθεί εκτενέστερα στη συνέχεια.

4.5 Η BMP4 στην εμβρυογένεση

Η BMP4 εκφράζεται σε αφθονία στα πρόγονα οστεοποιητικά κύτταρα, στους οστεοβλάστες και στον μυελό των οστών, στον θύμο αδένα, στο μυοσκελετικό σύστημα, στο ΚΝΣ, στους νεφρούς, στον σπλήνα, στο ήπαρ στο πάγκρεας και σε επιθηλιακής προελεύσεως ιστούς, όπως η επιδερμίδα και οι σιαλογόνοι αδένες [210,213,241].

Μέσω ενός καλά οργανωμένου δικτύου ελέγχου κυτταρικών λειτουργιών, όπως ο πολλαπλασιασμός και η απόπτωση, η BMP4 αποτελεί καίριο ρυθμιστή της εμβρυογένεσης [210]. Όπως προαναφέρθηκε, η δράση της BMP4 είναι θεμελιώδους σημασίας για τη διαφοροποίηση του μεσοδέρματος, καθώς και την οργανογένεση του νεφρού [242], την οστεογένεση [243] και την αγγειογένεση [244]. Σηματοδοτεί, επίσης, την ανάπτυξη κατά τον κοιλιοραχιαίο άξονα οδηγώντας στην ιστοδιαφοροποίηση των κοιλιακών δομών [245] ενώ φαίνεται να παίζει ρόλο στην διάπλαση των οφθαλμών [246], του ΚΝΣ [247], ενδοκρινών αδένων, όπως η υπόφυση, [248] και του αναπαραγωγικού συστήματος [249,250]. Επίσης, είναι απαραίτητη για την ομαλή ανάπτυξη του κρανιοπροσωπικού συμπλέγματος και των γνάθων, αφού πειραματόζωα με μεταλλαγμένα αλληλόμορφα γονίδια της BMP4 δεν ανέπτυξαν καθόλου το οστό της κάτω γνάθου ή διέθεταν εξαιρετικά υποπλαστικές και χωρίς δόντια γνάθους [251]. Φαίνεται, δε, ότι παίζει σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της σύγκλεισης, κατά τη μέση γραμμή, των διαφόρων εμβρυϊκών αποφύσεων του προσώπου [252].

Καταλυτικός είναι ο ρόλος της BMP4 στην ανάπτυξη των ιστών επιθηλιακής προέλευσης. Σε μελέτες στο είδος *Xenopus*, αποδείχθηκε ότι η BMP4, μέσω του μεταγραφικού παράγοντα MSX1, επάγει την διαφοροποίηση κυττάρων εξωδερμικής

προελεύσεως, οδηγώντας στην ανάπτυξη της επιδερμίδας [253] ενώ μέσω αλληλεπίδρασης με άλλα μονοπάτια όπως του FGF «καθοδηγεί» την φυσιολογική διαστρωμάτωση των στιβάδων της, με τα ευρήματα αυτά να προέρχονται από πειράματα σε ποντίκια [254]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η δράση της πρωτεΐνης σε ιστούς επιθηλιακής προέλευσης στους οποίους απαιτείται η αλληλεπίδραση επιθηλίου-μεσεγχύματος. Τόσο στο μαστό και στους σιαλογόνους αδένες όσο και στο τριχοθυλάκιο και στα δόντια, η BMP4 επιδεικνύει «χωροχρονική κατανομή» («spatiotemporal distribution»), έχοντας τη δυνατότητα να μετατοπίζει την έκφραση της από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα και αντίστροφα, όταν αρχίζουν οι επιθηλιο-μεσεγχυματικές διεργασίες, με κύριο σκοπό τον έλεγχο της ισορροπίας πολλαπλασιασμού- απόπτωσης. Αυτό επιτυγχάνεται, αφενός μέσω άμεσης μιτογόνου δράσης και αφετέρου μέσω επαγωγής προ-αποπτωτικών παραγόντων, με την «επιλογή» της δράσης της να υπαγορεύεται από τον εκάστοτε ιστό και στάδιο της μορφογένεσης αυτού [252,255-257].

4.6 Η BMP4 στην οδοντογένεση

Στην οδοντογένεση, η BMP4 ήταν το πρώτο σηματοδοτικό μόριο το οποίο αποδείχθηκε ότι συμμετέχει στην αλληλεπίδραση οδοντογενούς επιθηλίου – μεσεγχύματος (Εικόνα 11) [258]. 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, ενώ στις θέσεις του οδοντοβλαστήματος εκφράζεται ο FGF8 [259]. Συνεπώς, η BMP4, έχει ρόλο στην επιλογή των θέσεων όπου θα σχηματιστούν κατά την εμβρυογένεση τα δόντια αλλά και στον τύπο αυτών (γομφίοι ή τομείς), τη μορφολογία και το μέγεθος τους

[259,260]. Σε ποντίκια, μάλιστα, στα οποία πραγματοποιήθηκε αποσιώπηση του γονιδίου της BMP4 στα κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας, παρατηρήθηκε αγενεσία των γομφίων της κάτω γνάθου [261].

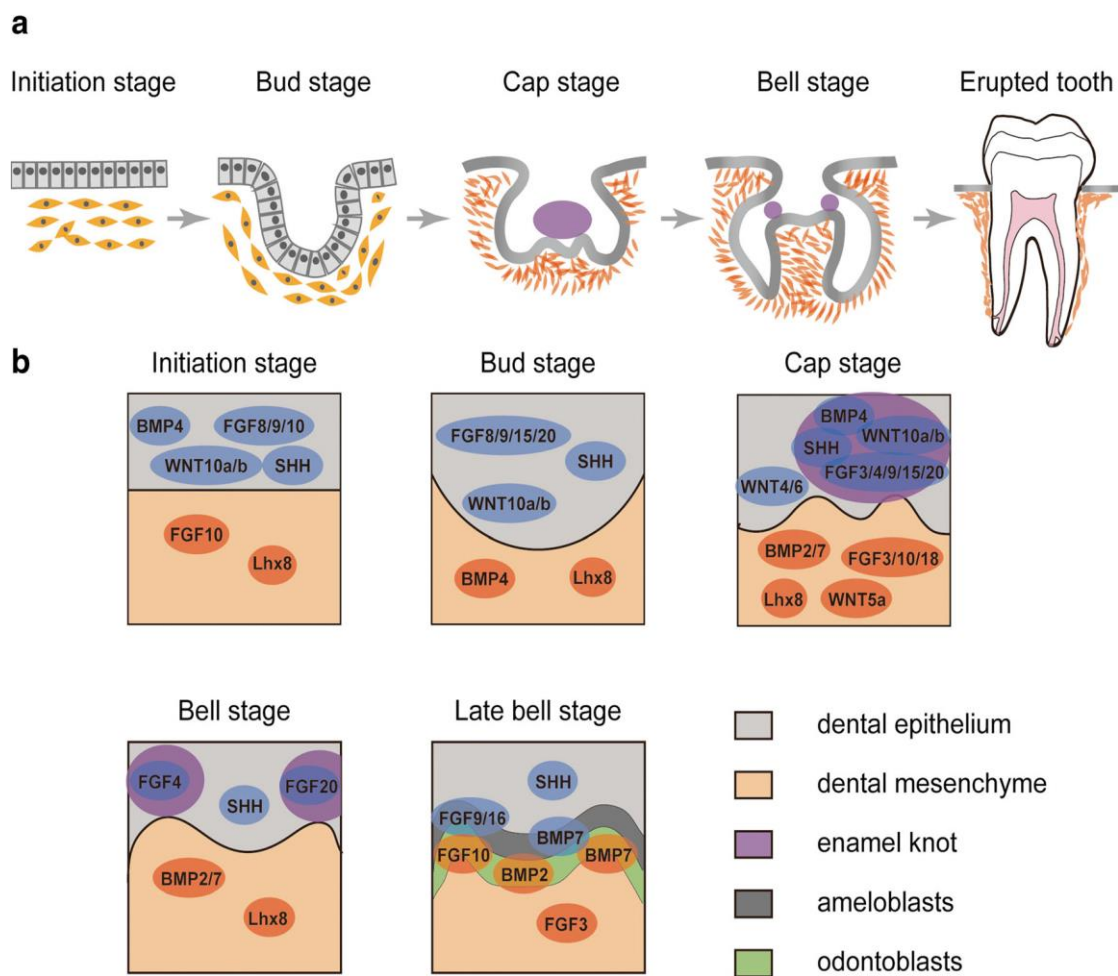
Ακολούθως, η BMP4, μέσω αλληλεπιδράσεων με άλλα μόρια, ελέγχει και καθοδηγεί τη μετάβαση από το στάδιο της οδοντικής ταινίας στο στάδιο του οδοντοβλαστήματος [262]. Αυτό συμβαίνει με ποικίλους τρόπους οι οποίοι αποσκοπούν στη διατήρηση του οδοντογενούς δυναμικού των κυττάρων της οδοντικής ταινίας και στον έλεγχο του πολλαπλασιαστικού τους δυναμικού. Ένας από αυτούς τους τρόπους είναι η ρύθμιση των σημάτων από άλλα μονοπάτια τα οποία έχει δειχθεί ότι επάγουν τον πολλαπλασιασμό, όπως το μονοπάτι της SHH [263].

Συγκεκριμένα, η BMP4 στο επιθήλιο επάγει την έκφραση του μορίου MSX1 στο μεσέγχυμα, το οποίο επάγει με τη σειρά του, τόσο την έκφραση της BMP4 (positive feedback loop)[264] όσο και την έκφραση του PTCH, αρνητικού ρυθμιστή του SHH μονοπατιού [265]. Στην συνέχεια, και σε χρόνο ο οποίος συμπίπτει με τη μετάθεση του οδοντογενούς δυναμικού από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα, η BMP4 εκφράζεται έντονα στο δεύτερο [263]. Οι Zhang και συν. [266] έδειξαν σε πειράματα σε ποντίκια ότι ενώ, αρχικά, η έκφραση της BMP4, σε μεσέγχυμα και επιθήλιο, είναι απαραίτητη για την έκφραση της SHH στο πολλαπλασιαζόμενο οδοντογενές επιθήλιο, η υπερέκφρασή της οδηγεί σε καταστολή του. Από τα παραπάνω, διαφαίνεται πως η BMP4, πιθανόν, δρα ανιόντως (upstream) της SHH στην οδοντογένεση ρυθμίζοντας την έκφρασή της και ελέγχοντας την ομαλή λειτουργία αυτής.

Στο στάδιο του κυπέλλου, η BMP4 εκφράζεται στο όργανο της αδαμαντίνης [267]. Εκεί επάγει τον σχηματισμό του αδαμαντινοβλαστικού κόμβου (enamel knot), μιας εξειδικευμένης περιοχής επιθηλιακών κυττάρων με συνεχές πολλαπλασιαστικό δυναμικό και καίριο ρόλο στον τελικό σχηματισμό της οδοντικής μύλης [267,268].

Και σε αυτό το στάδιο, η BMP4 ελέγχει την ισορροπία πολλαπλασιασμού-απόπτωσης επάγοντας μόρια όπως το MSX2 και το p21 τα οποία με τη σειρά τους επάγουν την κυτταρική απόπτωση [262]. Επίσης, φαίνεται ότι η BMP4 παίζει ρόλο στον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των οδοντοβλαστών και των αδαμαντινοβλαστών αλλά και στην αλληλεπίδραση τους προς σχηματισμό σκληρών οδοντικών ιστών, κατά τρόπο ανάλογο με αυτόν της οστεογένεσης [269]. Επίσης, η BMP4, μαζί με την BMP2, συμβάλλουν στο σχηματισμό της ρίζας του δοντιού, ελέγχοντας τη διαφοροποίηση του ελύτρου του Hertwig [270]. Ο έλεγχος της ομοιόστασης των οδοντικών ιστών δεν περιορίζεται μόνο στα αρχικά στάδια της διάπλασης των δοντιών, καθότι έχει δειχθεί ρόλος της BMP4 στην δημιουργία δευτερογενούς οδοντίνης και την απόκριση του πολφικού ιστού σε βλαβερά ερεθίσματα [271] ενώ μελέτες έχουν δείξει επαγωγή οδοντογενούς διαφοροποίησης σε πολυδύναμα βλαστοκύτταρα μετά από χορήγηση της πρωτεΐνης σε ανασυνδυσμένη μορφή, ανοίγοντας έτσι νέους ορίζοντες στον τομέα της μηχανικής ιστών [272].

Tooth Development



Εικόνα 11: Τα στάδια της οδοντογένεσης (α), όπου επισημαίνεται η «μετατόπιση» της BMP4 από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα από το στάδιο της οδοντικής καταβολής σε αυτό του οδοντοβλαστήματος καθώς και (β) η εντόπιση της στο στάδιο του κυπέλλου [273]

4.7 Η BMP4 σε παθολογικές καταστάσεις

Από γενετικής πλευράς, πολυμορφισμοί του γονιδίου της BMP4 έχουν συσχετισθεί, τα τελευταία χρόνια, με περιπτώσεις μη συνδρομικής χειλεοσχιστίας και υπερωϊοσχιστίας (non-syndromic Orofacial Cleft type 11 (OFC11, OMIM#600625) [274]. Παράλληλα, η σημασία της σωστής λειτουργίας της BMP4 στην ανάπτυξη των οφθαλμών και του ΚΝΣ καταδεικνύεται από το γεγονός ότι μεταλλάξεις του γονιδίου της BMP4 ευθύνονται για την παθογένεση ενός πολύ σπάνιου συνδρόμου, του συνδρόμου Μικροφθάλμιας τύπου 6 (Microphthalmia Syndromic type 6 (MCOPS6) - OMIM:607932), μιας πάθησης που χαρακτηρίζεται από ευρύ φάσμα διαταραχών του μεγέθους των οφθαλμών και εγκεφαλικές και ενδοκρινικές ανωμαλίες [275]. Τέλος, μεταλλάξεις του γονιδίου της BMP4 ή/και στοιχείων του μονοπατιού της έχουν ανιχνευθεί σε περιπτώσεις μιας σπάνιας πάθησης, της προοδευτικής οστεοποιοϋ ινοδυσπλασίας (Fibrodysplasia Ossificans Progressiva), η οποία χαρακτηρίζεται από πολλαπλές σκελετικές ανωμαλίες και έκτοπη οστεοποίηση μαλακών μορίων [276].

Όσον αφορά άλλες μη νεοπλασματικές παθολογικές εξεργασίες της ενήλικης ζωής, η BMP4 φαίνεται να παίζει ρόλο στην πνευμονική υπέρταση [277], την ωτοσκλήρυνση [278] ενώ ενδείξεις υπάρχουν και για συμμετοχή της στην παθογένεση του συστηματικού σκληροδέρματος [279] και στην ανάπτυξη οστεοπόρωσης [280].

Σε ό,τι αφορά κακοήθεις νεοπλασματικές εξεργασίες, έχει αναφερθεί αιτιολογική συσχέτιση μεταλλάξεων του γονιδίου της BMP4 και ανάπτυξης καρκίνου του παχέως εντέρου, εμφανίζοντας, μάλιστα, οικογενή χαρακτήρα και προσομοιάζοντας στο σύνδρομο Νεανικής Πολυποδίασης (Juvenile Polyposis syndrome) [221]. Επίσης, αυξημένη έκφραση της BMP4 και συσχέτιση με χαρακτηριστικά, όπως απομακρυσμένες μεταστάσεις και φτωχότερη διαφοροποίηση, έχει βρεθεί σε

μελανώματα [281], καρκίνο του μαστού [222], και ακανθοκυτταρικά καρκινώματα του στόματος [282]. Αντιθέτως, σε άλλους τύπους καρκίνου όπως το αδenoκαρκίνωμα του πνεύμονα [283] και του στομάχου [223], το γλοϊώμα [224] και το ορώδες αδenoκαρκίνωμα των ωοθηκών [284], έχει διαπιστωθεί ότι η BMP4 ασκεί ογκοκατασταλτική δραστηριότητα, με την αυξημένη έκφραση της να αποτελεί θετικό προγνωστικό δείκτη.

Ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός πως στο Μυελοβλάστωμα, ένα νεόπλασμα που χαρακτηρίζεται από μεταλλάξεις PTCH1 και υπερλειτουργία του SHH μονοπατιού όπως και η OKK, η BMP4 μαζί με την BMP2 φαίνεται να δρουν ανταγωνιστικά του μονοπατιού SHH επάγοντας την υψηλότερη διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων [285].

Συμπερασματικά, ανάλογα με τον τύπο της κακοήθειας, η BMP4 φαίνεται να ασκεί τόσο ευεργετικές όσο και επιζήμιες δράσεις, αν και στην πλειοψηφία των περιπτώσεων ο ρόλος της είναι ογκοκατασταλτικός [286]. Παρ'ολ αυτά, έχει επισημανθεί υπερέκφραση της σε προχωρημένες μορφές αρκετών νεοπλασμάτων [286]. Μια εξήγηση για αυτόν τον διττό ρόλο της πρωτεΐνης μπορεί να δοθεί από το γεγονός ότι σε πολλά από τα προαναφερόμενα είδη καρκίνου παρατηρείται ταυτόχρονη απώλεια της έκφρασης του SMAD4, του κύριου δηλαδή διαμεσολαβητή του σήματος της BMP4 [287]. Συγκεκριμένα, ίσως, η BMP4 να αυξάνεται αντιρροπιστικά σε αρχικά στάδια της νεοπλασίας, με σκοπό να εξασκήσει ογκοκατασταλτικές ιδιότητες, με την μεταγωγή του σήματος της να μην πραγματοποιείται, εν τέλει, λόγω απώλειας του SMAD4 [286]. Έπειτα, και για όσο διάστημα η νεοπλασματική εξεργασία εξελίσσεται, τα νεοπλασματικά κύτταρα αποκτούν τη δυνατότητα να «χρησιμοποιούν» την BMP4 προς όφελος τους, με τελικό αποτέλεσμα την χειρότερη βιολογική συμπεριφορά των όγκων και την αυξημένη

επιβίωση των νεοπλασματικών κυττάρων [286,288]. Δεν είναι, συνεπώς, τυχαίο ότι, τόσο μόρια-αγωνιστές όσο και μόρια-ανταγωνιστές των BMPs ή/και των υποδοχέων τους μελετώνται με σκοπό μελλοντική θεραπευτική χρήση [289,290].

4.8 Η BMP4 σε οδοντογενείς βλάβες και στην ΟΚΚ

Ο δεδομένος ρόλος της BMP4 στην οδοντογένεση και στη δημιουργία ενασβεστοποιημένων ιστών έστρεψε το ερευνητικό ενδιαφέρον στο κατά πόσο αυτή η πρωτεΐνη συμμετέχει στην αιτιοπαθογένεια οδοντογενών βλαβών. Από διάφορες ερευνητικές εργασίες έχει αποδειχθεί, κυρίως με την μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας, ότι η BMP4 εκφράζεται σε αδαμαντινοβλαστώματα (πολυκυστικά και μονοκυστικά), αδеноματοειδείς οδοντογενείς όγκους και αδαμαντινοβλαστικά καρκινώματα [291,292], με την έκφραση της να είναι μεγαλύτερη στις περιπτώσεις των αδеноματοειδών οδοντογενών όγκων σε σχέση με τα αδαμαντινοβλαστώματα [291]. Επίσης, οι Takebe και συν. [293] απέδειξαν ότι η αυξημένη έκφραση της BMP4 στο συνδετικό ιστό αδαμαντινοβλαστωμάτων συσχετίστηκε με επαγωγή της έκφρασης του παράγοντα RANKL, ευνοώντας έτσι την απορρόφηση του οστού και συμπέραναν ότι, ίσως, η BMP4 παίζει ρόλο στην τοπικά επιθετική συμπεριφορά του όγκου. Τέλος, η Heikeinheimo και συν. [123] ανίχνευσαν αυξημένο αριθμό αντιγράφων του γονιδίου της BMP4 σε αδαμαντινοβλαστώματα σε σχέση με ΟΚΚ.

Για την ΟΚΚ υπάρχουν δύο μελέτες έκφρασης της πρωτεΐνης με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας. Οι Kim. και συν. [294] ανέφεραν αυξημένη έκφραση της BMP4, τόσο στο επιθήλιο όσο και στο συνδετικό ιστό ΟΚΚ σε σχέση με οδοντοφόρους κύστεις, υποδεικνύοντας 3 πιθανές αιτίες για αυτή τη διαφορά:

(α) Υπερδραστηριότητα του SHH μονοπατιού, δυσλειτουργία η οποία έχει δειχθεί ότι συμβαίνει στις OKK [51] και, πιθανόν, οδηγεί σε υπερέκφραση της BMP4. Ωστόσο, η άποψη αυτή δεν τεκμηριώνεται βιβλιογραφικά στη μελέτη αυτή.

(β) Μεταλλάξεις στο γονίδιο της BMP4 που οδηγούν στη δημιουργία παθολογικής πρωτεΐνης

(γ) Παραγωγή της BMP4 από το μικροπεριβάλλον της βλάβης, π.χ. φλεγμονώδη κύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες, και συμμετοχή της στην επιθετική συμπεριφορά ως μιτογόνο.

Επιπροσθέτως, οι Swarup και συν. [295] συνέκριναν την ανοσοϊστοχημική έκφραση των FGF8 και BMP4 σε διάφορες οδοντογενείς βλάβες και ανέφεραν αυξημένη πυρηνική έκφραση της BMP4 στο επιθήλιο της OKK σε σχέση με αδαμαντινοβλαστώματα ενώ η έκφραση της BMP4 στο μεσέγγυμα των OKK ήταν κυτταροπλασματική και υπολειπόταν ποσοτικά της έκφρασης της πρωτεΐνης στο οδοντογενές μύξωμα.

Τέλος, έμμεσες πληροφορίες για τη συμμετοχή του μονοπατιού των BMPs γενικότερα, και της BMP4 ειδικότερα, έρχονται από πειραματικές εργασίες. Οι Gao και συν. [296] έδειξαν ότι σε ποντίκια στα οποία προκλήθηκε διαγραφή του SMAD4 στο μεσέγγυμα ενεργοποιήθηκε το σηματοδοτικό μονοπάτι SHH στο οδοντογενές επιθήλιο, παρά την παρουσία φυσιολογικής έκφρασης της BMP4. Παράλληλα, δημιουργήθηκαν κυστικές βλάβες, όμοιες ιστολογικά με OKK με προέλευση από τα επιθηλιακά υπολείμματα του Malassez [296]. Παρόμοια ευρήματα ανέφεραν και οι Jiang και συν. [297] οι οποίοι δημιούργησαν μοντέλο ποντικίων με διαγραφή του SMAD4 τόσο στο μεσέγγυμα όσο και στο οδοντογενές επιθήλιο της αναπτυσσόμενης οδοντοφυΐας των πειραματόζωων. Τέλος, οι Li και συν. [298] απέδειξαν ότι η

φυσιολογική λειτουργία του άξονα BMP4-SMAD4 οδηγεί σε καταστολή της σηματοδοτικής δραστηριότητας του μονοπατιού της SHH σε αναπτυσσόμενους γομφίους καθώς και στην ρύθμιση του πληθυσμού των SOX2+ θετικών επιθηλιακών βλαστοκυττάρων, τα οποία φαίνεται να παίζουν ρόλο στην παθογένεση της ΟΚΚ [111].

4.9 Κλινικές/Θεραπευτικές εφαρμογές BMP4

Αν και ο ρόλος της BMP4 (μαζί με BMP2) στην επαγωγή παραγωγής οστίτη ιστού είχε γίνει ήδη γνωστός από τις αρχές του 21^{ου} αιώνα [243], η ευρεία κλινική εφαρμογή της για αναγέννηση οστού δεν έχει βρει πρόσφορο έδαφος έως σήμερα. Επιπροσθέτως, η χρησιμότητα συστηματικής θεραπείας με BMPs για την αντιμετώπιση σκελετικών και μεταβολικών νοσημάτων βρίσκεται ακόμα υπό διερεύνηση, με τα πειραματικά δεδομένα, ωστόσο, να δείχνουν ότι απαιτούνται μεγάλες δόσεις για επίτευξη αποδεκτού κλινικού αποτελέσματος [289]. Στην πλέον υποσχόμενη προσπάθεια για θεραπευτική εφαρμογή της, σημειώνεται ότι η BMP4 έχει αποδειχθεί ότι επάγει την καλύτερη διαφοροποίηση κυττάρων γλοιώματος και γλοιοβλαστώματος και ευαισθητοποιεί τα κύτταρα του δεύτερου στη δράση αντινεοπλασματικών παραγόντων [299]. Αυτό το πειραματικό εύρημα έχει οδηγήσει στον σχεδιασμό κλινικής μελέτης χορήγησης ανασυνδυασμένης BMP4 σε ασθενείς με υποτροπιάζον γλοιοβλάστωμα [300]. Προς την ίδια κατεύθυνση, η ανακάλυψη μικρομοριακών αγωνιστών της BMP4 στο είδος Zebrafish έχει στρέψει το ερευνητικό ενδιαφέρον στην πειραματική δοκιμή τους σε διάφορους τύπους κακοήθειας, είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με SHH ανταγωνιστές, όπως στην περίπτωση του μυελοβλαστώματος [289].

5. ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ FORKHEAD BOX N1 (FOXN1)

5.1 Γενικά για τους Forkhead Box μεταγραφικούς παράγοντες

Οι πρωτεΐνες Forkhead Box αποτελούν μια οικογένεια μεταγραφικών παραγόντων με σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων τα οποία εμπλέκονται σε ποικίλες διεργασίες, τόσο κατά την εμβρυογένεση όσο και στη μετέπειτα ενήλικη ζωή [301]. Το 1989 στο είδος *Drosophila* ανακαλύφθηκε ένα ομοιωτικό γονίδιο η απουσία του οποίου οδηγούσε σε μετατροπή του πρόσθιου τμήματος του πεπτικού σωλήνα σε μια δομή δίκην κεφαλιού («head-like structure»), προκαλώντας ανωμαλίες στην εγκεφαλική πτύχωση και δίνοντας στο είδος «διχαλωτό ή δίκην φουρκέτας κεφάλι (forked head)» [86]. Λόγω αυτού του χαρακτηριστικού, το γονίδιο ονομάστηκε Forkhead gene (fhn gene), από τη σύντμηση των δύο λέξεων [302]. Στη συνέχεια και μέχρι σήμερα έχουν ανακαλυφθεί και άλλα τέτοια γονίδια με τις αντίστοιχες πρωτεΐνες σε πολλά διαφορετικά είδη, με 44 γονίδια να έχουν ανακαλυφθεί στον άνθρωπο και στο ποντίκι [301]. Οι μεταγραφικοί παράγοντες FOX έχουν χωριστεί σε 19 οικογένειες και λαμβάνουν ένα γράμμα από το A έως το S (FOXA έως FOXS), ανάλογα με την ομοιότητα της αλληλουχίας των αμινοξέων τους [303].

Η δράση των FOX μεταγραφικών παραγόντων σε φυσιολογικές και παθολογικές εξεργασίες έγινε αντιληπτή τα τελευταία 25 έτη ενώ εντύπωση προκαλεί στους ερευνητές ότι, παρά τη σχετικά κοινή πρωτεϊνική δομή που εμφανίζουν οι FOX μεταγραφικοί παράγοντες, επιδεικνύουν εκλεκτικότητα τόσο όσον αφορά στο όργανο όσο και στην δράση [303,304].

Χαρακτηριστικό είναι ότι η διαγραφή ποικίλων μελών των FOX μεταγραφικών παραγόντων οδηγεί σε εμβρυϊκή θνητότητα σε μοντέλα ποντικών ενώ στον άνθρωπο

περιπτώσεις μεταλλάξεων και επιγενετικών τροποποιήσεων έχουν αναφερθεί, σχεδόν, για όλα τα μέλη της FOX οικογένειας, με τη δυσλειτουργία τους να σχετίζεται κυρίως με γενετικά νοσήματα και λιγότερο με αυτοάνοσες διαταραχές και κακοήθη νεοπλάσματα [305]. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι μέλη της οικογένειας FOXA/FOXB έχουν κομβικό ρόλο στην διάπλαση οργάνων ενδοδερμικής προέλευσης όπως το ήπαρ και το νευρικό σύστημα και ο μεταγραφικός παράγοντας FOXP3 αποτελεί κομβικής σημασίας μόριο για την ανάπτυξη των T-ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων. Εξάλλου, μεταλλάξεις σε μέλη των οικογενειών FOXC, FOXE, FOXH και FOXG έχουν αναφερθεί σε διάφορα σύνδρομα τα οποία χαρακτηρίζονται, μεταξύ άλλων, από νοητική υστέρηση, οφθαλμική υποπλασία, καρδιακές δυσπλασίες και αγενεσία πολλαπλών ενδοκρινών οργάνων [301].

Όσον αφορά κακοήθη νεοπλάσματα, χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι το μόριο FOXM1 το οποίο ελέγχει τον κυτταρικό κύκλο, έχει βρεθεί υπερεκφρασμένο σε πολλούς τύπους καρκίνου, όπως του μαστού και σε γλοιοβλαστώματα και ότι το μόριο FOXA1 αποτελεί θετικό προγνωστικό δείκτη του αρνητικού σε υποδοχέα οιστρογόνων καρκίνου του μαστού [301]. Επιπρόσθετα, αντιμεταθέσεις και συντήξεις γονιδίων των FOXO1 με PAX3 και FOXO3 με MLL έχουν αναφερθεί σε ραβδομυοσαρκώματα και οξείες λευχαιμίες, αντίστοιχα [301].

Με δεδομένη τη σχετικά μεγάλη ομοιότητα στη πρωτεϊνική δομή όλων των FOX μεταγραφικών παραγόντων καθώς και την εκλεκτικότητα δράσης και αλληλεπίδρασης με άλλοτε, άλλα σηματοδοτικά μονοπάτια, την οποία παρουσιάζει το κάθε μέλος, η παρούσα ανασκόπηση θα επικεντρωθεί αποκλειστικά στην περιγραφή του **Forkhead Box N1** (FOXN1) μεταγραφικού παράγοντα, η έκφραση του οποίου διερευνάται στην παρούσα εργασία.

5.2 FOXN1-Εισαγωγικά στοιχεία

Η πρώτη περιγραφή του γονιδίου και της πρωτεΐνης του FOXN1 έγινε από τους Schorpp και συν. [306] τόσο στο ανθρώπινο είδος όσο και στα ποντίκια. Η εμφάνιση νεογέννητων ποντικών ελλείπει του FOXN1 χαρακτηριζόταν από αγενεσία θύμου, ευθραυστότητα δέρματος και πλήρη απουσία διακριτών τριχών με αποτέλεσμα ο φαινότυπος αυτός να ονομασθεί από τους ερευνητές «γυμνός» (nude) φαινότυπος. Αυτή η παρατήρηση, με τη σειρά της, οδήγησε στον χαρακτηρισμό του γονιδίου του FOXN1 ως Nude Gene [306].

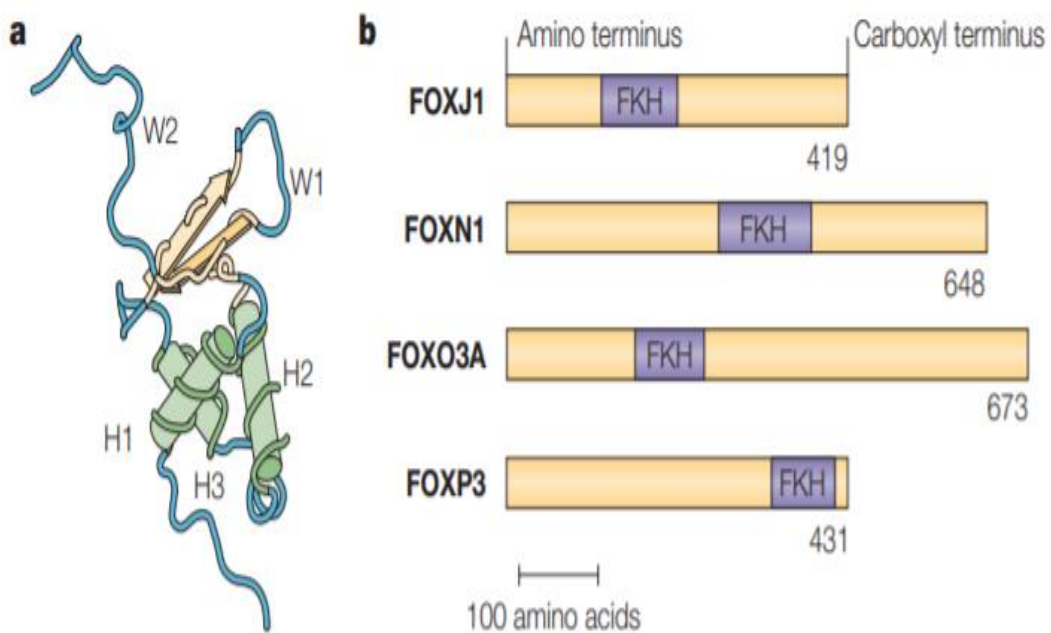
Από πλήθος ερευνητικών μελετών προκύπτει ότι ο μεταγραφικός παράγοντας FOXN1 συμμετέχει καταλυτικά στην οργανογένεση του θύμου αδένα και συγκεκριμένα στην διαφοροποίηση των θυμικών επιθηλιακών κυττάρων (Thymic Epithelial Cells), μιας εξειδικευμένης ομάδας επιθηλιακών κυττάρων τα οποία αλληλεπιδρούν με τα λεμφική/αιμοποιητικής προέλευσης κύτταρα του μεσεγχύματος του αδένα, με απώτερο σκοπό τόσο την διαμόρφωση των θυμικών λοβών όσο και την ωρίμανση και παραγωγή λειτουργικών T λεμφοκυττάρων [307]. Μάλιστα, η δραστηριότητα του παράγοντα δεν περιορίζεται στα αρχικά στάδια της εμβρυογένεσης του θύμου αφού έχει αποδειχθεί ότι η έκφραση του στην μετεμβρυϊκή ζωή παίζει ρόλο στην ομοίωση του αδένα και στην ικανότητα του να συνεχίζει να παράγει T λεμφοκύτταρα, ενώ η μείωση αυτής συμπίπτει με την σχετιζόμενη με την ηλικία υποστροφή του αδένα [308,309]. Ακόμα, όπως θα αναλυθεί εκτενέστερα στη συνέχεια, συμμετέχει στη φυσιολογική διάπλαση του τριχοθυλακίου, των νυχιών και της επιδερμίδας [310].

Όπως προκύπτει από τα προαναφερθέντα, οι περισσότερες, έως σήμερα, γνώσεις για το FOXN1 προέρχονται από την μελέτη της δράσης του στη διάπλαση του θύμου ενώ μεταλλάξεις του αντίστοιχου γονιδίου ενοχοποιούνται για την εμφάνιση του πολύ σπάνιου συνδρόμου συγγενούς ανοσοκαταστολής εν ονόματι «ανοσοανεπάρκεια T κυττάρων, συγγενής αλωπεκία και ονυχοδυστροφία» (T cell immunodeficiency, Congenital alopecia and Nail dystrophy ή Nude Severe Combined Immunodeficiency-OMIM#601705) , ενός νοσήματος το οποίο στον άνθρωπο κληρονομείται με αυτοσωμικά υπολειπόμενο τρόπο και προσομοιάζει τον προαναφερθέντα φαινότυπο των «γυμνών» ποντικών [311]. Σημειώνεται ότι το γονίδιο αυτό βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17, στη θέση q11.2 [306].

5.3 Δομή του μεταγραφικού παράγοντα FOXN1

Ο μεταγραφικός παράγοντας FOXN1 παρουσιάζει ομοιότητα 85% σε ανθρώπους και τρωκτικά αποτελώντας έναν εξελικτικά διατηρημένο μεταγραφικό παράγοντα ανάμεσα σε διάφορα είδη [312]. Αποτελείται από 648 αμινοξέα με το N-τελικό άκρο να έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζει εξειδίκευση για τις δράσεις της πρωτεΐνης στον θύμο [313] ενώ το C-τελικό άκρο είναι απαραίτητο για την άσκηση της μεταγραφικής δραστηριότητας των γονιδίων-στόχων, αφού περιέχει μια ειδική περιοχή μεταγραφικής ενεργοποίησης μεγέθους περίπου 50 αμινοξέων (θέση 511 έως 563) [306,314]. Επίσης, περιέχει μια χαρακτηριστική περιοχή 80-100 αμινοξέων (Forkhead box) που αποτελεί κοινό μοτίβο σε όλους τους FOX μεταγραφικούς παράγοντες και παίζει ρόλο στην πρόσδεση τους στο DNA [301]. Ειδικότερα, αυτή η περιοχή αποτελείται από τρεις α-έλικες, τρεις β-αλυσίδες και δύο βρόγχους, καταναμημένα σε ένα μοτίβο «έλικα-στροφή-έλικα», με τους βρόγχους να προσδένονται στη μικρή

αύλακα του DNA. Η δομή αυτή είναι, επίσης, γνωστή ως «φτερωτή έλικα», ονομασία που οφείλεται στην ομοιάζουσα με πεταλούδα εμφάνιση των βρόγχων [304] (Εικόνα 12). Έτσι, μια εναλλακτική ονομασία που δόθηκε στους FOX μεταγραφικούς παράγοντες ήταν Winged-helix (Wh) («φτερωτή έλικα») transcription factors και ειδικά στο FOXN1 winged-helix nude (Whn).



Εικόνα 12: α) Η κρυσταλλική τρισδιάστατη δομή των πρωτεϊνών FOX (h-ελικες, w-βρόγχοι (wings)) β) Η αλληλουχία αμινοξέων και η θέση του Forkhead box (FKH) του FOXN1 σε σύγκριση με άλλους FOX μεταγραφικούς παράγοντες [304].

5.4 FOXN1 και διάπλαση επιδερμίδας και τριχοθυλακίου

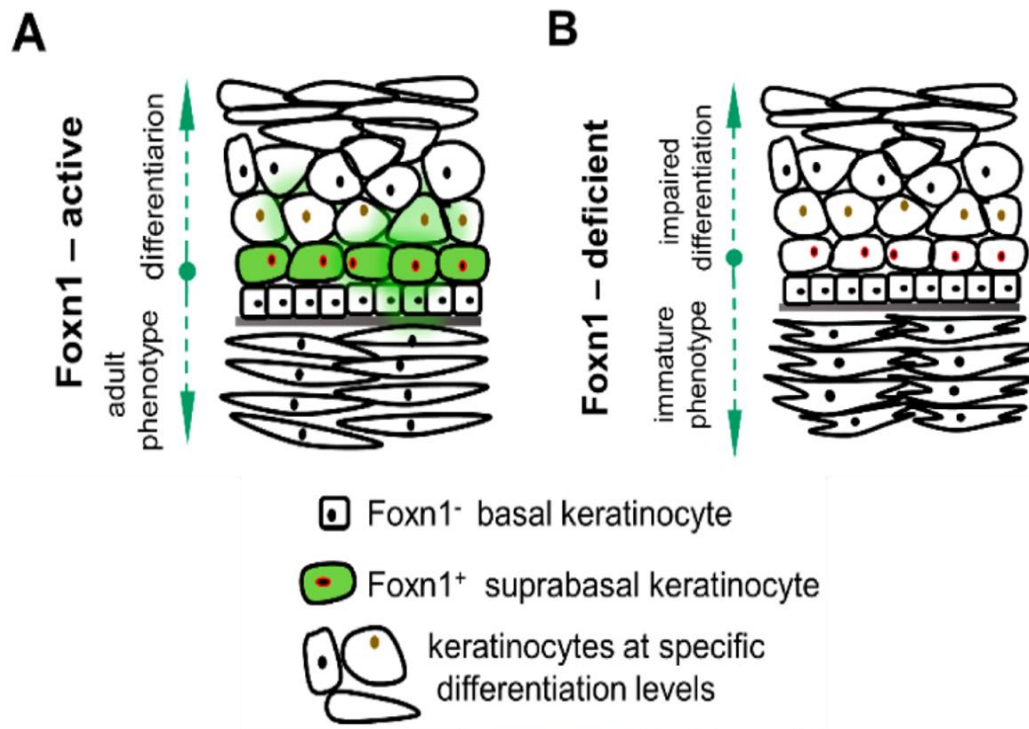
Πέραν του ρόλου του στο θύμο αδένα, ο FOXN1 φαίνεται να συμμετέχει στην ανάπτυξη και άλλων ιστών επιθηλιακής προέλευσης, κυριότερα της επιδερμίδας, του τριχοθυλακίου και των νυχιών [315]. Οι Lee και συν. [316], σε μελέτες σε ποντίκια, απέδειξαν ότι κατά την 13^η έως και τη 15^η εμβρυϊκή ημέρα, η έκφραση του FOXN1 ανιχνεύθηκε στα αναπτυσσόμενα τριχοθυλάκια και νύχια και αλλά και στο στοματικό, ρινικό και ωτικό βλεννογόνο, όπως επίσης και στις καταβολές των αναπτυσσόμενων δοντιών. Σε επόμενα στάδια, η έκφραση του γίνεται αντιληπτή σε όλη την έκταση της επιδερμίδας και στο σύνολο των τριχοθυλακίων [316].

Ο FOXN1 εκφράζεται κυρίως: (α) στην επιδερμίδα, στα κύτταρα της πρώτης υπερβασικής στιβάδας και σε λίγα κύτταρα της βασικής στιβάδας [317] και (β) στο θύλακο της τρίχας, κυρίως, κατά την φάση αναγέννησης (anagen) όταν τα πρόδρομα κύτταρα του εσωτερικού ελύτρου της ρίζας (inner root sheath) και του βολβού της τρίχας αρχίζουν να διαφοροποιούνται προς ώριμα κερατινοκύτταρα, εκφράζοντας ειδικές κερατίνες τρίχας [318]. Και στις δύο περιπτώσεις, η έκφραση του παράγοντα φαίνεται να εντοπίζεται σε κύτταρα που εξέρχονται του κυτταρικού κύκλου, και «οδεύουν» προς πλήρη (τελική) διαφοροποίηση (terminal differentiation) [316,318]. Επιπλέον, τα κύτταρα τα οποία εκφράζουν FOXN1 συνεκφράζουν CK1/CK10, κυτοκερατίνες τελικώς διαφοροποιημένων επιθηλιακών κυττάρων, ενώ μειώνεται η έκφραση της CK14 η οποία συνιστά δείκτη μιτωτικά ενεργών κυττάρων της βασικής στιβάδας [315]. Συνδυαστικά, ευρήματα της βιβλιογραφίας συνηγορούν στο ότι, σε επιδερμίδα και τριχοθυλάκιο, ο FOXN1 επάγει (α) την διαφοροποίηση των μεταμιτωτικών κυττάρων τα οποία ανέρχονται σε, ανώτερες της βασικής, στιβάδες και (β) επάγει τον πολλαπλασιασμό γειτονικών κυττάρων ή κυττάρων της βασικής στιβάδας ώστε να πάρουν τη θέση του κυττάρου το οποίο διαφοροποιείται [316,317].

Με αυτό τον τρόπο, διατηρείται η ισορροπία πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης των πρόδρομων επιδερμικών κυττάρων [315]. Ο ακριβής μηχανισμός, ωστόσο, με τον οποίο δρα ο FOXN1 και τα γονίδια-στόχοι του παραμένουν ακόμη υπό διερεύνηση.

Περαιτέρω ενδείξεις έρχονται και από μοντέλα ποντικών με FOXN1 knockout στα οποία η επιδερμίδα εμφανίζει απουσία διακριτών τριχών, αν και τα τριχοθυλάκια έχουν διαπλασθεί [315,316]. Παράλληλα, τα υπερβασικά κύτταρα εμφανίζουν αυξημένη έκφραση CK5 που είναι δείκτης συνεχούς μιτωτικής ενεργότητας και η επιδερμίδα εμφανίζει υπερπλασία με διαταραχή της φυσιολογικής της διαστρωμάτωσης [316,318]. Επίσης, διακόπτεται η φυσιολογική διαφοροποίηση των νυχιών με απώλεια της CK1 [316,318,319]. Τέλος, οι Janes και συν. [320] χρησιμοποιώντας σειρές επιδερμικών κερατινοκυττάρων και δημιουργώντας συνθήκες υπερέκφρασης του FOXN1 παρατήρησαν μείωση της ικανότητας των πληθυσμών βλαστοκυττάρων της επιδερμίδας να δημιουργήσουν αναπτυσσόμενους κλώνους. Παράλληλα, τα βλαστικά κύτταρα οδηγήθηκαν σε τελική διαφοροποίηση προς ώριμα κερατινοκύτταρα [320].

Συμπερασματικά, ο ρόλος του FOXN1 σε επιδερμίδα και τριχοθυλάκιο φαίνεται να είναι κρίσιμος, τόσο για την αρχική μορφοδιάπλαση αυτών των οργάνων όσο και για μετέπειτα ομοιοστατικούς μηχανισμούς (Εικόνα 13). Αυτό επιτυγχάνεται αφενός με την επαγωγή της τελικής διαφοροποίησης των επιθηλιακών κυττάρων και της φυσιολογικής κερατινοποίησης και αφετέρου με τον έλεγχο της πολλαπλασιαστικής δραστηριότητας των επιθηλιακών βλαστοκυττάρων [321].



Εικόνα 13: Α) Φαινότυπος επιδερμίδας υπό φυσιολογική έκφραση FOXN1 Β)

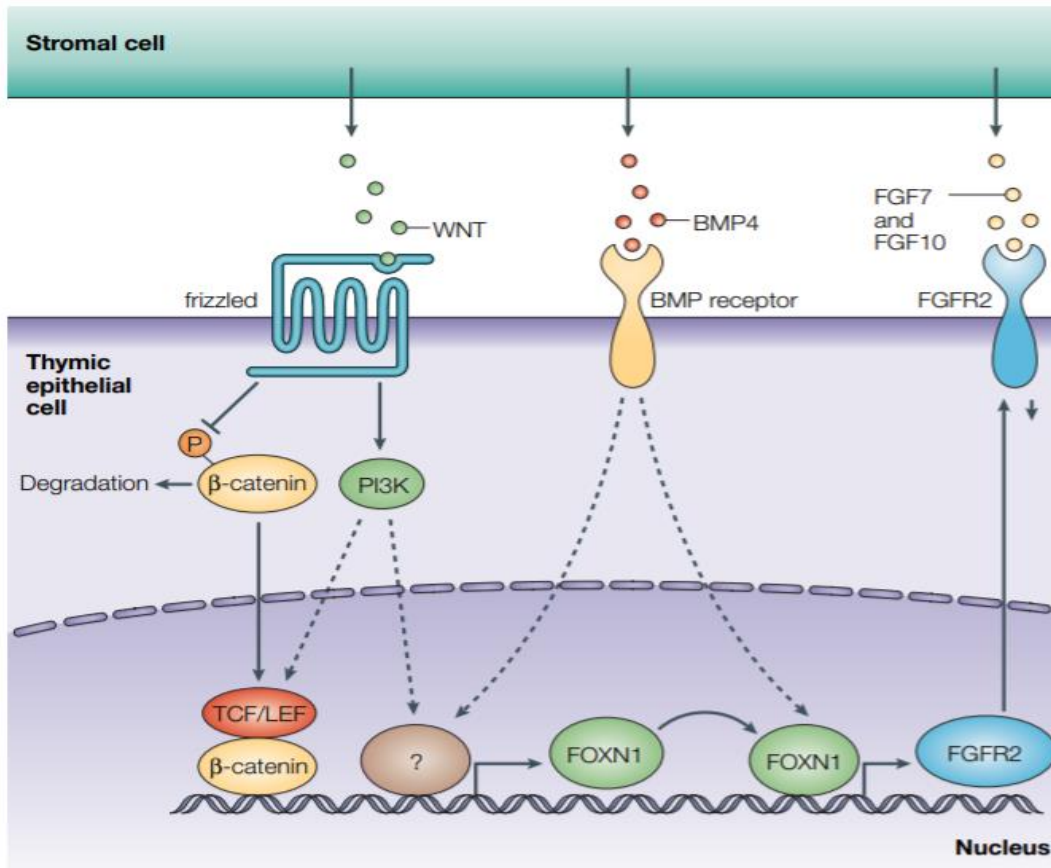
Διαταραγμένη διαφοροποίηση και επιθηλιακός φαινότυπος ελλείψει FOXN1 [321].

5.5 Αλληλεπίδραση με άλλα σηματοδοτικά μονοπάτια κατά την εμβρυογένεση

Η μέχρι τώρα γνώση για τα γονίδια-στόχους του FOXN1 και τη ρύθμιση του από σηματοδοτικά μονοπάτια προέρχεται, κυρίως, από μελέτες για τη διάπλαση του θύμου αδένου και, δευτερευόντως, για τη διάπλαση του θυλάκου της τρίχας [321,322].

Από αυτές τις μελέτες προκύπτει ότι τα σηματοδοτικά μονοπάτια των BMPs, ειδικότερα της BMP4, και του Wnt/ β -κατενίνης παίζουν τον κυριότερο ρόλο στη ρύθμιση της έκφρασης του FOXN1 σε αυτούς τους ιστούς (Εικόνα 14) [321,322].

Συγκεκριμένα, κατά τη διάπλαση του θύμου, η BMP4 στο αναπτυσσόμενο μεσέγχυμα επάγει την έκφραση του FOXN1, τόσο στο χώρο (ενδόδερμα τρίτου φαρυγγικού τόξου-θέση που θα αναπτυχθεί ο θύμος) όσο και στο χρόνο, ο οποίος συμπίπτει με την αλληλεπίδραση των πρόδρομων θυμικών επιθηλιακών κυττάρων με τα άωρα μεσεγχυματικά κύτταρα [323]. Στη συνέχεια, ο FOXN1 επάγει τον FGF στο αναπτυσσόμενο θυμικό μεσέγχυμα, μόριο απαραίτητο για τα τελικά στάδια διαφοροποίησης του οργάνου [322]. Επιπροσθέτως, ποντίκια με υπερέκφραση του BMP4 ανταγωνιστή Noggin παρουσίασαν δυσπλαστικούς θυμικούς λοβούς με μειωμένη έκφραση FOXN1 [324]. Η έκφραση του FOXN1 επάγεται και από την β -κατενίνη καθώς και από την, επαγόμενη από το Wnt, PI3K, με τον τελευταίο μηχανισμό να μην έχει πλήρως διαλευκανθεί [325]. Επίσης, οι Bain και συν. [326] ανέδειξαν κατασταλτική δράση του μονοπατιού του SHH στην έκφραση του FOXN1 στο τρίτο φαρυγγικό τόξο μέσω επαγωγής του μεταγραφικού παράγοντα TBX1, με αποτέλεσμα την αναστολή της οργανογένεσης του θύμου. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η έκφραση της BMP4, τόσο στο ενδόδερμα όσο και στο μεσέγχυμα του τρίτου φαρυγγικού τόξου, φαίνεται να ασκεί «προστατευτική» δράση στα FOXN1⁺ κύτταρα από την, επαγόμενη από την SHH, καταστολή διασφαλίζοντας έτσι την ομαλή διάπλαση του θύμου [326].



Εικόνα 14: Επαγωγή FOXP1 από τα σηματοδοτικά μονοπάτια Wnt και BMP4 κατά τη διάπλαση του θύμου. Η BMP4 φαίνεται να δρα μέσω των διαμεμβρανικών υποδοχέων της για την επαγωγή του FOXP1, αν και δεν έχει δειχθεί εάν η επαγωγή του παράγοντα είναι διαμεσολαβούμενη από τους ενδοκυττάριους υποδοχείς SMAD [322].

Όπως προαναφέρθηκε, ο άξονας BMP4-FOXN1 συναντάται και στο τριχοθυλάκιο, στα νύχια και στο δέρμα. Συγκεκριμένα, η έκφραση της BMP4 στην θηλή της τρίχας (dermal papilla) επάγει την έκφραση του FOXN1 στο εσωτερικό έλυτρο της ρίζας της τρίχας [327,328]. Επίσης η διαγραφή του BMPR1a υποδοχέα της BMP4 στην αναπτυσσόμενη επιδερμίδα και τριχοθυλάκιο έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της έκφρασης του FOXN1 στο στέλεχος της τρίχας [327].

Σε διαγονιδιακά μοντέλα ποντικών, η διαγραφή της BMP4 έχει ως απότοκο την υποέκφραση του FOXN1 σε ιστούς επιθηλιακής προέλευσης ενώ κλινικά διαπιστώνεται δυστροφία των νυχιών, ένα εύρημα το οποίο παρατηρείται και στο φαινότυπο ποντικών και ανθρώπων με FOXN1 μεταλλάξεις [319,328]. Επίσης, εκτός από το FOXN1, η BMP4 στα νύχια και στο τριχοθυλάκιο, φαίνεται να επάγει την έκφραση του MSX2 το οποίο με τη σειρά του αλληλεπιδρά με το FOXN1 με αποτέλεσμα την έκφραση συγκεκριμένων κυτοκερατινών, ρυθμίζοντας έτσι τη φυσιολογική διαφοροποίηση αυτών των ιστών [327,329]. Ποντίκια, μάλιστα, με διπλή διαγραφή των MSX2 και FOXN1 παρουσίαζαν πλήρη απώλεια τριχών και δυσμορφίες των νυχιών [327].

Παρόμοια δράση η οποία οδηγεί σε επαγωγή της φυσιολογικής διαφοροποίησης φαίνεται να συμβαίνει και στην επιδερμίδα ενώ αξιοσημείωτο είναι ότι, επί διαγραφής του υποδοχέα της BMP4 σε αυτό τον ιστό, τα πειραματόζωα παρουσιάζουν σχεδόν πανομοιότυπο «γυμνό» φαινότυπο, όπως αυτόν ο οποίος περιγράφηκε στα FOXN1 knockout ποντίκια [327]. Όπως και στο θύμο, φαίνεται ότι η ισορροπία BMP4 και Wnt είναι κρίσιμη για την φυσιολογική διαφοροποίηση, αφού η αναστολή της έκφρασης της BMP4 είχε ως αποτέλεσμα την υπερέκφραση μορίων του Wnt και αυξημένη δραστηριότητα κυττάρων με χαρακτηριστικά βλαστοκυττάρων [330]. Παράλληλα, σε μελέτες ενίσχυσης γονιδίων (gene enrichment analysis) σε ποντίκια

με «γυμνό» (FOXN1 knockout) φαινότυπο βρέθηκε μείωση έκφρασης γονιδίων του σηματοδοτικού μονοπατιού των BMPs και αύξηση γονιδίων του Wnt μονοπατιού [331].

Όσον αφορά στην αλληλεπίδραση του FOXN1 με άλλα σηματοδοτικά μονοπάτια, ο παράγοντας έχει υποστηριχθεί ότι δρα ανιόντως του Notch στο τριχοθυλάκιο και τα νύχια [328] ενώ η MAPK φαίνεται να δρα ανασταλτικά στο FOXN1 στην επιδερμίδα [318]. Σε άλλες ερευνητικές μελέτες, βρέθηκε ότι ο FOXN1 επάγει την έκφραση και δρα συνεργικά με τις PKB (Akt) και PKC σε ύστερα στάδια της τελικής διαφοροποίησης των επιθηλιακών κυττάρων, γεγονός που υποδεικνύει ότι η δράση του FOXN1 στην επιθηλιακή διαφοροποίηση είναι πολυεπίπεδη και σε στενή αλληλεπίδραση με ποικίλα σηματοδοτικά μονοπάτια και μόρια [320,332].

5.6 Ο FOXN1 σε παθολογικές καταστάσεις

Η πλειοψηφία των παθολογικών καταστάσεων στις οποίες έχει μελετηθεί ο ρόλος του FOXN1 αφορά θυμικής ή δερματικής προέλευσης νεοπλασματικές εξεργασίες. Οι Nonaka και συν. [333] απέδειξαν, με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας, ότι η πυρηνική έκφραση του FOXN1 αποτελεί ικανό δείκτη για τη διαφοροδιάγνωση θυμωμάτων τύπου Β από τύπου Α ενώ παρατηρήθηκε πυρηνική έκφραση και σε ένα μεγάλο ποσοστό θυμικών καρκινωμάτων, όπως επιβεβαιώθηκε και από τους Weissferdt και συν. [334].

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι, σε διάφορες μελέτες, έχουν ανιχνευθεί αυξημένα μετάγραφα του FOXN1 σε σμηγματορροϊκές κερατώσεις, δερματικά καλοήγη νεοπλάσματα τα οποία εξελίσσονται συχνά σε ακανθοκυτταρικά ή βασικοκυτταρικά καρκινώματα δέρματος, σε σύγκριση με ακανθοκυτταρικά

καρκινώματα δέρματος [335-337]. Στην εργασία των Mandinova και συν. [335], η επαγωγή της έκφρασης του FOXN1 σε σειρές κυττάρων δερματικού ακανθοκυτταρικού καρκινώματος οδήγησε στη «μετατόπιση» τους προς ένα «πιο καλοήγη» φαινότυπο με χαρακτηριστικά ομοιάζοντα αυτών της σμηγματοροϊκής κερατώσης. Από τα παραπάνω φαίνεται ότι ο ρόλος του FOXN1 στις σμηγματοροϊκές κερατώσεις είναι προστατευτικός ευνοώντας τη διατήρηση υψηλότερης επιθηλιακής διαφοροποίησης των βλαβών [336]. Αν και η αρχική μελέτη των Mandinova και συν. [335] απέδωσε την αύξηση του FOXN1 στην δράση του FGFR3 ενώ αναδείχθηκε ανασταλτικός ρόλος των μορίων EGF και ERK στην έκφραση του παράγοντα, αυτό δεν έχει επιβεβαιωθεί σε νεότερες μελέτες, με τον ακριβή μηχανισμό επαγωγής της έκφρασης του FOXN1 στις σμηγματοροϊκές κερατώσεις να παραμένει μη εξακριβωμένος [337].

Ένα άλλο δερματικό νεόπλασμα στο οποίο φαίνεται να διαδραματίζει ρόλο ο FOXN1 είναι το δερματοϊνώμα. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα στην υπερκείμενη επιδερμίδα δερματοϊνωμάτων συγκριτικά με αρνητική έκφραση του σε δερματοϊνοσαρκώματα [338]. Τέλος, σε πρόσφατη εργασία των Xiaojian και συν. [339], αναδείχθηκε ογκοκατασταλτικός ρόλος του FOXN1 σε μη μικροκυτταρικά καρκινώματα του πνεύμονα.

5.7 Κλινικές/Θεραπευτικές εφαρμογές FOXN1

Η επαγωγή της έκφρασης του FOXN1, κυρίως σε γονιδιακό επίπεδο, έχει βρεθεί στο επίκεντρο τα τελευταία χρόνια, με στόχο την καθυστέρηση της, σχετιζόμενης με την ηλικία, υποστροφής του οργάνου ή ,σε δεύτερο στάδιο, της ιστικής αναγέννησης του με απώτερο σκοπό την κλινική εφαρμογή στην αντιμετώπιση συγγενών ή επίκτητων ανοσοανεπαρκειών ή/και αυτοάνοσων νοσημάτων [340]. Η παραπάνω προσπάθεια έχει γίνει είτε με τη χρήση μοντέλων διαγονιδιακών πειραματόζωων στα οποία έχει γίνει, με τεχνικά μέσα,επαγωγή συνεχούς έκφρασης του FOXN1 στα «γερασμένα» θυμικά επιθηλιακά κύτταρα [340] είτε μέσω μεταμόσχευσης εργαστηριακά κατασκευασμένων θυμικών επιθηλιακών κυττάρων τα οποία έχουν προέλθει από ινοβλάστες στις οποίες έγινε επαγωγή υπερέκφρασης του FOXN1 [341]. Και με τις δυο μεθόδους, σημειώθηκε «αναγέννηση» του οργάνου, με χαρακτηριστικά παρόμοια του φυσιολογικού. Όσον αφορά στην επιδερμίδα και στο τριχοθυλάκιο, ο FOXN1 παίζει σημαντικό ρόλο στην γρηγορότερη επαναεπιθηλιοποίηση τραυμάτων και στην αναγέννηση του θυλάκου της τρίχας, με την ανεύρεση, ωστόσο, φαρμακευτικών παραγόντων που να μπορούν να οδηγήσουν στην επαγωγή του παράγοντα στο δέρμα να βρίσκεται ακόμα σε αρχικά στάδια [342].

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΓΕΝΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

α) ΟΚΚ και η ΟΟΚ είναι δύο οδοντογενείς κύστεις αναπτυξιακής αιτιολογίας που, αν και έχουν πρότυπο διαφοροποίησης παρόμοιο με του καλυπτικού επιθηλίου, παρουσιάζουν διαφορές σε πολλά επίπεδα και κυριότερα στη βιολογική συμπεριφορά.

β) Η διαφορετική βιολογική συμπεριφορά φαίνεται να σχετίζεται με την διαφορετική διαφοροποίηση και πολλαπλασιαστικό δυναμικό που εμφανίζει το επιθήλιο κάθε βλάβης, με την ΟΟΚ να εμφανίζει πλήρως διαφοροποιημένο επιθήλιο, παρόμοιο της επιδερμίδας, σε σχέση με την ΟΚΚ της οποίας το επιθήλιο είναι λιγότερο «ώριμο» και με υψηλότερη πολλαπλασιαστική δραστηριότητα.

γ) Η πρωτεΐνη BMP4 αποτελεί «φύλακα» της ομαλής διαδικασίας της οδοντογένεσης και ειδικότερα της μετάβασης από το στάδιο της οδοντικής καταβολής στο στάδιο του οδοντοβλαστήματος, επάγοντας την απόπτωση και αποτρέποντας τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και «ελέγχοντας», μεταξύ άλλων, την έκφραση του SHH ενώ εμφανίζει διττό ρόλο σε διάφορα νεοπλάσματα.

δ) Ο μεταγραφικός παράγοντας FOXN1 ρυθμίζει την φυσιολογική επιθηλιακή διαφοροποίηση σε θύμο, επιδερμίδα, νύχια και τριχοθυλάκιο, με κοινό κύριο επαγωγικό μόριο σε αυτούς τους ιστούς την BMP4 ενώ σε διάφορα νεοπλάσματα ασκεί ογκοκατασταλτικές δράσεις.

7. ΥΠΟΘΕΣΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Βάσει των διαθέσιμων βιβλιογραφικών δεδομένων συμπεραίνεται ότι ο ανοσοφαινότυπος της ΟΚΚ προσομοιάζει περισσότερο σε αυτόν της οδοντικής ταινίας και της περιοχής της διόγκωσης του τριχοθυλακίου, με θετικότητα κυτοκερατινών οι οποίες, κατά κανόνα, εκφράζονται στα κύτταρα της βασικής στιβάδας σε υπερβασικές θέσεις, ενώ της ΟΟΚ σε αυτόν της επιδερμίδας, με πλήρως διαφοροποιημένα κερατινοκύτταρα. Υποθέτουμε ότι οι διαφορές στον επιθηλιακό ανοσοφαινότυπο που παρουσιάζει η ΟΚΚ σε σχέση με την ΟΟΚ οφείλονται στην δυσλειτουργία του άξονα BMP4-FOXN1, με τη διαφορά αυτή να αντανακλάται στη διαφορετική τους βιολογική συμπεριφορά.

II. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανοσοϊστοχημική διερεύνηση και συγκριτική αξιολόγηση της έκφρασης και της μικροανατομικής κατανομής των μορίων BMP4 και FOXN1 σε Οδοντογενείς Κερατινοκύστεις (ΟΚΚ), συγκριτικά με Ορθοκερατινοποιημένες Οδοντογενείς Κύστεις (ΟΟΚ)

III. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας και Έρευνας της Οδοντιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (Αριθμός Πρωτοκόλλου: 436/27.03.2020).

1.1 Υλικό μελέτης

Το υλικό της παρούσας μελέτης προέρχεται από το ιστοπαθολογικό αρχείο του Εργαστηρίου της Στοματολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ. Η αναδρομική μελέτη για τη χρονική περίοδο 2000-2019 ανέδειξε συνολικά 303 περιπτώσεις ΟΚΚ και 16 περιπτώσεις ΟΟΚ.

Στο τελικό δείγμα συμπεριελήφθησαν οι περιπτώσεις, οι οποίες:

1. Ήταν πρωτοπαθείς κύστεις και όχι υποτροπές.
2. Το αποσταλέν υλικό δεν προέκυψε από μαρσιποποίηση κύστης.
3. Αναγράφονταν όλες οι απαραίτητες κλινικές πληροφορίες στο παραπεμπτικό ιστολογικής εξέτασης που συνόδευε το χειρουργικό υλικό.
4. Υπήρχε επαρκές υλικό στον κύβο παραφίνης.
5. Η ανεξάρτητη ιστοπαθολογική επανεκτίμηση από δύο ερευνητές (Θ.Γ., Τ.Κ) αντιπροσωπευτικών τομών κάθε περίπτωσης, με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, επιβεβαίωσε την ιστοπαθολογική διάγνωση, σύμφωνα με την ταξινόμηση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας [1].
6. Επιπλέον, για τις ΟΚΚ ήταν απαραίτητο να μην αναφέρεται διάγνωση συνδρόμου Σπλοειδών Βασικοκυτταρικών Καρκινωμάτων (ΟΜΙΜ #109400) στο ιστορικό του/της ασθενούς.

Σε όλες τις περιπτώσεις έγινε καταγραφή δημογραφικών στοιχείων όπως το φύλο και η ηλικία και κλινικών πληροφοριών, όπως η γνάθος προσβολής, η υποεντόπιση της

βλάβης (περιοχή τομέων ή προγομφίων ή γομφίων και συνδυασμός αυτών των περιοχών) και η σχέση της βλάβης με έγκλειστο δόντι.

Από ιστολογικής πλευράς, στις ΟΚΚ καταγράφηκαν τα ακόλουθα ιστολογικά στοιχεία τα οποία έχουν συσχετισθεί βιβλιογραφικά με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής στις ΟΚΚ: [68,84,133]

1. Παρουσία επιθηλιακών εκβλαστήσεων.
2. Παρουσία επιθηλιακών νησιδίων
3. Παρουσία θυγατρικών κύστεων

Επίσης, στις περιπτώσεις ΟΟΚ καταγράφηκε ή ύπαρξη άλλου τύπου επιθηλίου πέραν του ορθοκερατινοποιημένου, όπως μη κερατινοποιημένου ή παρακερατινοποιημένου, μια ιστολογική παράμετρος της ΟΟΚ η οποία αναφέρεται στην πρόσφατη ταξινόμηση του WHO [1].

1.2 Μέθοδος

1.2.1 Ανοσοϊστοχημική χρώση

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη πραγματοποιήθηκε σε ιστοτεμάχια μονιμοποιημένα σε υδατικό διάλυμα ουδέτερης φορμόλης 10% (4% φορμαλδεΰδη) και εγκλεισμένα σε κύβους παραφίνης (Diawax, Diapath, Martinengo, Italy), κατά τη συνήθη ιστολογική τεχνική [343]. Από κάθε περίπτωση κόπηκαν με μικροτόμο (Leica RM2145) 2 τομές πάχους 4μm, οι οποίες απλώθηκαν σε υδατόλουτρο (Tissue Bath, P/S, NBIT Y2K, Chicago 47, USA) ρυθμισμένο στους 62°C για 1 λεπτό και στη συνέχεια επιστρώθηκαν σε ηλεκτροθετικά φορτισμένες αντικειμενοφόρες πλάκες (SuperFrost®Plus, Menzel-Glaser, D-38116 Braunschweig, 25*75*1.0 mm, Art No.J1800AMNZ), για την αποφυγή αποκόλλησης των τομών κατά την κατεργασία. Ακολούθως, οι τομές τοποθετήθηκαν σε κλίβανο ξηράς θερμότητας (Heratherm, Thermo Scientific, USA) για 1 ώρα στους 64 °C για τη σταθεροποίηση των ιστών στις αντικειμενοφόρες πλάκες και μετά αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου.

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

Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά των αντισωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν.

Αντίσωμα	BMP4	FOXN1
Τύπος αντισώματος	Μονόκλωνο	Πολύκλωνο
Ξενιστής	Κουνέλι	Κουνέλι
Αραίωση	1:100	1:50
Θετικός μάρτυρας	Πορογενές καρκίνωμα μαστού	Σμηγματορροϊκή κεράτωση
Εταιρεία	Abcam Plc	Abcam Plc
Αριθμός καταλόγου	ab124715	ab113235

1.2.1.2 Πρωτόκολλο ανοσοϊστοχημικής χρώσης

- Αποπαραφίνωση και ενυδάτωση: Οι τομές τοποθετήθηκαν σε κλίβανο ξηράς θερμότητας για 15 λεπτά στους 60°C και στη συνέχεια αποπαραφινώθηκαν μέσω ξυλόλης (εμβάπτιση 2 φορές, διάρκειας 10 λεπτά η φορά). Η ενυδάτωση πραγματοποιήθηκε με διαδοχικές εμβάπτισεις σε αιθανόλη 100% (2 φορές, 10 λεπτά η κάθε φορά) και αιθανόλη 95% (2 φορές, 10 λεπτά η κάθε φορά). Ακολούθησαν εκπλύσεις με ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας Tris των 40ml που περιείχε Tween 20 (EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x concentrated), DAKO, K8007, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά και με απεσταγμένο νερό για επιπλέον 10 λεπτά.
- Δέσμευση της δραστηριότητας της ενδογενούς υπεροξειδάσης: Οι τομές τοποθετήθηκαν σε διάλυμα 3% H₂O₂ (5ml H₂O₂ σε 100 ml απεσταγμένο νερό (Hydrogen Peroxide Block 30%, Merck, Darmstadt, Germany) σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Ακολούθησε έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.
- Ανάκτηση της αντιγονικότητας: Έγινε τοποθέτηση των τομών σε πλαστικά δοχεία που περιείχαν 20ml ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού με pH 9, (EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution (50x concentrated), DAKO, K8005, Agilent Technologies, USA) και επώαση σε φούρνο μικροκυμάτων για 20 λεπτά. Ακολούθησε παραμονή των τομών σε θερμοκρασία δωματίου για 20 λεπτά και έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας Tris σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.
- Εφαρμογή πρωτογενών αντισωμάτων: Οι τομές επώασθηκαν με τα πρωτογενή αντισώματα σε κατάλληλη αραιώση όλη τη νύχτα σε θερμοκρασία 4°C. Την επόμενη μέρα έγινε έκπλυση των τομών με ρυθμιστικό διάλυμα

εργασίας σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Ακολούθως, έγινε επώαση των ιστών με το έτοιμο για χρήση δευτερογενές ρυθμιστικό διάλυμα που περιείχε σταθεροποιητική πρωτεΐνη και αντιμικροβιακό παράγοντα (EnVision™ FLEX+ Rabbit (LINKER), DAKO, K8019, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά και στη συνέχεια έκπλυση με το ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας Tris σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά.

- Εφαρμογή χρωμογόνου: Έγινε επώαση των τομών με το EnVision Flex+ (DAKO, K8002, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 25-30 λεπτά. Ακολούθησε έκπλυση των τομών με το ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας Tris σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Οι τομές επώαστηκαν με 1-2 σταγόνες διαλύματος χρωμογόνου 3,3', τετραϋδροχλωρικής διαμινοβενζιδίνης (DAB) (EnVision™ FLEX DAB+ Chromogen (DM827) σε 100ml EnVision™ FLEX Substrate Buffer (DM823), DAKO, Agilent Technologies, USA) σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά. Ακολούθησε έκπλυση των τομών με το ρυθμιστικό διάλυμα εργασίας Tris σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά και κατόπιν με τρεχούμενο νερό βρύσης για 10 λεπτά.
- Αντίχρωση: Έγινε με πρόσφατο διάλυμα αιματοξυλίνης Gill (no2) σε θερμοκρασία δωματίου για 1 λεπτό.
- Αφυδάτωση των τομών: Έγιναν διαδοχικές εμβαπτίσεις σε διαλύματα αιθανόλης 70%, 80%, 95% και 100% από 1 λεπτό για την κάθε περιεκτικότητα και ακολούθως σε ξυλόλη θερμοκρασίας δωματίου για 2 λεπτά.
- Κάλυψη των τομών με το ειδικό υλικό επικάλυψης mounting solution και τοποθέτηση καλυπτρίδας.

1.2.3 Αξιολόγηση ανοσοϊστοχημικής χρώσης

1.2.3.1 Θετικοί Μάρτυρες

Ο ιστός-θετικός μάρτυρας για την BMP4 ήταν πορογενές αδενοκαρκίνωμα του μαστού. Ο συγκεκριμένος ιστός προτάθηκε από την εταιρεία που προμήθευσε τα αντισώματα (Abcam, Plc) και συμφωνούσε με τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα [344]. Επιπροσθέτως, ως εσωτερικοί θετικοί μάρτυρες θεωρήθηκαν οστεοβλάστες και οστεοκύτταρα φυσιολογικών οστεοδοκίδων τα οποία εντοπίζονταν στο τοίχωμα των κύστεων [345].

Τομές σμηγματορροϊκής κεράτωσης ,το παρακείμενο υγιές δέρμα των εν λόγω βλαβών και σμηγματογόνοι αδένες αποτέλεσαν ιστούς-θετικούς μάρτυρες για το FOXN1 [335,338]

1.2.3.2 Σύστημα αξιολόγησης ανοσοϊστοχημείας

Η αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης και για τα δύο αντισώματα πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το προτεινόμενο από τους Vered και συν. [51]) ημιποσοτικό σύστημα, με βάση το οποίο αξιολογείται η έκταση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης ως εξής:

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

Η αξιολόγηση έγινε χωριστά για τη βασική στιβάδα και την υπερβασική στιβάδα, η οποία προσδιορίστηκε ως 2-3 στίχοι κυττάρων άνωθεν της βασικής στιβάδας.

Επιλέχθηκαν για ανάλυση θέσεις στις οποίες υπήρχε διατήρηση των ειδικών

χαρακτηριστικών του επιθηλίου κάθε κύστης [1]. Ειδικότερα, στην ΟΚΚ, θέσεις με κυματοειδή παρακερατίνη επιφάνεια και υπερχρωματικούς πασσαλοειδώς διατεταγμένους πυρήνες στη βασική στιβάδα και στην ΟΟΚ διακριτή ορθοκερατίνη και κοκκώδης στιβάδα. Δεν επιλέχθηκε η αξιολόγηση του ποσοστού των κυττάρων για την πλέον επιφανειακή (“luminal”) στιβάδα των κύστεων, καθώς παρατηρήθηκε σε αρκετές περιπτώσεις ΟΟΚ μη ειδική αντίδραση πρωτεϊνικών στοιχείων της κοκκώδους και ορθοκερατίνης στιβάδας με τα προς μελέτη αντισώματα (non-specific cross-reactivity). Το τελικό αποτέλεσμα για την κάθε κύστη προέκυψε από το άθροισμα των επιμέρους αποτελεσμάτων βασικής και υπερβασικής στιβάδας.

Με την ίδια ημιποσοτική μέθοδο έγινε και η αξιολόγηση της έκφρασης της BMP4 στο συνδετικό ιστό [51]. Αξιολογήθηκαν υποεπιθηλιακές περιοχές συνδετικού ιστού, ακριβώς υποκείμενες σε θέσεις όπου το επιθήλιο διατηρούσε τα ειδικά χαρακτηριστικά τα οποία αναφέρθηκαν παραπάνω για κάθε κύστη.

Για την πιο αντικειμενική και ακριβή αξιολόγηση του ποσοστού θετικών κυττάρων σε κάθε περίπτωση, έγινε χρήση του αυτοματοποιημένου προγράμματος ψηφιακής ανάλυσης ImagePro-Plus v6.0.0.260 (Media Cybernetics, Rockville MD, USA), με την διαδικασία η οποία περιγράφεται παρακάτω.

1.2.3.3 Αυτοματοποιημένη αξιολόγηση του ποσοστού θετικών κυττάρων με πρόγραμμα ψηφιακής ανάλυσης εικόνας

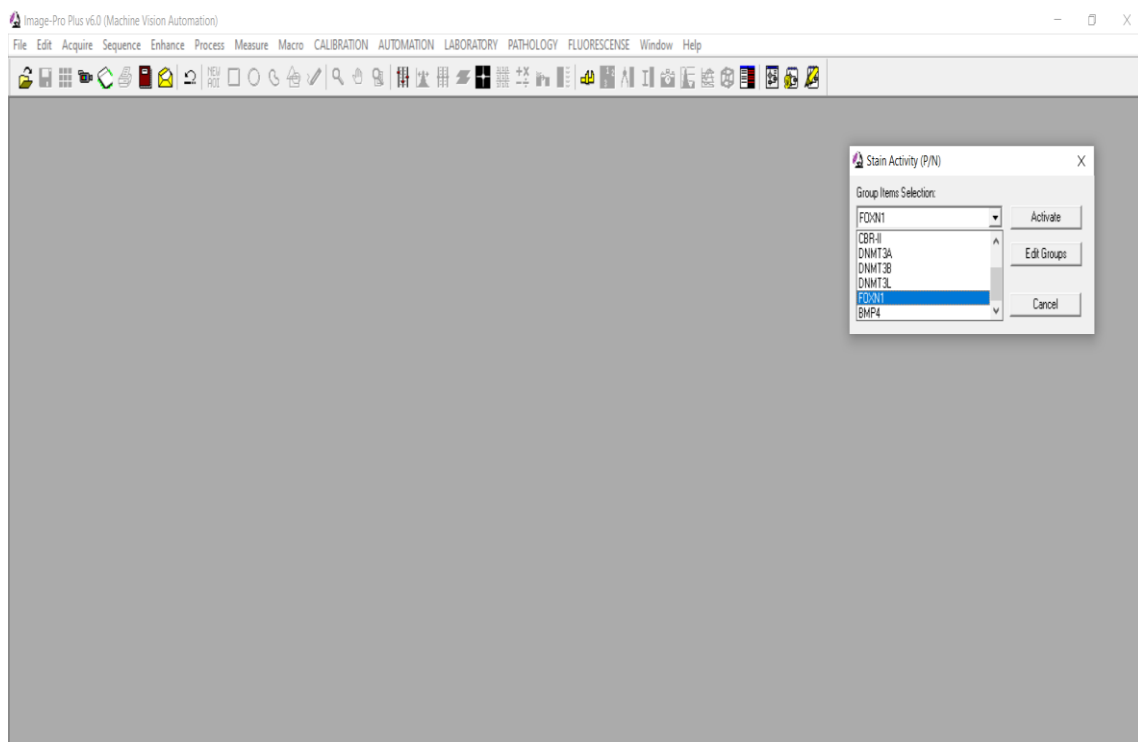
Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε ως εξής:

- Έγινε αρχική επιλογή των 5 περιοχών που αντιστοιχούσαν στις περιοχές εντονότερης ανοσοϊστοχημικής χρώσης (areas of highest immunoreactivity) (346) σε κάθε περίπτωση, τόσο στο επιθήλιο όσο και στο συνδετικό ιστό στην περίπτωση της BMP4, με τη χρήση του οπτικού μικροσκοπίου Olympus CX23LEDRFS2.
- Τουλάχιστον 2 εικόνες από κάθε περιοχή ψηφιοποιήθηκαν και αποθηκεύτηκαν σε μορφή JPEG σε ανάλυση 1920x1200 εικονοστοιχείων. Αυτό έγινε με τη χρήση προσαρμοσμένης στο μικροσκόπιο κάμερας (DC300FLEICA; Germany) και σε μεγέθυνση x400.
- Εφαρμόστηκε σε όλες τις εικόνες ο παρακάτω αυτοματισμός για να είναι επαναλήψιμη και ακριβής η μέτρηση για κάθε αντίσωμα ξεχωριστά, έχοντας ως επίπεδο αναφοράς το αποτέλεσμα της χρώσης των θετικών μαρτύρων. Έτσι, κάθε εικόνα βαθμονομήθηκε:
 - Βάση χρώσης, έτσι ώστε, να εξαλειφθεί ο φωτισμός του Daylight φίλτρου του μικροσκοπίου (Histogram Channel Balance).
 - Βάση φωτεινότητας, έτσι ώστε, όλες οι εικόνες της ίδιας χρώσης να έχουν το ίδιο βάθος χρώματος (Background Correction).
 - Βάση οπτικής πυκνότητας, έτσι ώστε, όλες οι εικόνες της ίδιας χρώσης, να έχουν το ίδιο εύρος πυκνότητας (Optical Density Calibration).

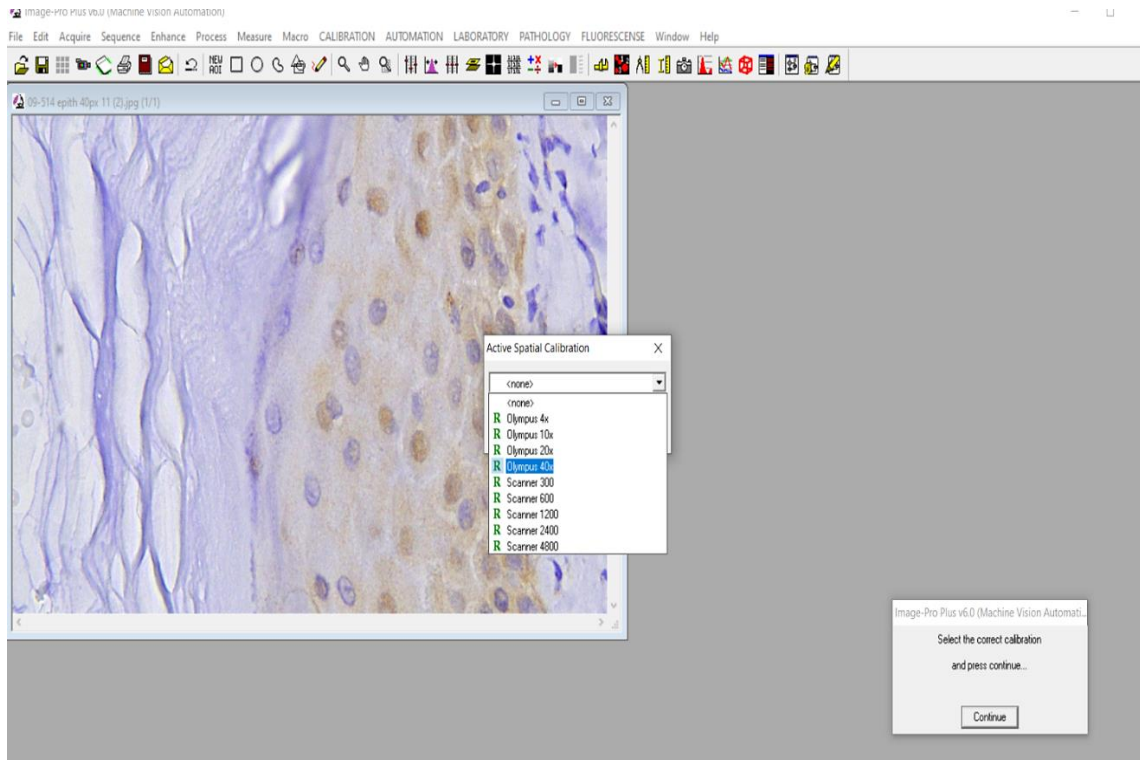
- Βάση αντικειμενικού φακού του μικροσκοπίου που χρησιμοποιήθηκε (με μικρομετρική κλίμακα), έτσι ώστε τα αποτελέσματα των μετρήσεων να έχουν μονάδα μέτρησης microns (Spatial calibration).

Μετά την βαθμονόμηση των παραμέτρων, έγινε χρήση του προγράμματος για μέτρηση των θετικά και αρνητικά χρωσμένων κυττάρων.

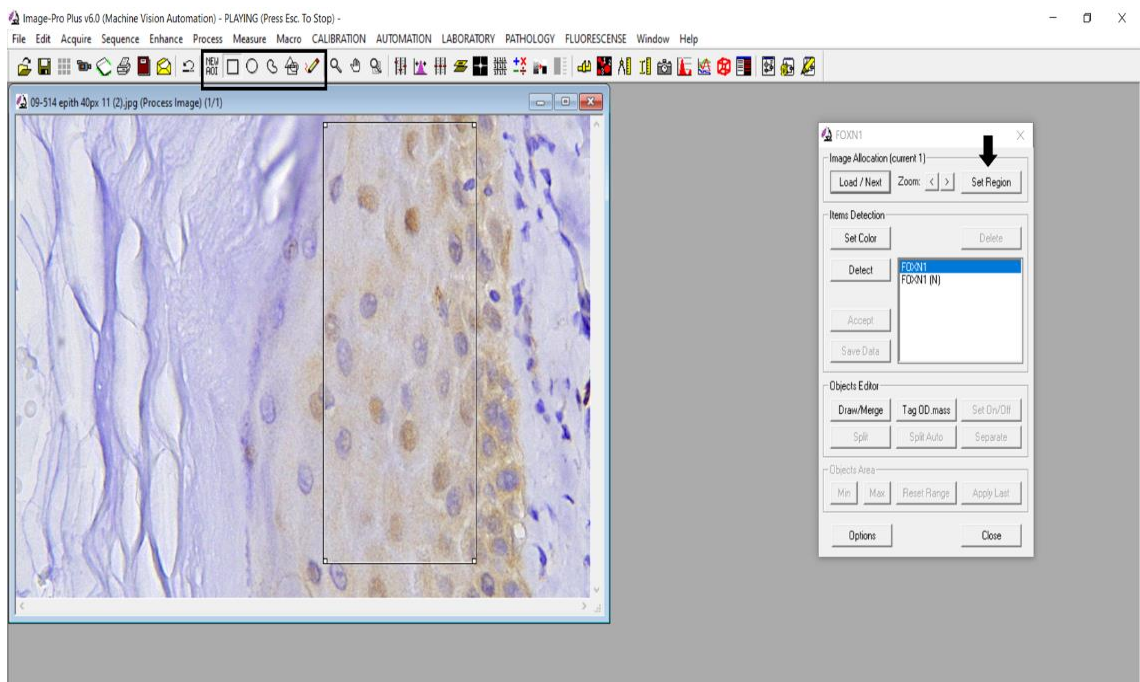
Για καλύτερη κατανόηση, τα βήματα παρουσιάζονται με την παράθεση αντιπροσωπευτικού παραδείγματος-εικόνας:



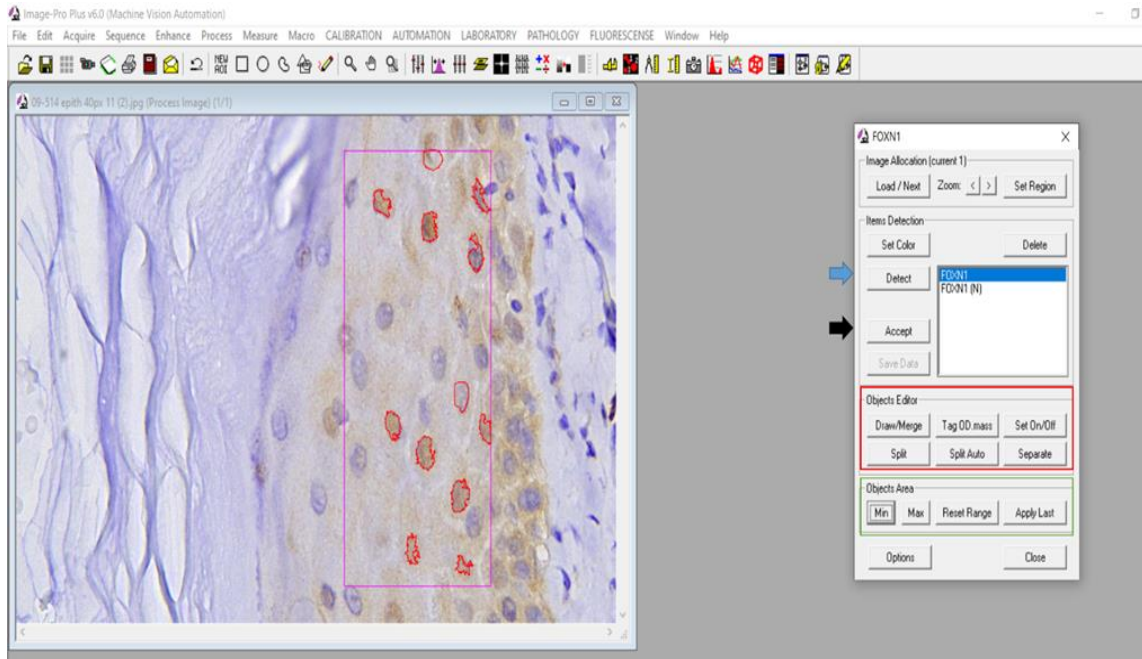
Εικόνα 15: Αρχική επιλογή αντισώματος μέσω του ειδικού πάνελ “**Stain Activity P/N**”. Με την επιλογή του προς μέτρηση αντισώματος φορτώθηκαν στο πρόγραμμα οι βαθμονομημένες τιμές οι οποίες αναφέρονται παραπάνω



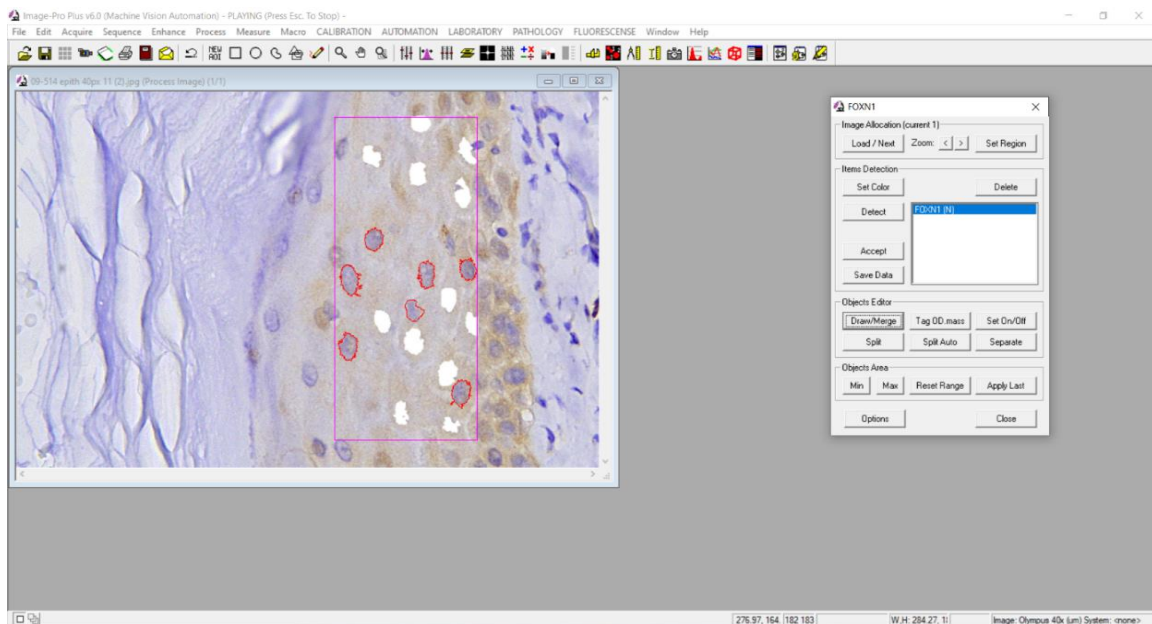
Εικόνα 16: Μεταφόρτωση της προς μέτρηση εικόνας και ορισμός του φακού ο οποίος χρησιμοποιήθηκε για την λήψη της



Εικόνα 17 : Μέσω της μακροεντολής “Set Region” (βέλος) και των ειδικών εργαλείων επιλογής περιοχής ενδιαφέροντος (μαύρο πλαίσιο) επιλέγεται η προς μέτρηση περιοχή, εν προκειμένω η βασική στιβάδα.



Εικόνα 18: Με την επιλογή “**Detect**” (μπλε βέλος) έγινε με αυτοματοποιημένο τρόπο η αρχική επιλογή και σχεδιασμός του περιγράμματος των θετικά χρωσμένων κυττάρων της περιοχής ενδιαφέροντος. Μέσω των μακροεντολών του πλαισίου “**Object Editor**” (κόκκινο πλαίσιο) και “**Objects Area**” (πράσινο πλαίσιο) έγινε επιλογή ή/και παράλειψη κυττάρων που έχουν θεωρηθεί εσφαλμένως, θετικά ή αρνητικά, από τον αρχικό αυτοματοποιημένο έλεγχο. Μετά το τέλος της ανίχνευσης, γίνεται αποδοχή μέσω του πλήκτρου “**Accept**” (μαύρο βέλος)



Εικόνα 19: Έπειτα από την αποδοχή, τα θετικά κύτταρα «εξαφανίζονται» από το πεδίο (“**masking**”) για οπτικοποίηση και ακολουθεί αυτοματοποιημένη μέτρηση των αρνητικών κυττάρων. Μετά το τέλος της ανίχνευσης, γίνεται αποδοχή μέσω του πλήκτρου “**Accept**”

Item Calculations	Ratios				
PERarea (%)	5,4%	Ratio of Total Objects Area to Total Regions Area (percentage)			
OBJnum (1mm)	1099	Calculated Objects Number for a Region Area (equal to 1x1mm)			
Cells Percent Activity					
Cells Counting	Positive	Negative	Total		
Objects (%)	12	7	19		
	63,2%	36,8%			

Εικόνα 20: Μέσω της παραπάνω διαδικασίας υπολογίσθηκε αυτόματα το ποσοστό θετικών και αρνητικών κυττάρων για κάθε περιοχή ενδιαφέροντος για και στις 2 ομάδες. Όλες οι εξαγόμενες μετρήσεις και τα δεδομένα φορτώθηκαν και στάλθηκαν στο πρόγραμμα Microsoft Excel, για περαιτέρω στατιστική ανάλυση. Έγινε αποθήκευση για κάθε ομάδα ξεχωριστά των μετρήσεων και των 2 αντισωμάτων (BMP4, FOXN1) σε ένα συγκεντρωτικό excel

1.3 Στατιστική ανάλυση

Έγινε σύγκριση τόσο του ποσοστού θετικών περιπτώσεων των BMP4,FOXN1 όσο και των ποσοτικών αποτελεσμάτων (σκορ) της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των μορίων ανάμεσα στις 2 ομάδες

Επίσης, πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση πιθανής σχέσης της έκφρασης των 2 μορίων με συγκεκριμένα επιμέρους χαρακτηριστικά σε κάθε κύστη. Συγκεκριμένα:

- Έγινε διχοτόμηση των περιπτώσεων ΟΚΚ ανάλογα με την παρουσία ή όχι επιθηλιακών εκβλαστήσεων, επιθηλιακών νησιδίων και θυγατρικών κύστεων και αξιολογήθηκαν πιθανές διαφορές στην ποιοτική και ποσοτική έκφραση των αντισωμάτων ανάμεσα στις 2 «ομάδες» ΟΚΚ που προέκυψαν

- Έγινε διχοτόμηση των περιπτώσεων ΟΟΚ ανάλογα με την ύπαρξη σχέσης ή όχι με έγκλειστο δόντι και αξιολογήθηκαν πιθανές διαφορές στην ποιοτική και ποσοτική έκφραση των αντισωμάτων ανάμεσα στις 2 «ομάδες» ΟΟΚ που προέκυψαν.

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS V25.0.0 (SPSS Inc., Chicago) για Windows 10. Για τον έλεγχο κανονικότητας των συνεχών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο κανονικότητας Shapiro – Wilk. Επί ύπαρξης κατηγορικών μεταβλητών, χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία Pearson’s Chi-squared (χ^2) για την αξιολόγηση του μέτρου της συσχέτισης τους. Επί ύπαρξης συνεχών ποσοτικών μεταβλητών οι οποίες χωρίζονται σε δύο υποομάδες και ακολουθούν την κανονική κατανομή, χρησιμοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία t-test, ενώ, όταν η κατανομή δεν ήταν κανονική, έγινε χρήση της μη-παραμετρικής δοκιμασίας Mann – Whitney U – test (2-tailed). Επί ύπαρξης συνεχών ποσοτικών μεταβλητών οι οποίες χωρίζονται σε 3 υποομάδες και δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία Kruskal – Wallis. Για την αξιολόγηση της γραμμικής συσχέτισης συνεχών ποσοτικών μεταβλητών σε μη κανονική κατανομή και απόλυτη μονοτονική σχέση έγινε χρήση του γραμμικού συντελεστή συσχέτισης Spearman’s rho, με ακραίες τιμές -1 έως +1. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας για όλες τις στατιστικές δοκιμασίες ορίστηκε στο $p < 0.05$.

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.1 Τελικό δείγμα μελέτης

Το τελικό δείγμα της μελέτης συμπεριελάμβανε 20 περιπτώσεις με ιστοπαθολογική διάγνωση ΟΚΚ και το σύνολο (N=16) των περιπτώσεων με διάγνωση ΟΟΚ στο διάστημα 2000-2018. Στους πίνακες 3&4 αναγράφονται τα δημογραφικά στοιχεία των επιλεγθεισών περιπτώσεων ΟΚΚ και ΟΟΚ, αντίστοιχα, καθώς και η αναφερόμενη σχέση των βλαβών με έγκλειστο δόντι.

2.1.1 Δημογραφικά και κλινικά στοιχεία δείγματος ΟΚΚ

Στον πίνακα 3 παρουσιάζονται τα κύρια δημογραφικά και κλινικά στοιχεία των 20 περιπτώσεων ΟΚΚ του δείγματος.

Πίνακας 3: Δημογραφικά και κλινικά στοιχεία σε 20 περιπτώσεις ΟΚΚ

Περίπτωση	Φύλο	Ηλικία	Εντόπιση	Περιοχή	Σχέση με έγκλειστο δόντι
1	Άρρεν	50	Ανω γνάθος	Γομφίων	Όχι
2	Θήλυ	50	Ανω γνάθος	Προσθίων- Προγομφίων	Όχι
3	Άρρεν	37	Κάτω γνάθος	Γομφίων	3ος Γομφίος
4	Άρρεν	42	Κάτω γνάθος	Προγομφίων	Όχι
5	Θήλυ	38	Κάτω γνάθος	Γομφίων	3ος Γομφίος
6	Άρρεν	81	Κάτω γνάθος	Προσθίων	Όχι
7	Θήλυ	46	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι
8	Θήλυ	52	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι
9	Άρρεν	45	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι

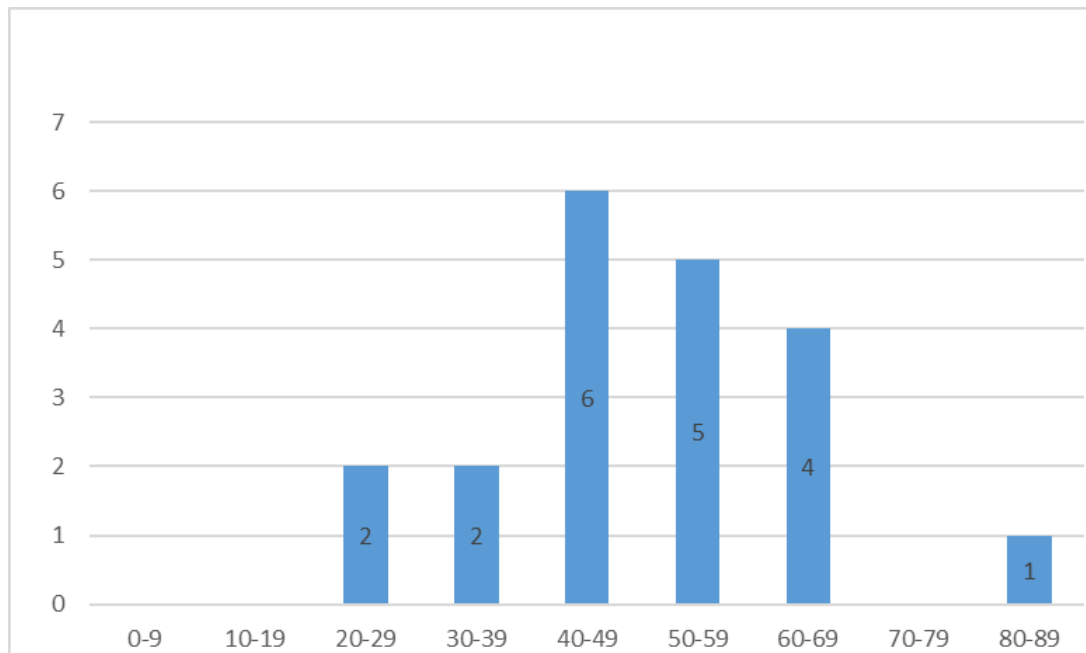
10	Άρρεν	65	Άνω γνάθος	Προγομφίων	Όχι
11	Θήλυ	25	Κάτω γνάθος	Γομφίων	3ος Γομφίος
12	Θήλυ	46	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι
13	Άρρεν	67	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι
14	Άρρεν	58	Άνω γνάθος	Γομφίων	Όχι
15	Θήλυ	48	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι
16	Θήλυ	24	Άνω γνάθος	Γομφίων	3ος Γομφίος
17	Θήλυ	49	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι
18	Άρρεν	68	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι
19	Άρρεν	62	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι
20	Άρρεν	50	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι

Στις περιπτώσεις ΟΚΚ, υπήρχε μικρή υπεροχή του ανδρικού φύλου με 11 βλάβες σε άνδρες έναντι 9 σε γυναίκες (Α:Γ=1,22). Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν τα 50,15±14,05 έτη (εύρος: 24-81 έτη, διάμεση ηλικία: 49,5 έτη). Η μέση ηλικία των ανδρών ήταν τα 56,82±13,24 έτη (εύρος: 37-81 έτη, διάμεση ηλικία: 58 έτη) και των γυναικών τα 42±10,7 έτη (εύρος: 24-52 έτη, διάμεση ηλικία: 46 έτη). Τέλος, η συχνότερη δεκαετία προσβολής ήταν η 5^η (40-49) με 6 περιπτώσεις (Γράφημα 1).

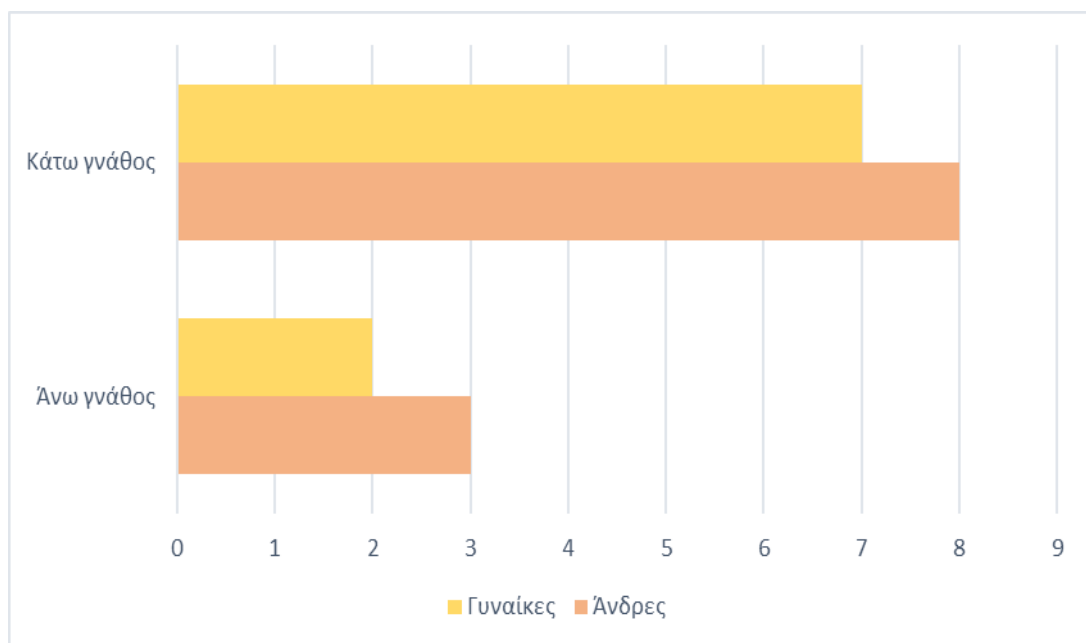
Στο 75% των περιπτώσεων ΟΚΚ υπήρχε προσβολή της κάτω γνάθου (15/20) ενώ 13/15 βλάβες στην κάτω γνάθο εντοπιζόνταν στην περιοχή των γομφίων ή/και οπισθίως αυτών. Τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες, η γνάθος με τη συχνότερη προσβολή ήταν η κάτω με ποσοστά 73% και 78%, αντίστοιχα (Γράφημα 2) .

Σύμφωνα με τα δεδομένα των παραπεμπτικών ιστολογικής εξέτασης, 4 βλάβες (3 σε γυναίκες και 1 σε άνδρα) είχαν συσχέτιση με έγκλειστο δόντι το οποίο ήταν σε όλες τις περιπτώσεις 3^{ος} γομφίος. Κοινό χαρακτηριστικό και των 4 περιπτώσεων ήταν η

νεαρή ηλικία (μέση ηλικία: $31 \pm 6,5$ έτη), ενώ 3 βλάβες είχαν εντόπιση στην κάτω γνάθο και μια στην άνω.



Γράφημα 1: Κατανομή ανά ηλικιακή δεκαετία προσβολής σε 20 περιπτώσεις ΟΚΚ



Γράφημα 2: Κατανομή ανά εντόπιση και φύλο σε 20 περιπτώσεις ΟΚΚ

2.1.2 Δημογραφικά και κλινικά στοιχεία δείγματος ΟΟΚ

Στον πίνακα 4 παρουσιάζονται τα κύρια δημογραφικά και κλινικά στοιχεία των 16 περιπτώσεων ΟΟΚ του δείγματος.

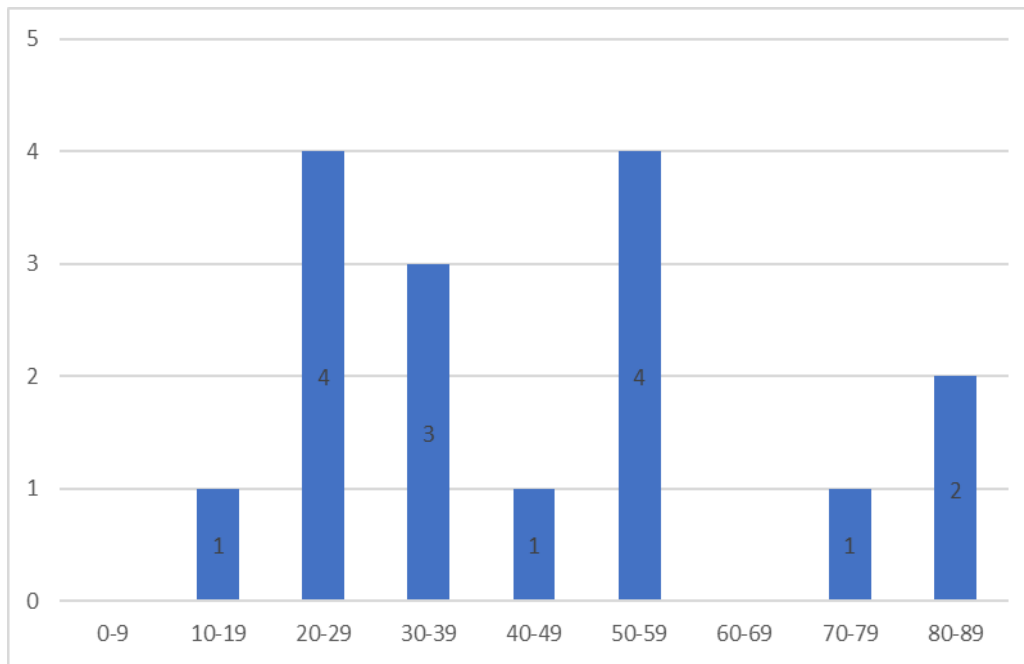
Πίνακας 4: Δημογραφικά και κλινικά στοιχεία 16 περιπτώσεων ΟΟΚ

Περίπτωση	Φύλο	Ηλικία	Εντόπιση	Υποεντόπιση	Σχέση με έγκλειστο δόντι
1	Άρρεν	80	Άνω γνάθος	Πρόσθιων- Προγομφίων	Όχι
2	Άρρεν	12	Κάτω γνάθος	Προγομφίων- Γομφίων	Όχι
3	Άρρεν	81	Άνω γνάθος	Προγομφίων- Γομφίων	Όχι
4	Άρρεν	56	Κάτω γνάθος	Γομφίων	3ος Γομφίος
5	Άρρεν	58	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι
6	Άρρεν	33	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι
7	Άρρεν	57	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι
8	Άρρεν	72	Άνω γνάθος	Γομφίων	3ος Γομφίος
9	Άρρεν	29	Άνω γνάθος	Γομφίων	3ος Γομφίος
10	Άρρεν	45	Κάτω γνάθος	Γομφίων	3ος Γομφίος
11	Θήλυ	20	Άνω γνάθος	Γομφίων	3ος Γομφίος
12	Άρρεν	35	Άνω γνάθος	Προσθίων	Κυνόδοντας
13	Άρρεν	58	Κάτω γνάθος	Γομφίων	3ος Γομφίος
14	Άρρεν	28	Κάτω γνάθος	Γομφίων	Όχι
15	Άρρεν	25	Κάτω γνάθος	Προγομφίων	Προγόμενιος
16	Άρρεν	38	Κάτω γνάθος	Γομφίων	3ος Γομφίος

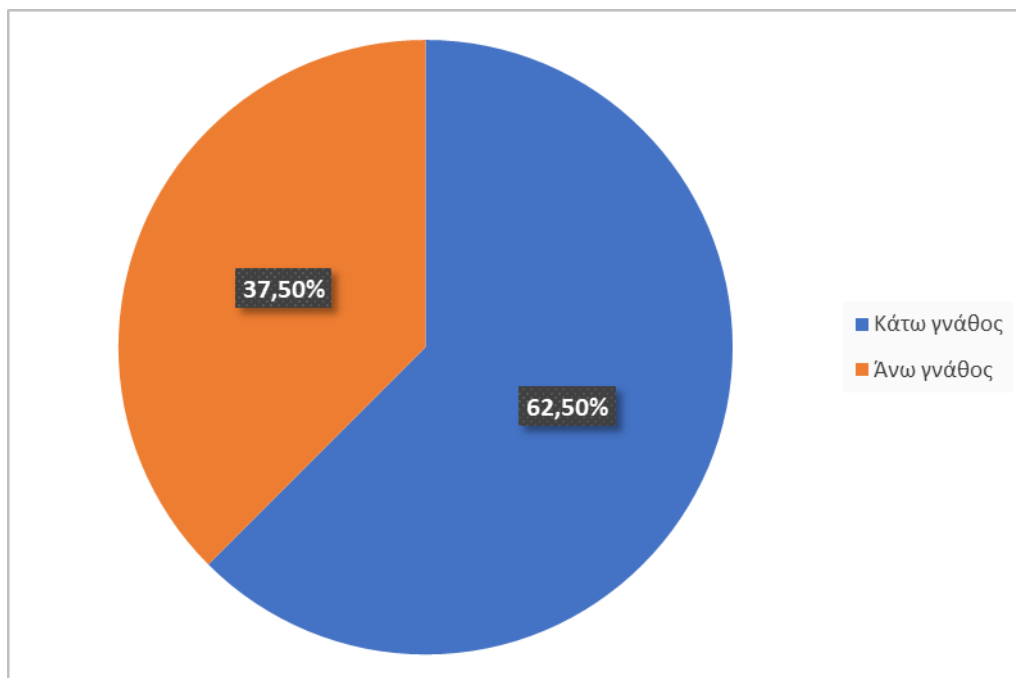
Στις 16 περιπτώσεις ΟΟΚ, υπήρχε σαφής υπεροχή του ανδρικού φύλου με 15 περιπτώσεις έναντι μιας περίπτωσης προσβολής θήλεος. Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν τα $45,4 \pm 21,3$ έτη (εύρος: 12-81 έτη, διάμεσος: 41,5 έτη). Όσον αφορά στη συχνότερη δεκαετία προσβολής είχαμε 4 περιπτώσεις στην 3^η και στη 6^η δεκαετία (Γράφημα 3)

Η κάτω γνάθος αποτελούσε τη θέση προσβολής σε 10/16 περιπτώσεις (62,5%), με 6 περιπτώσεις να εντοπίζονται στην άνω γνάθο (Γράφημα 4). Η περιοχή γομφίων-γωνίας-κλάδου εμπλεκόταν σε 8 από τις 10 περιπτώσεις που εντοπιζόνταν στην κάτω γνάθο, ενώ στην άνω γνάθο 2 περιπτώσεις βρισκόταν στην περιοχή των γομφίων, 2 στην περιοχή των προγομφίων με επέκταση προς τους γομφίους, 1 στην περιοχή των προσθίων και 1 στην περιοχή των προσθίων με επέκταση προς την περιοχή των προγομφίων.

Τέλος, 9/16 περιπτώσεις (56,25%) συσχετίστηκαν με έγκλειστο δόντι, 5 στην κάτω και 4 στην άνω γνάθο. Συγκεκριμένα σε 7 βλάβες (4 στην κάτω και 3 στην άνω γνάθο) αναφέρθηκε συσχέτιση με έγκλειστους 3^{ους} γομφίους, σε μια βλάβη, στην άνω γνάθο, συσχέτιση με έγκλειστο κυνόδοντα, ενώ σε μια βλάβη η οποία εντοπιζόταν στην κάτω γνάθο, υπήρχε σχέση με έγκλειστο προγόμφιο. Η μέση ηλικία των ασθενών με ΟΟΚ και έγκλειστο δόντι ήταν τα $42 \pm 17,20$ έτη (εύρος: 20-52 έτη, διάμεσος: 38 έτη) ενώ των ασθενών με ΟΟΚ χωρίς σχέση με έγκλειστο δόντι ήταν τα 49,6 έτη (εύρος: 12-81 έτη, διάμεσος: 33 έτη)



Γράφημα 3: Κατανομή ανά ηλικιακή δεκαετία προσβολής σε 16 περιπτώσεις ΟΟΚ

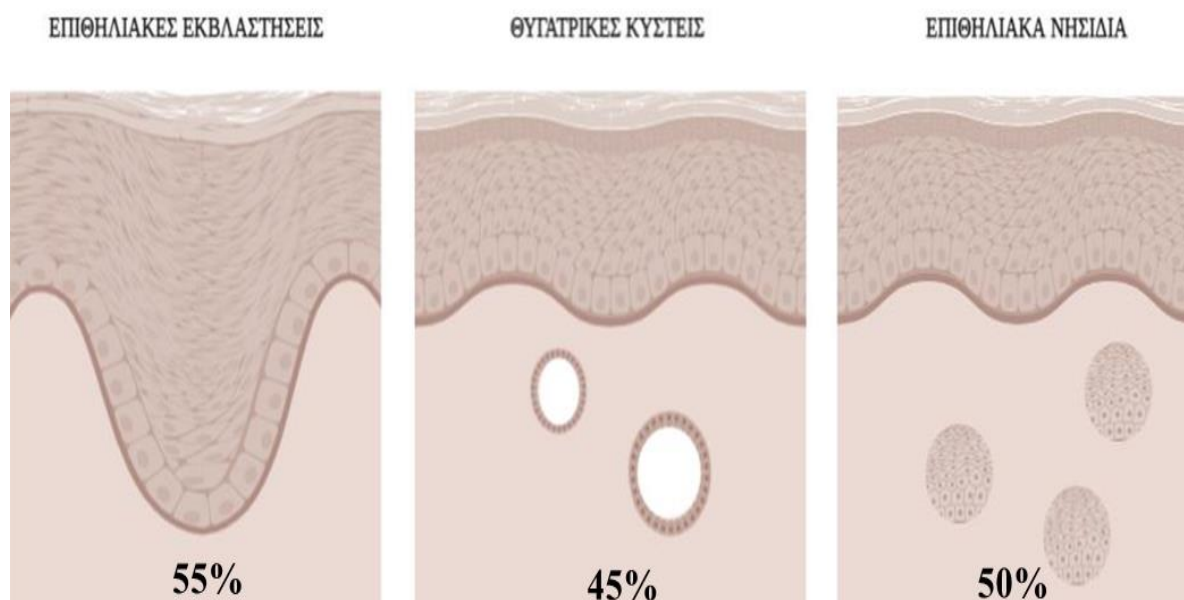


Γράφημα 4: Κατανομή ανά εντόπιση σε 16 περιπτώσεις ΟΟΚ

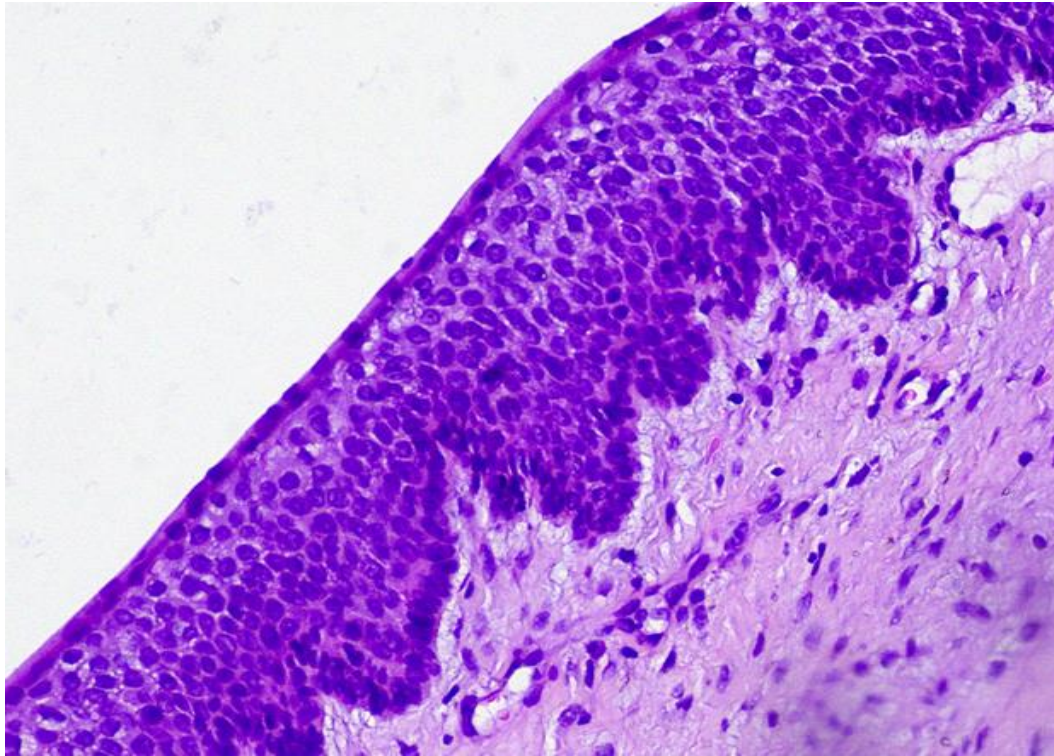
2.1.3 Ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά ΟΚΚ και ΟΟΚ

Στην Εικόνα 21 παρουσιάζονται τα ποσοστά εμφάνισης των ιστολογικών παραμέτρων οι οποίες έχουν συσχετισθεί με υποτροπή στις ΟΚΚ [68,84,133].

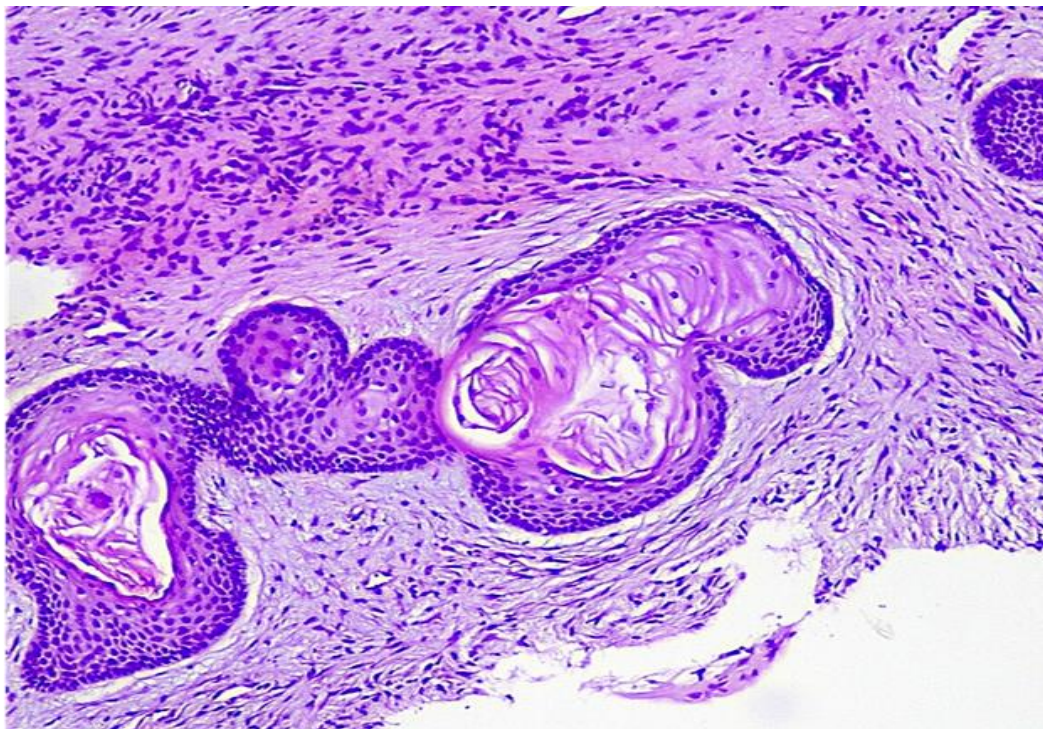
Συγκεκριμένα, η παρουσία επιθηλιακών εκβλαστήσεων (Εικόνα 22) ήταν η συχνότερα παρατηρούμενη παράμετρος (55%) ενώ η ύπαρξη θυγατρικών κύστεων (Εικόνα 23) και επιθηλιακών νησιδίων στο συνδετικό ιστό παρατηρήθηκε σε 45% και 50%, αντίστοιχα.



Εικόνα 21: Ποσοστά εμφάνισης ιστολογικών παραμέτρων η παρουσία των οποίων έχει συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής, σύμφωνα με τους Cunha και συν. [84] και Myoung και συν. [133], στο δείγμα ΟΚΚ

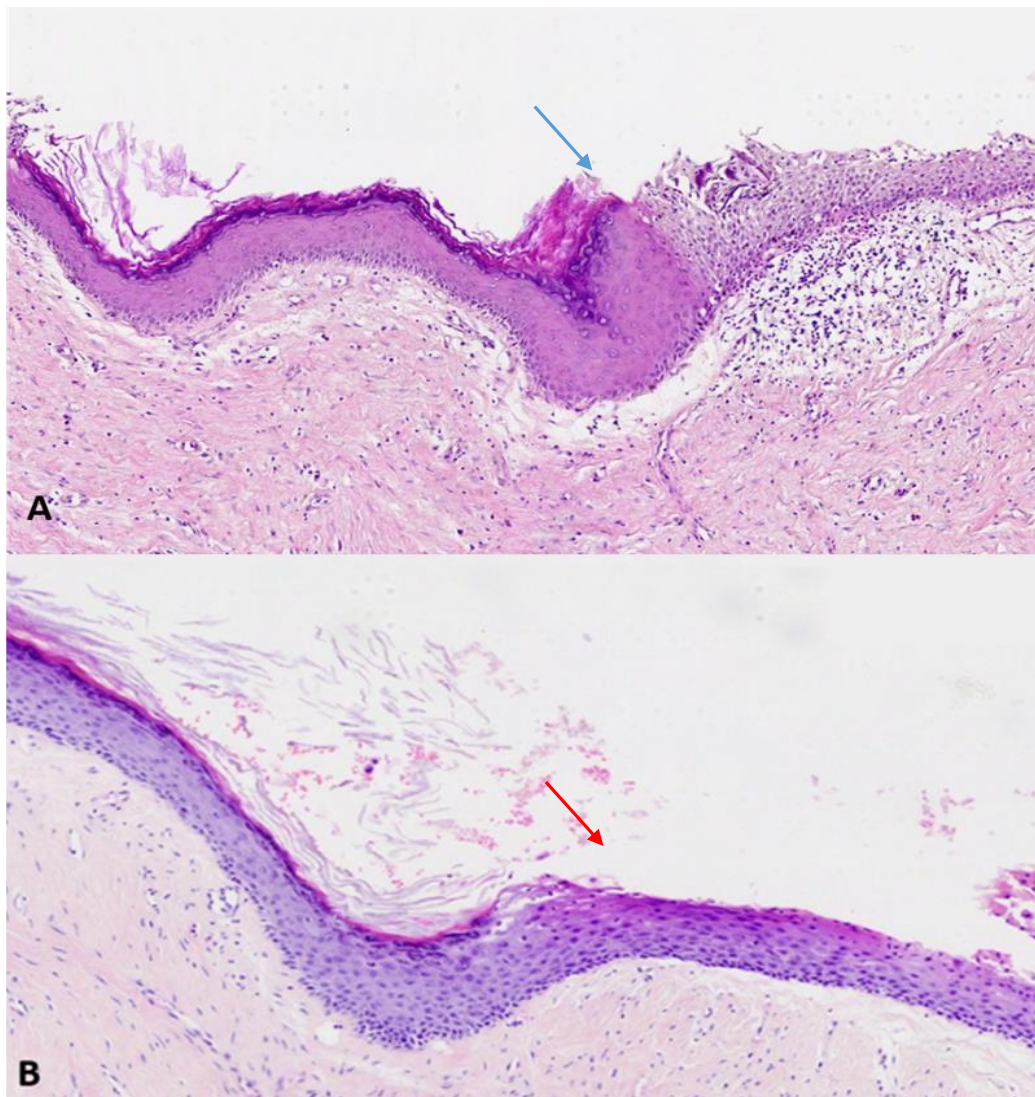


*Εικόνα 22: Περίπτωση ΟΚΚ: επιθηλιακές εκβλαστήσεις
(χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης x200)*



*Εικόνα 23: Περίπτωση ΟΚΚ: επιθηλιακά νησίδια με σχηματισμό θυγατρικών κύστεων
(χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, x100)*

Όσον αφορά στις ΟΟΚ, η πλειοψηφία (10/16) εμφάνιζε, έστω και εστιακά, παρουσία άλλου τύπου επιθηλίου πέραν του ορθοκερατινοποιημένου: μη κερατινοποιημένου (Εικόνα 24A) σε 6 περιπτώσεις και παρακερατινοποιημένου σε 4 περιπτώσεις (Εικόνα 24B). Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι στις 8 από τις 9 περιπτώσεις κατά τις οποίες η ΟΟΚ συσχετιζόταν με έγκλειστο δόντι υπήρχε, έστω και εστιακά, παρουσία άλλου τύπου επιθηλίου.

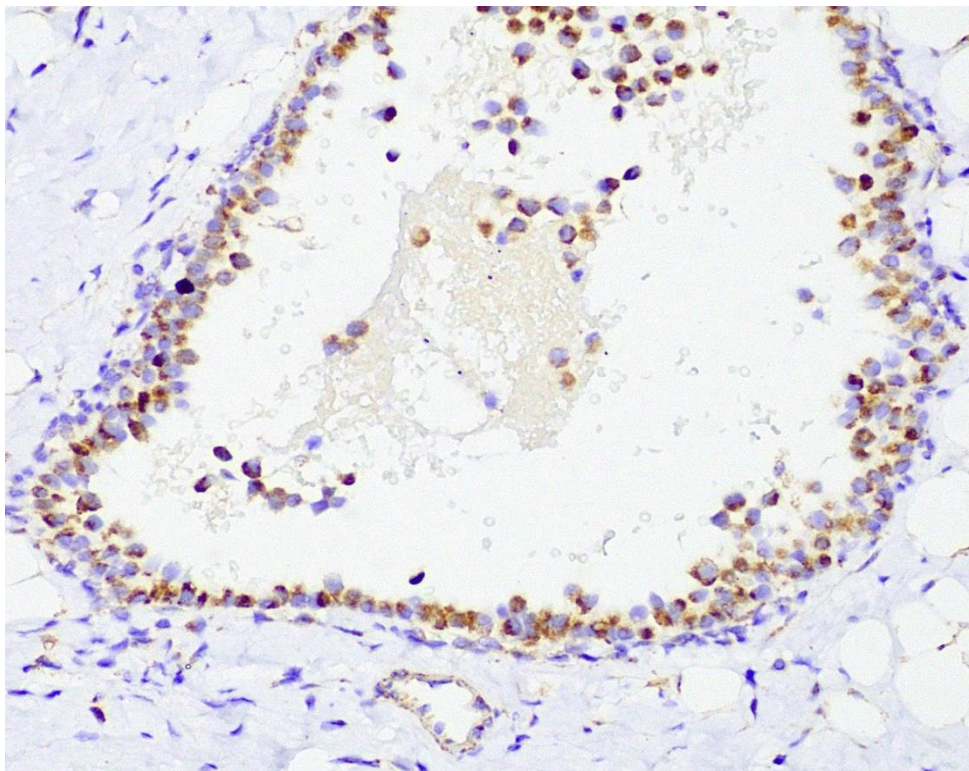


Εικόνα 24: Περίπτωση ΟΟΚ: εστιακή «μετάβαση» από το ορθοκερατινοποιημένο επιθήλιο σε **A**) μη κερατινοποιημένο (μπλε βέλος) και **B**) παρακερατινοποιημένο επιθήλιο (κόκκινο βέλος) (χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης x100)

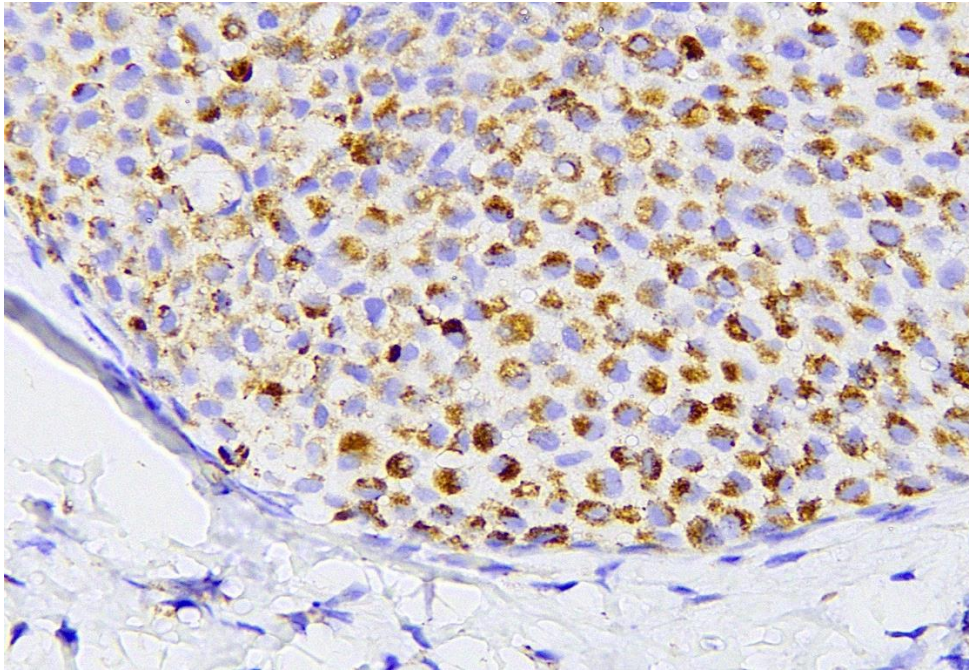
2.2 Ανοσοϊστοχημική έκφραση BMP4

2.2.1 Ανοσοϊστοχημική έκφραση BMP4 σε ιστό-θετικό μάρτυρα

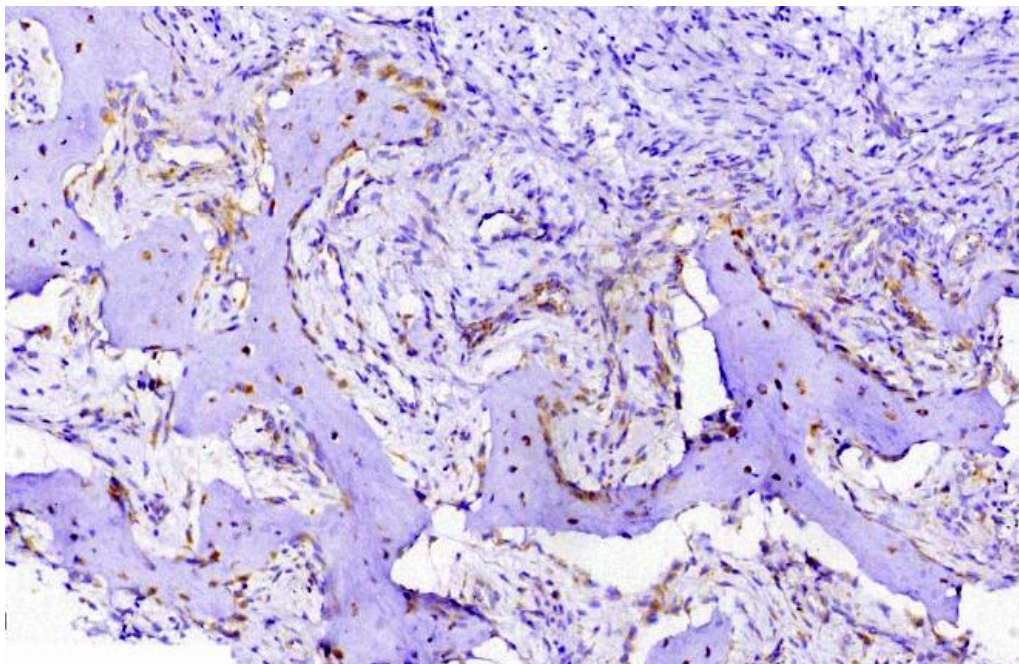
Η έκφραση της BMP4 στο πορογενές καρκίνωμα του μαστού το οποίο αποτέλεσε τον ιστό-θετικό μάρτυρα (Εικόνες 25,26) ήταν έντονη κυτταροπλασματική με εντόπιση στα ενδοπορικά νεοπλασματικά κύτταρα αλλά και σε διηθητικές βλάστες και χορδές, ενώ ασθενής χρώση παρατηρήθηκε σε ενδοθηλιακά κύτταρα. Επίσης, στις περιπτώσεις ΟΚΚ/ ΟΟΚ στις οποίες είχαν συναφαιρεθεί οστεοδοκίδες παρατηρήθηκε ασθενής κυτταροπλασματική χρώση σε οστεοβλάστες και οστεοκύτταρα, αποτελώντας έναν εσωτερικό θετικό μάρτυρα της BMP4. (Εικόνα 27)



Εικόνα 25: Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4-Πορογενές καρκίνωμα του μαστού (θετικός μάρτυρας). Έντονη, θετική (καφέ χρώμα) κυτταροπλασματική χρώση σε νεοπλασματικά κύτταρα πόρων (x200)



***Εικόνα 26:** Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε πορογενές καρκίνωμα του μαστού (θετικός μάρτυρας). Έντονη, θετική (καφέ χρώμα) κυτταροπλασματική χρώση σε βλάστες νεοπλασματικών κυττάρων (x400)*

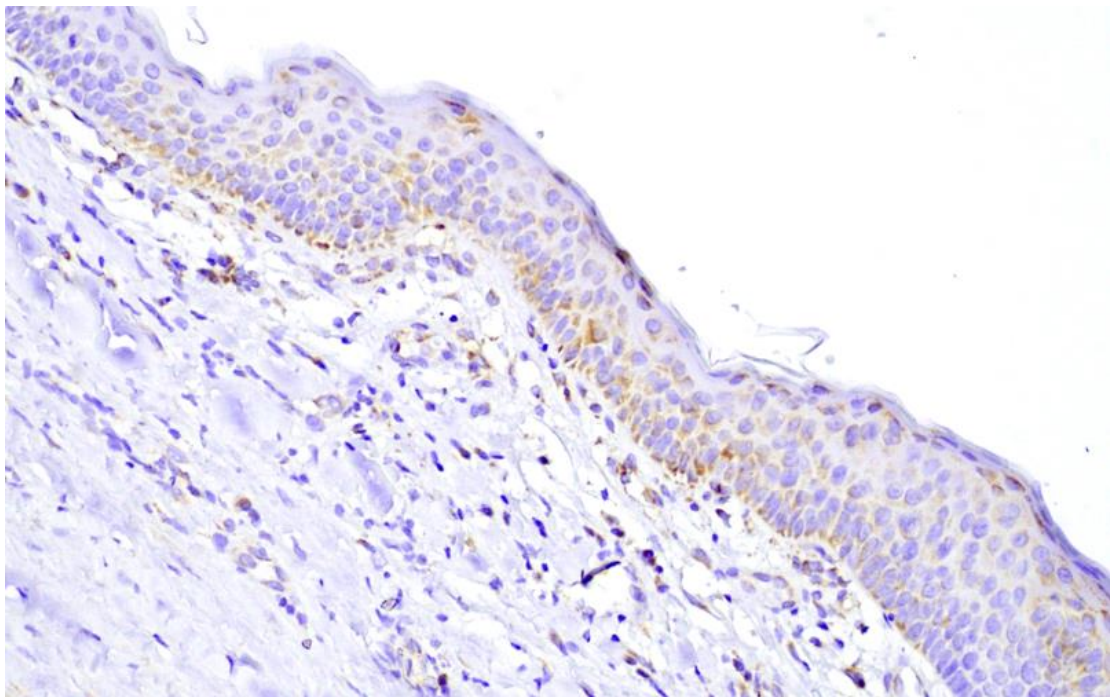


***Εικόνα 27:** Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε οστεοδοκίδες από περίπτωση ΟΚΚ-Μέτριας έντασης, θετική (καφέ χρώμα) κυτταροπλασματική χρώση σε οστεοβλάστες και οστεοκύτταρα (x200)*

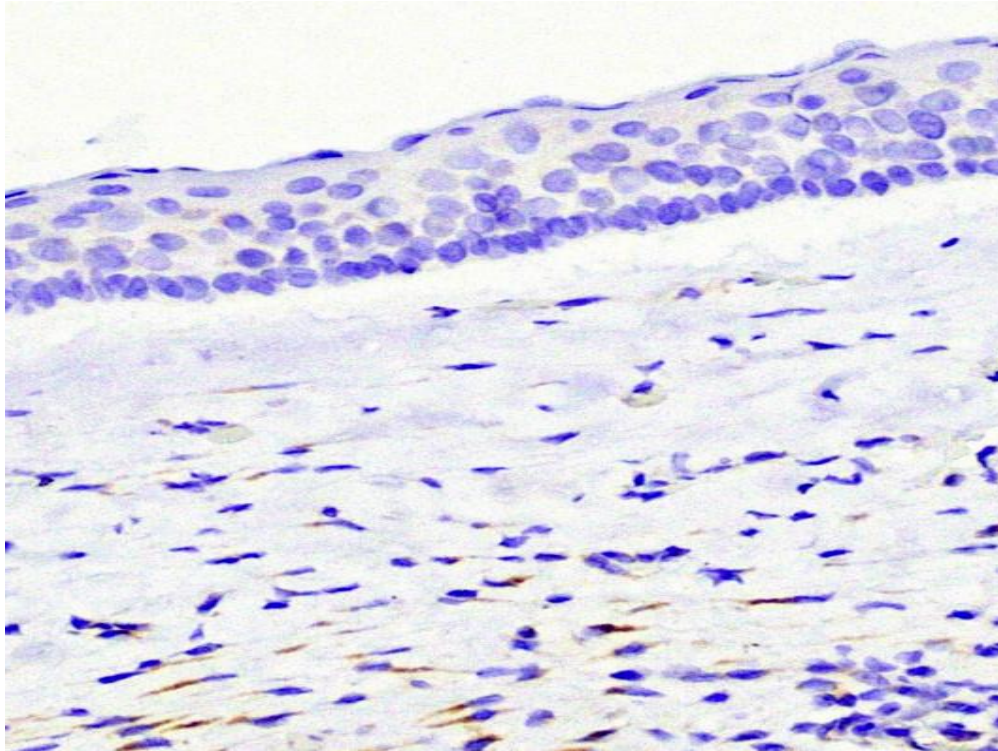
2.2.2 Ανοσοϊστοχημική έκφραση BMP4 σε ΟΚΚ

2.2.2.1 Έκφραση στο επιθήλιο

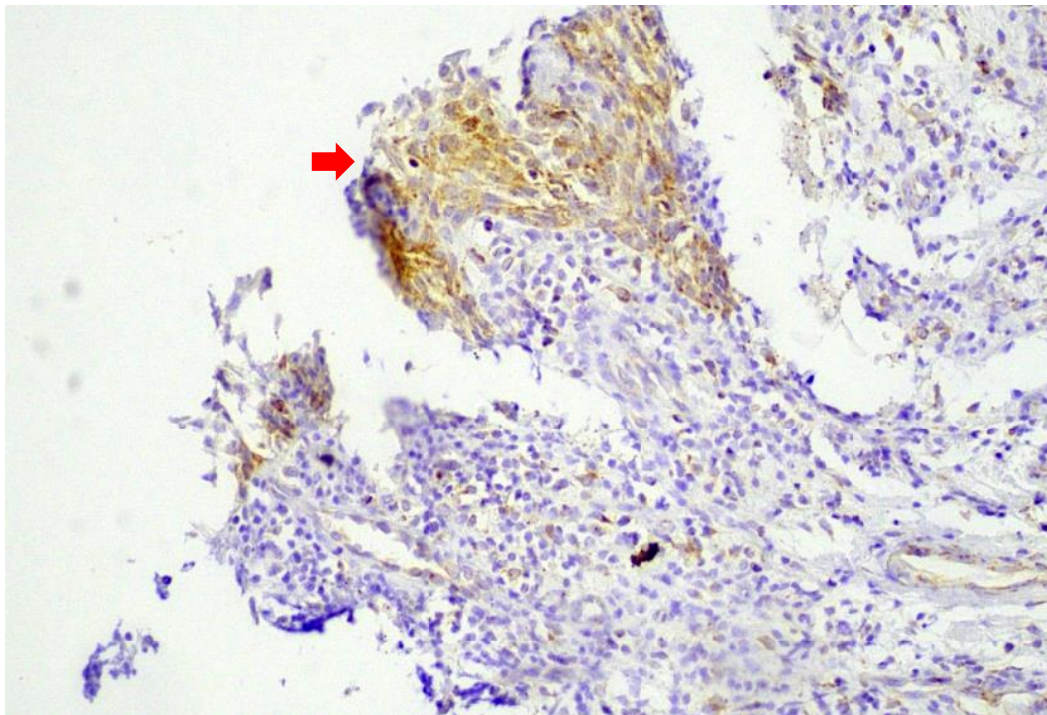
Διάχυτη, κυτταροπλασματική έκφραση BMP4 παρατηρήθηκε στο επιθήλιο 7/20 (35%) ΟΚΚ (Εικόνες 28, 29). Σε όλες τις περιπτώσεις, η έκφραση της πρωτεΐνης ήταν ασθενής. Η χρώση εντοπιζόταν σε 6/7 περιπτώσεις τόσο στη βασική όσο και την υπερβασική στιβάδα, ενώ σε 1 περίπτωση είχαμε θετική χρώση μόνο στη βασική στιβάδα. Επίσης, παρατηρήθηκε διάχυτη χρώση σε περιοχές φλεγμονώδους διήθησης και θέσεις στις οποίες το επιθήλιο είχε απωλέσει τα χαρακτηριστικά της ΟΚΚ με ταυτόχρονη μετάπτωση σε μη-κερατινοποιημένο επιθήλιο (Εικόνα 30).



***Εικόνα 28:** Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε ΟΚΚ. Παρατηρείται κυτταροπλασματική χρώση (καφέ χρώμα) σε περισσότερα του 50% των κυττάρων (σκορ 3) της βασικής στιβάδας και μεταξύ 10% και 50% των κυττάρων της υπερβασικής (σκορ 2) (x200)*



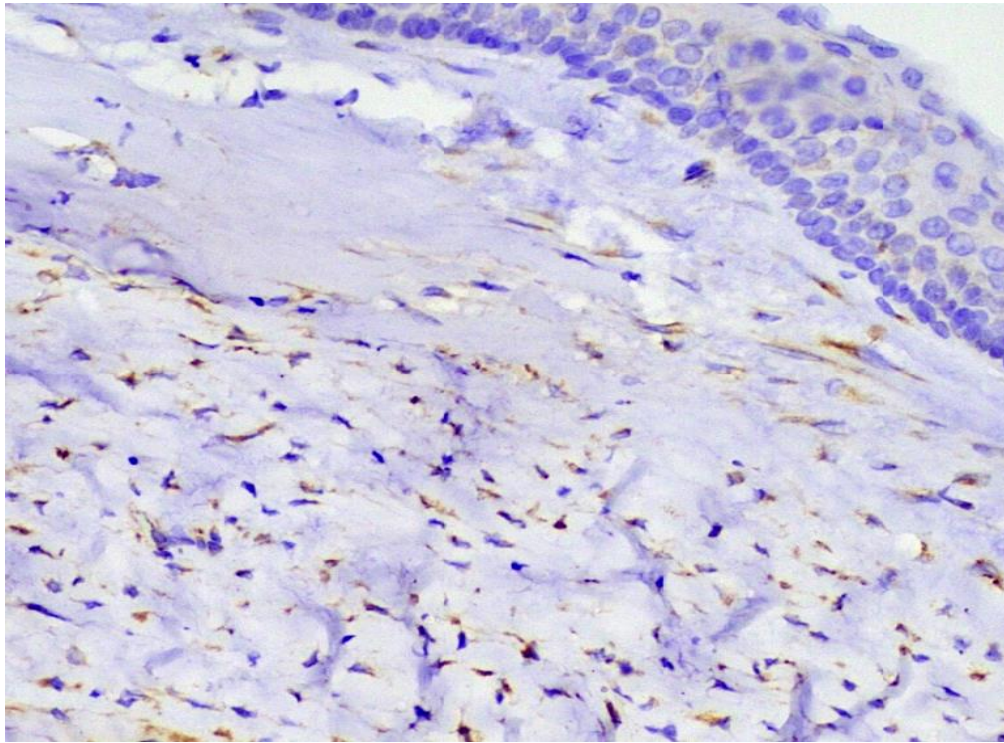
Εικόνα 29: Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε OKK. Δεν παρατηρείται θετική (καφέ χρώμα) χρώση στο επιθήλιο της κύστης, παρά μόνο σε διάσπαρτα κύτταρα του συνδετικού ιστού. (x200)



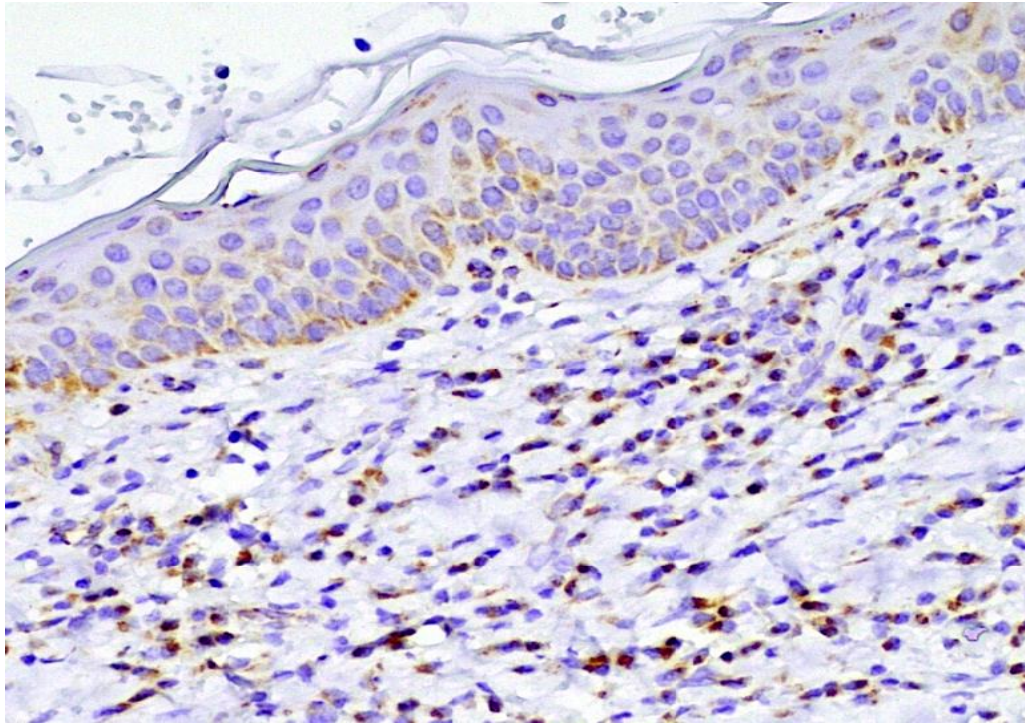
Εικόνα 30: Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε OKK. Κυτταροπλασματική χρώση (καφέ χρώμα) σε θέση μη-κερατινοποιημένου επιθηλίου (κόκκινο βέλος) (x200)

2.2.2.2 Έκφραση στο συνδετικό ιστό

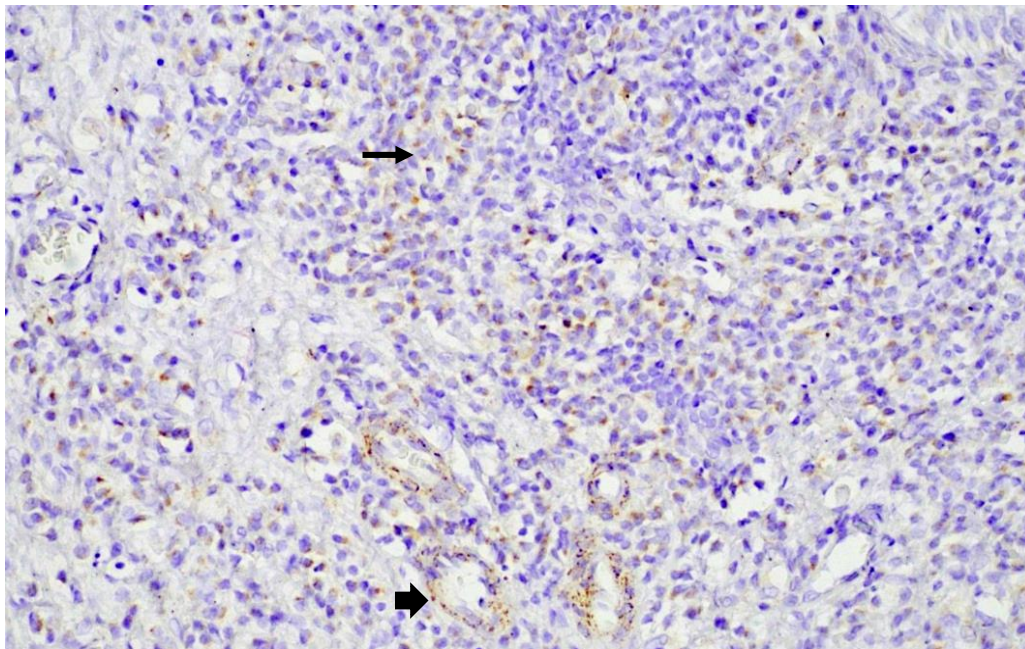
Η BMP4 εκφραζόταν στο συνδετικό ιστό σε 13/20 (65%) ΟΚΚ. Παρατηρήθηκε χρώση ατρακτοειδών κυττάρων του μεσεγχύματος, συμβατών με ινοβλάστες (Εικόνα 31) αλλά, ως επί το πλείστον, σε διάσπαρτα φλεγμονώδη και ενδοθηλιακά κύτταρα (Εικόνα 32,33) . Σε όλες τις περιπτώσεις η χρώση ήταν κυτταροπλασματική.



Εικόνα 31: Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε ΟΚΚ. Θετική (καφέ χρώμα) κυτταροπλασματική χρώση σε ατρακτοειδή κύτταρα μεσεγχύματος (Σκορ 3) (x200)



Εικόνα 32: Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε OKK. Θετική κυτταροπλασματική χρώση (καφέ χρώμα) σε φλεγμονώδη κύτταρα-υποεπιθηλιακή εντόπιση (Σκορ 3) (x400)

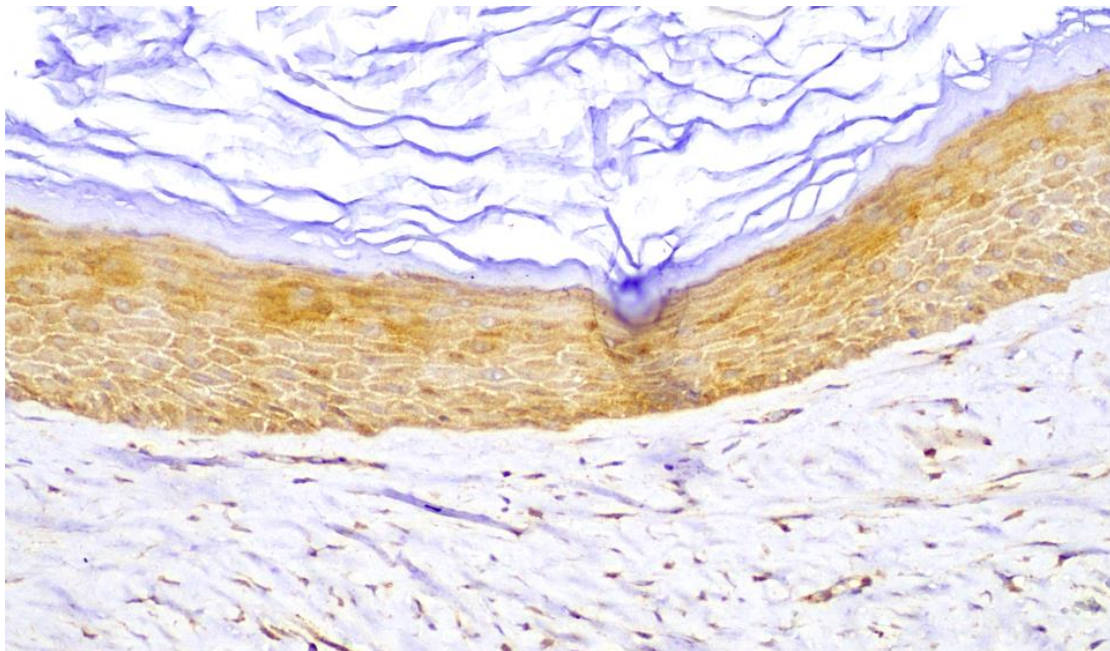


Εικόνα 33: Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε OKK. Ασθενής θετική κυτταροπλασματική χρώση (καφέ χρώμα) BMP4 σε διάσπαρτα κύτταρα χρόνιας φλεγμονής σε βαθύτερες θέσεις του συνδετικού ιστού OKK (λεπτό βέλος) και ασθενής στικτή χρώση σε ενδοθηλιακά κύτταρα (παχύ βέλος) (x200)

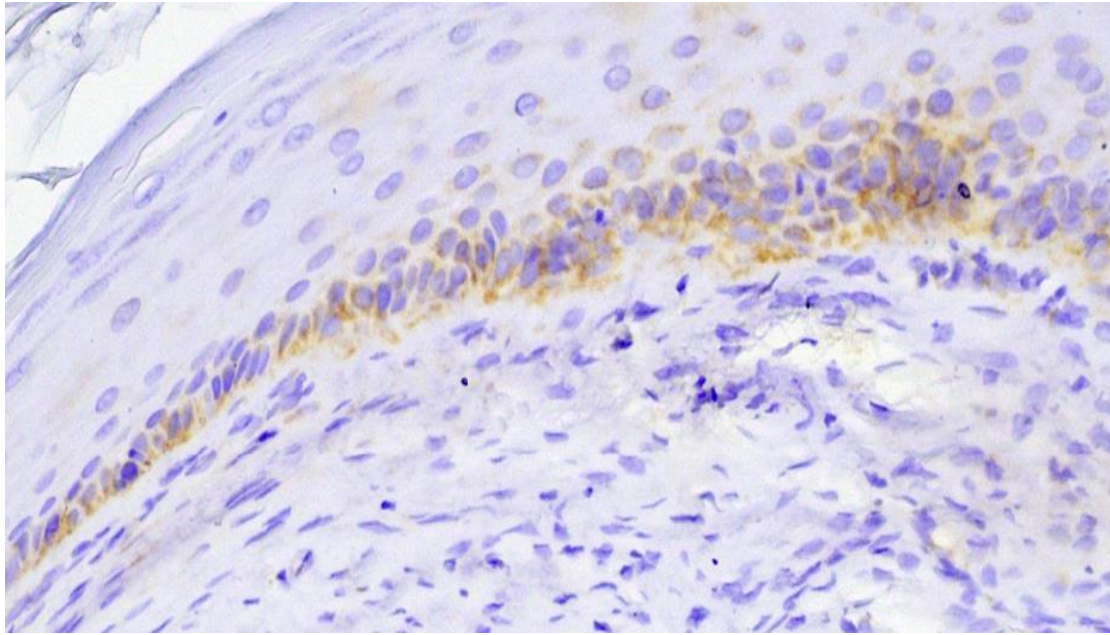
2.2.3 Ανοσοϊστοχημική έκφραση BMP4 σε ΟΟΚ

2.2.3.1 Έκφραση στο επιθήλιο

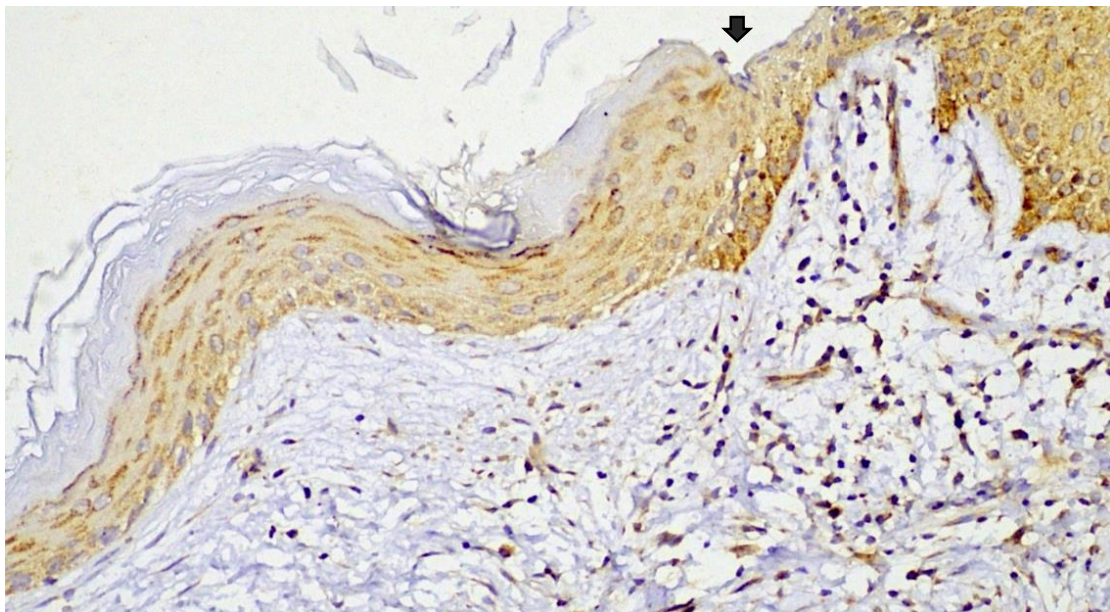
Θετική κυτταροπλασματική χρώση BMP4 στο επιθήλιο παρατηρήθηκε σε 13/16 (81,25%) περιπτώσεις ΟΟΚ (Εικόνες 34-36). Σε 11/13 περιπτώσεις η χρώση ήταν ασθενής και σε 2 ασθενούς προς μέτριας έντασης. Στην πλειοψηφία των θετικών περιπτώσεων (12/13=92,3%) υπήρχε χρώση τόσο στην βασική όσο και στην υπερβασική στιβάδα ενώ σε μια περίπτωση η χρώση εντοπιζόταν αποκλειστικά στη βασική. Όπως και στην ΟΚΚ, παρατηρήθηκε χρώση σε περιοχές μη-κερατινοποιημένου επιθηλίου (Εικόνα 36).



Εικόνα 34: Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε ΟΟΚ. Παρατηρείται διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση (καφέ χρώμα) σε όλο το πάχος του επιθηλίου (Σκορ 3 για κάθε στιβάδα)(x200)



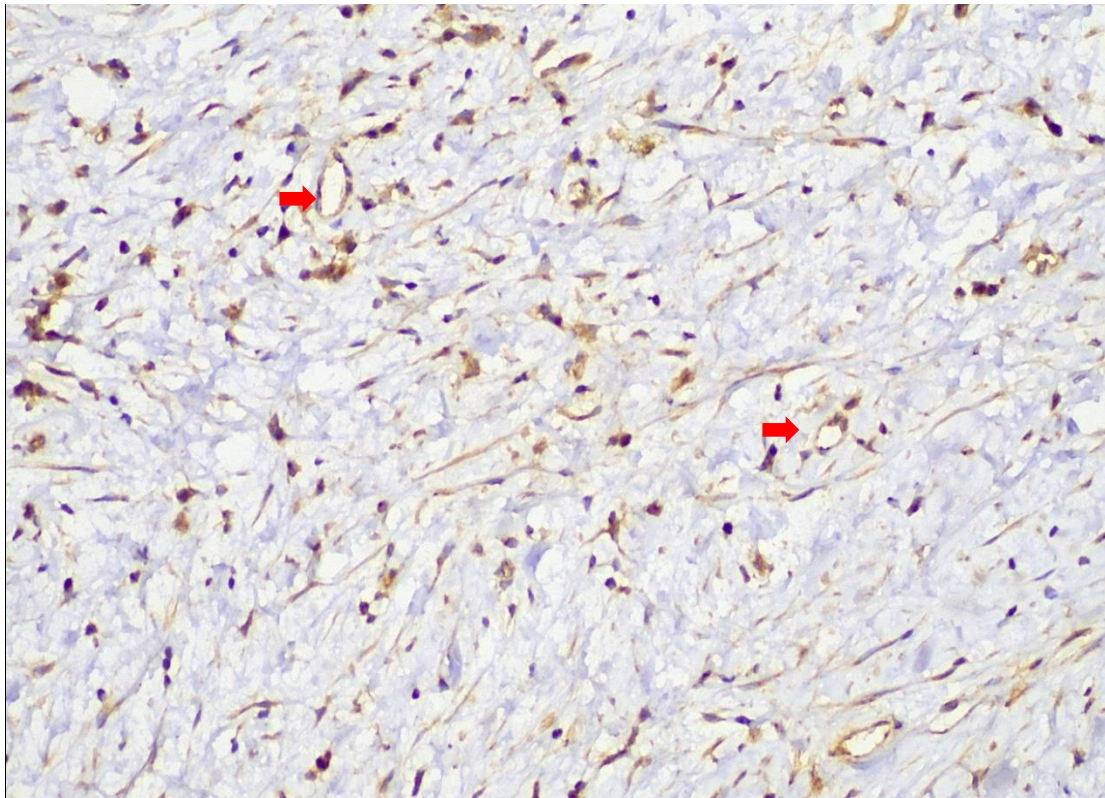
Εικόνα 35: Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε ΟΟΚ . Κυτταροπλασματική χρώση. Θετικότητα (καφέ χρώμα) σε άνω του 50% των κυττάρων της βασικής στιβάδας . (Σκορ 1) (x400)



Εικόνα 36: Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε ΟΟΚ . Διάχυτη θετική χρώση (καφέ χρώμα) σε βασική και υπερβασική στιβάδα. Παρατηρείται μετάβαση από το τυπικό ορθοκερατινοποιημένο επιθήλιο σε μη κερατινοποιημένο με διατήρηση της θετικότητας της χρώσης (βέλος). Παρατηρείται, επίσης, διάχυτη χρώση σε κύτταρα του μεσεγχύματος (x200)

2.2.3.2 Έκφραση στο συνδετικό ιστό

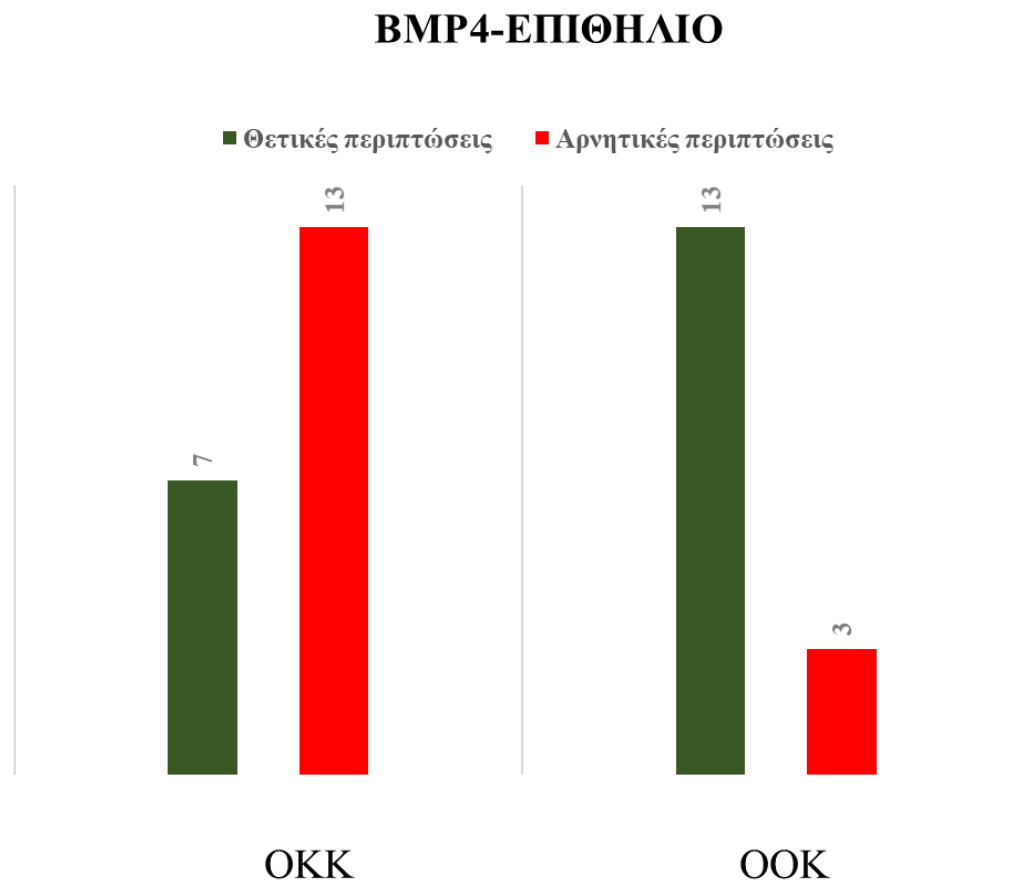
Σε 12/16 ΟΟΚ (75%) παρατηρήθηκε ασθενούς χαρακτήρα, διάχυτη, θετική χρώση στο συνδετικό ιστό (Εικόνα 37). Παρατηρήθηκε χρώση, κυρίως, των ατρακτοειδών μεσεγχυματικών κυττάρων και, δευτερευόντως, φλεγμονωδών και ενδοθηλιακών κυττάρων.



Εικόνα 37: Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε ΟΚΚ. Διάχυτη θετική χρώση (καφέ χρώμα) σε ατρακτοειδή κύτταρα του μεσεγχύματος (σκορ 3) και ενδοθηλιακά κύτταρα (κόκκινα βέλη) σε ΟΟΚ (x400)

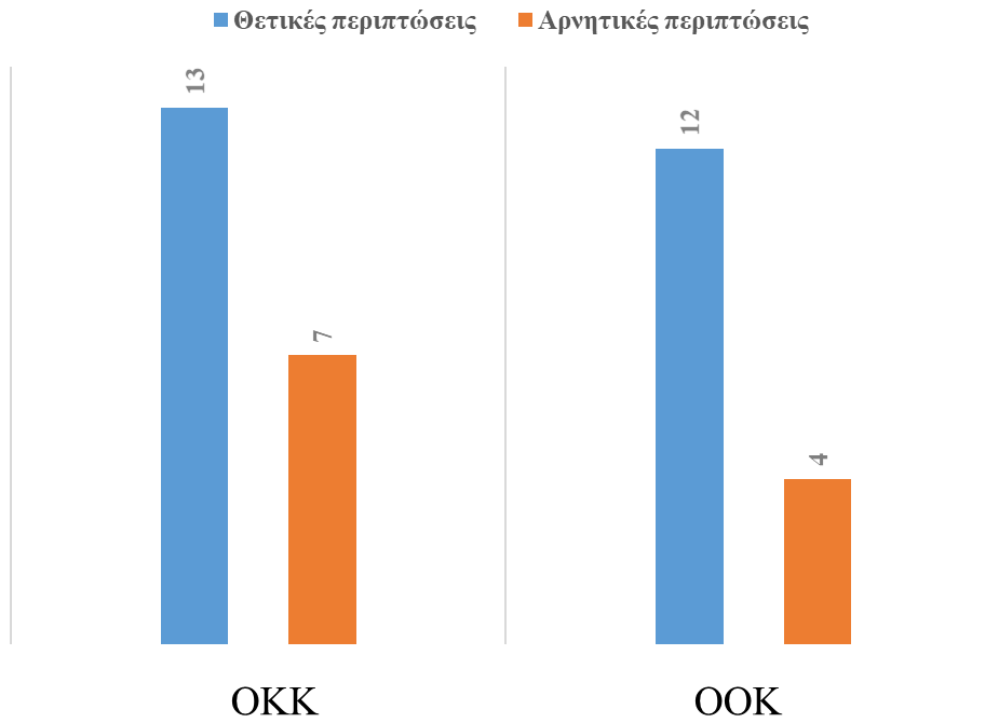
2.2.4 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα και σύγκριση ΟΚΚ-ΟΟΚ

Τα περιγραφικά αποτελέσματα (θετικές και αρνητικές περιπτώσεις) σχετικά με την έκφραση της BMP4 στο επιθήλιο και στο συνδετικό ιστό φαίνονται συγκεντρωτικά στα γραφήματα 5 και 6.



Γράφημα 5: Ραβδόγραμμα θετικών και αρνητικών περιπτώσεων έκφρασης BMP4 στο επιθήλιο των ΟΚΚ και ΟΟΚ

BMP4-ΣΥΝΔΕΤΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ



Γράφημα 6 : Ραβδόγραμμα θετικών και αρνητικών περιπτώσεων έκφρασης BMP4 στο συνδετικό ιστό των OKK και OOK

Με τη δοκιμασία Pearson's Chi-Squared αναδείχθηκε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα όσον αφορά στο παρατηρούμενο μεγαλύτερο ποσοστό θετικότητας της BMP4 στο επιθήλιο της OOK σε σχέση με αυτό της OKK ($p=0,006$) . Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα για την παρατηρούμενη διαφορά στο ποσοστό θετικότητας της BMP4 στο συνδετικό ιστό μεταξύ των 2 ομάδων ($p=0,718$) με τη μέθοδο Fisher's exact test.

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ημιποσοτικής αξιολόγησης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης της κάθε περίπτωσης σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό.

Τέλος, η μέση τιμή της BMP4 στο συνδετικό ιστό, ανά επιθηλιακή στιβάδα και ανά είδος κύστης παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 5: Αναλυτικά δεδομένα αξιολόγησης ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της BMP4 σε ΟΚΚ και ΟΟΚ, σύμφωνα με το προτεινόμενο από τους Vered και συν. [51] σύστημα αξιολόγησης

Είδος βλάβης και αριθμός περίπτωσης	Βασική στιβάδα	Υπερβασική στιβάδα	Σύνολο Επιθηλίου	Συνδετικός ιστός
ΟΚΚ1	0	0	0	1
ΟΚΚ2	0	0	0	0
ΟΚΚ3	0	0	0	1
ΟΚΚ4	2	2	4	1
ΟΚΚ5	2	0	2	1
ΟΚΚ6	0	0	0	0
ΟΚΚ7	3	2	5	2
ΟΚΚ8	1	1	2	2
ΟΚΚ9	0	0	0	0
ΟΚΚ10	0	0	0	1
ΟΚΚ11	1	1	2	1
ΟΚΚ12	0	0	0	1
ΟΚΚ13	1	1	2	0
ΟΚΚ14	0	0	0	0
ΟΚΚ15	0	0	0	1
ΟΚΚ16	0	0	0	1
ΟΚΚ17	0	0	0	2
ΟΚΚ18	0	0	0	0
ΟΚΚ19	0	0	0	0
ΟΚΚ20	1	2	3	2
ΟΟΚ1	2	3	5	1
ΟΟΚ2	1	0	1	0
ΟΟΚ3	3	2	5	1
ΟΟΚ4	3	3	6	0
ΟΟΚ5	3	3	6	2

ΟΟΚ6	2	2	4	2
ΟΟΚ7	3	2	5	1
ΟΟΚ8	3	2	5	2
ΟΟΚ9	0	0	0	0
ΟΟΚ10	2	3	5	1
ΟΟΚ11	0	0	0	0
ΟΟΚ12	3	3	6	2
ΟΟΚ13	1	1	2	2
ΟΟΚ14	3	3	6	3
ΟΟΚ15	0	0	0	1
ΟΟΚ16	3	3	6	3

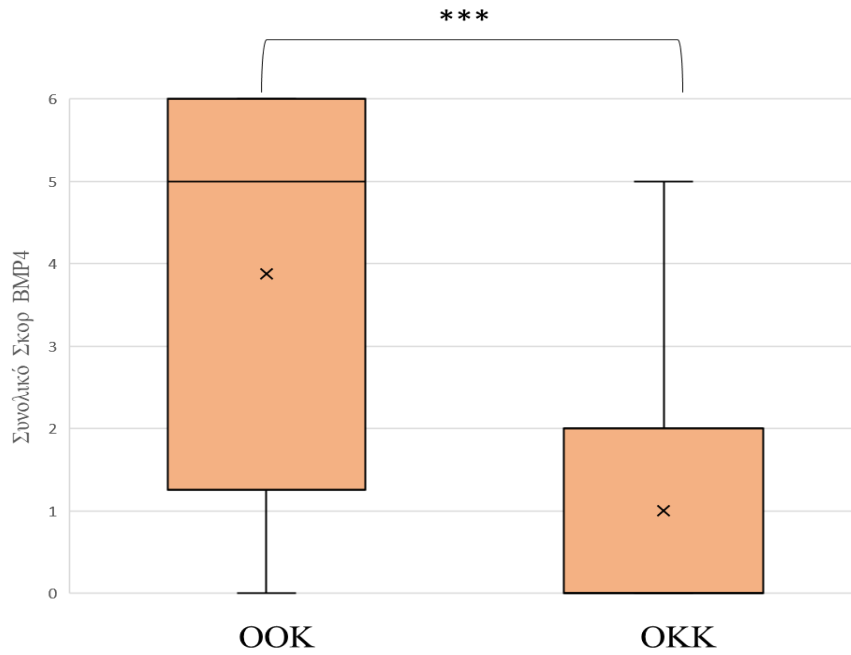
Πίνακας 6: Ποσοτικά αποτελέσματα (μέση τιμή) της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της BMP4 σε ΟΚΚ και ΟΟΚ

Είδος βλάβης	Βασική στιβάδα	Υπερβασική στιβάδα	Σύνολο επιθηλίου	Συνδεδετικός ιστός
ΟΚΚ	0,55±0,89	0,45±0,76	1±1,6	0,85±0,74
ΟΟΚ	2±1,21	1,875±1,26	3,875±2,39	1,3125±1,01

Η μέση τιμή έκφρασης της BMP4, τόσο στη βασική όσο και την υπερβασική στιβάδα του επιθηλίου των ΟΟΚ, και κατ' επέκταση στο σύνολο του επιθηλίου, βρέθηκε υψηλότερη σε σύγκριση με την αντίστοιχη των ΟΚΚ, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό ($p \leq 0,001$) (Γράφημα 7).

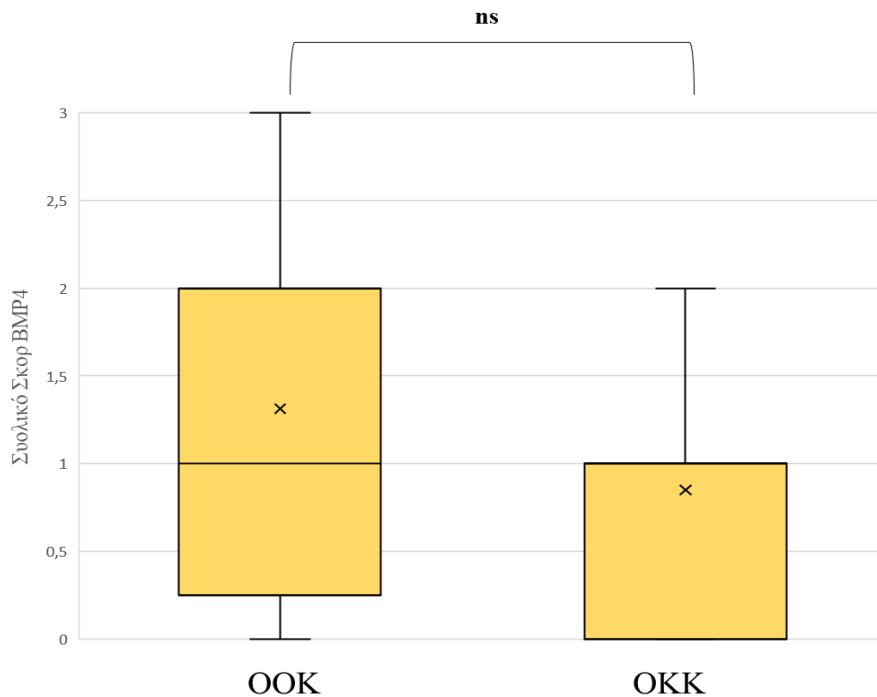
Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην μέση τιμή της έκφρασης της BMP4 στο συνδεδετικό ιστό ανάμεσα στις 2 ομάδες (Γράφημα 8).

ΕΠΙΘΗΛΙΟ



Γράφημα 7: Θηκόγραμμα (boxplot) το οποίο παρουσιάζει την κατανομή της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της BMP4 στο επιθήλιο των 2 ομάδων (***) $p \leq 0,001$).

ΣΥΝΔΕΤΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ



Γράφημα 8: Θηκόγραμμα (boxplot) το οποίο παρουσιάζει την κατανομή της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της BMP4 στο συνδετικό ιστό των 2 ομάδων (ns=μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα, $p=0,189$)

2.2.5 Συσχέτιση έκφρασης BMP4 με επιμέρους κλινικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά ΟΚΚ/ΟΟΚ

2.2.5.1 Συσχέτιση με ιστολογικά ευρήματα τα οποία έχουν συσχετισθεί με υποτροπή σε ΟΚΚ.

Στους πίνακες 7 & 8 παρουσιάζονται οι θετικές και αρνητικές περιπτώσεις έκφρασης της BMP4 και η μέση τιμή έκφρασης της πρωτεΐνης ανά εντόπιση σε ΟΚΚ σε σχέση με την παρουσία ή όχι επιθηλιακών εκβλαστήσεων. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Fisher's exact test, $p > 0,05$)

Πίνακας 7: Θετικές και αρνητικές περιπτώσεις έκφρασης BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό σε ΟΚΚ με παρουσία και ΟΚΚ χωρίς παρουσία επιθηλιακών εκβλαστήσεων

Επιθηλιακές εκβλαστήσεις	Θετικές περιπτώσεις (επιθήλιο)	Αρνητικές περιπτώσεις (επιθήλιο)	Θετικές περιπτώσεις (συνδ. ιστός)	Αρνητικές περιπτώσεις (συνδ. ιστός)
ΝΑΙ (n=11)	4 (36,36%)	7 (63,64%)	8 (72,73%)	3 (27,27%)
ΟΧΙ (n=9)	3 (33,33%)	6 (66,67%)	5 (55,56%)	4 (44,44%)

Πίνακας 8 : Μέση τιμή της έκφρασης BMP4 ανά εντόπιση σε ΟΚΚ με παρουσία και χωρίς παρουσία επιθηλιακών εκβλαστήσεων. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Mann-Whitney U test).

	Εντόπιση χρώσης	Επιθηλιακές εκβλαστήσεις		
		Ναι (n=11)	Οχι (n=9)	
Μέση τιμή έκφρασης BMP4	Βασική στιβάδα	0,55	0,55	p>0,05
	Υπερβασική στιβάδα	0,55	0,33	
	Σύνολο επιθηλίου	1,1	0,88	
	Συνδετικός ιστός	1	0,67	

Μη στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα παρατηρήθηκαν, επίσης, όταν εξετάσθηκαν πιθανές διαφορές ανάμεσα σε ΟΚΚ με παρουσία και ΟΚΚ χωρίς παρουσία θυγατρικών κύστεων (Πίνακες 9 και 10) και επιθηλιακών νησιδίων (Πίνακες 11 και 12) στο τοίχωμα τους (Εικόνα 38).

Πίνακας 9: Θετικές και αρνητικές περιπτώσεις έκφρασης BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό σε ΟΚΚ με παρουσία και ΟΚΚ χωρίς παρουσία θυγατρικών κύστεων

Θυγατρικές κύστεις	Θετικές περιπτώσεις (επιθήλιο)	Αρνητικές περιπτώσεις (επιθήλιο)	Θετικές περιπτώσεις (συνδ. ιστός)	Αρνητικές περιπτώσεις (συνδ. ιστός)
ΝΑΙ (ν=9)	4 (44,44%)	5(55,56%)	6 (66,67%)	3 (33,33%)
ΟΧΙ (ν=11)	3 (27,27%)	8 (72,73%)	7 (63,64%)	4 (36,36%)

Πίνακας 10 : Μέση τιμή της έκφρασης BMP4 ανά εντόπιση σε ΟΚΚ με παρουσία και ΟΚΚ χωρίς παρουσία θυγατρικών κύστεων. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Mann-Whitney U test)

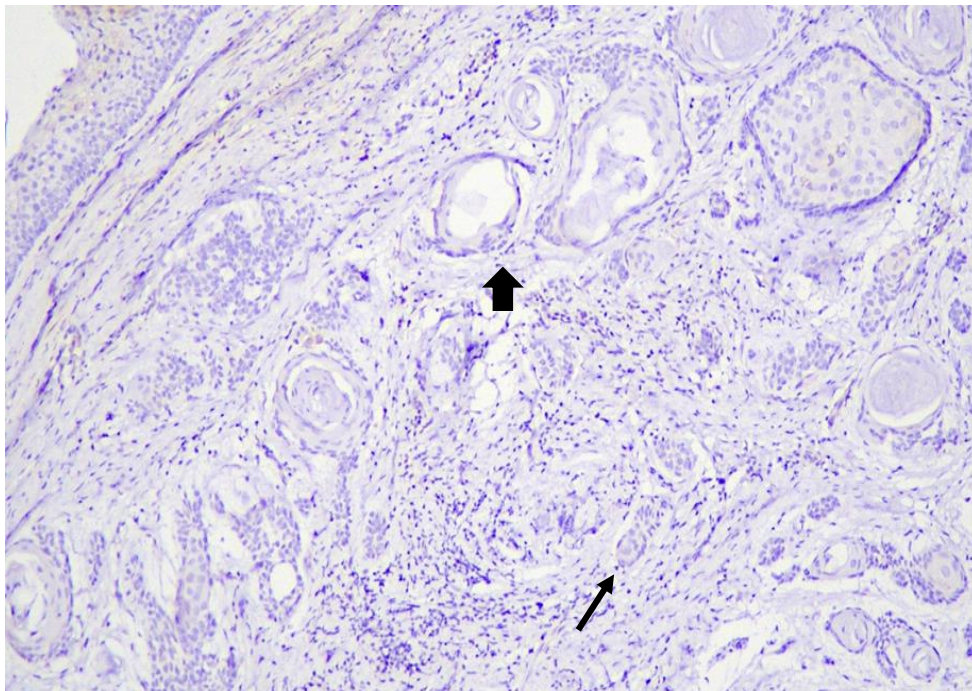
	Εντόπιση χρώσης	Θυγατρικές κύστεις		
		Ναι (ν=9)	Όχι (ν=11)	
Μέση τιμή έκφρασης BMP4	Βασική στιβάδα	0,77	0,36	p>0,05
	Υπερβασική στιβάδα	0,67	0,27	
	Σύνολο επιθηλίου	1,44	0,63	
	Συνδετικός ιστός	0,88	0,82	

Πίνακας 11: Θετικές και αρνητικές περιπτώσεις έκφρασης BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό σε ΟΚΚ με παρουσία και ΟΚΚ χωρίς παρουσία επιθηλιακών νησιδίων

Επιθηλιακά νησίδια	Θετικές περιπτώσεις (επιθήλιο)	Αρνητικές περιπτώσεις (επιθήλιο)	Θετικές περιπτώσεις (συνδ. ιστός)	Αρνητικές περιπτώσεις (συνδ. ιστός)
ΝΑΙ (ν=10)	4 (40%)	6 (60%)	8 (80%)	2 (20%)
ΟΧΙ (ν=10)	3 (30%)	7 (70%)	5(50%)	5 (50%)

Πίνακας 12 : Μέση τιμή της έκφρασης BMP4 ανά εντόπιση σε ΟΚΚ με παρουσία και ΟΚΚ χωρίς παρουσία επιθηλιακών νησιδίων. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Mann-Whitney U test)

	Εντόπιση χρώσης	Επιθηλιακά νησίδια		
		Ναι (n=10)	Όχι (n=10)	
Μέση τιμή έκφρασης BMP4	Βασική στιβάδα	0,6	0,5	p>0,05
	Υπερβασική στιβάδα	0,5	0,4	
	Σύνολο επιθηλίου	1,1	0,9	
	Συνδετικός ιστός	1,1	0,6	



Εικόνα 38: Ανοσοϊστοχημική χρώση BMP4 σε ΟΚΚ. Αρνητική χρώση BMP4 σε θυγατρικές κύστες (παχύ βέλος) και νησίδια (λεπτό βέλος) ΟΚΚ (x200).

2.2.5.2 Συσχέτιση έκφρασης BMP4 με παρουσία έγκλειστου δοντιού σε ΟΟΚ

Στον Πίνακα 13 καταγράφονται θετικές και αρνητικές περιπτώσεις έκφρασης BMP4 σε ΟΟΚ που σχετιζόταν με έγκλειστο δόντι (n=9) έναντι ΟΟΚ χωρίς συσχέτιση (n=7) ενώ στον πίνακα 14 καταγράφονται οι μέσες τιμές της έκφρασης της πρωτεΐνης ανά εντόπιση στις 2 αυτές κατηγορίες ΟΟΚ. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Πίνακας 13: Θετικές και αρνητικές περιπτώσεις έκφρασης BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό σε ΟΟΚ σε σχέση και ΟΟΚ χωρίς σχέση με έγκλειστο δόντι

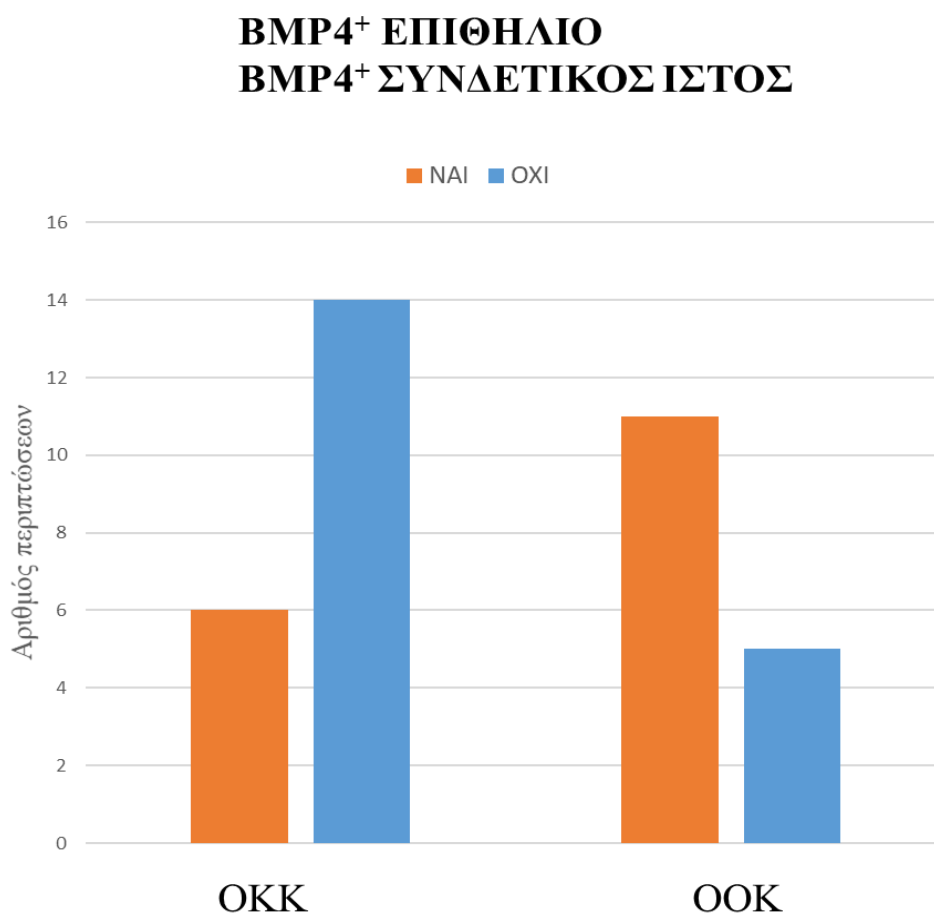
Σχέση με έγκλειστο δόντι	Θετικές περιπτώσεις (επιθήλιο)	Αρνητικές περιπτώσεις (επιθήλιο)	Θετικές περιπτώσεις (συνδ. ιστός)	Αρνητικές περιπτώσεις (συνδ. ιστός)
ΝΑΙ (n=9)	6 (66,67%)	3 (33,33%)	6 (66,67%)	3 (33,33%)
ΟΧΙ (n=7)	7 (100%)	0 (0%)	6(85,71%)	3 (14,29%)

Πίνακας 14 : Μέση τιμή της έκφρασης BMP4 ανά εντόπιση σε ΟΟΚ σε σχέση και ΟΟΚ χωρίς σχέση με έγκλειστο δόντι. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Mann-Whitney U test)

	Εντόπιση χρώσης	Σχέση με έγκλειστο δόντι		
		Ναι (n=9)	Οχι (n=7)	
Μέση τιμή έκφρασης BMP4	Βασική στιβάδα	1,67	2,43	p>0,05
	Υπερβασική στιβάδα	1,67	2,14	
	Σύνολο επιθηλίου	3,34	4,57	
	Συνδετικός ιστός	1,22	1,43	

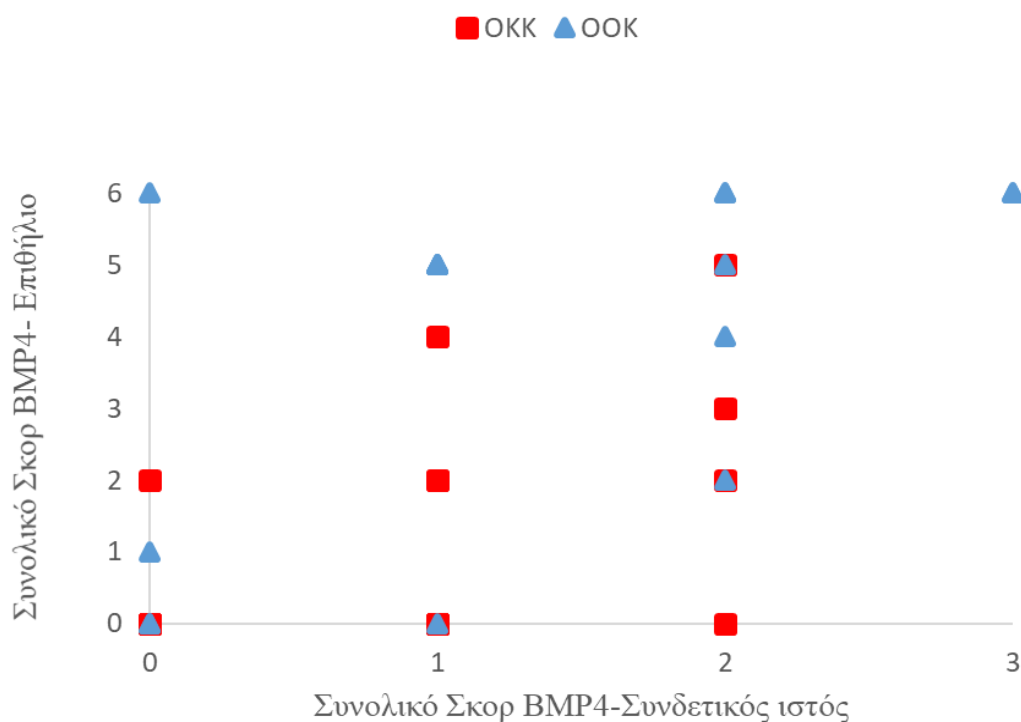
2.2.6 Συσχέτιση έκφρασης BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό

Στο Γράφημα 9 φαίνονται οι περιπτώσεις όπου υπήρχε ταυτόχρονη θετικότητα της BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό. Όπως φαίνεται στο γράφημα η εμφάνιση «διπλής θετικότητας» BMP4 ήταν πιο συχνά παρατηρούμενη στις ΟΟΚ (11/16 περιπτώσεις) σε σχέση με τις ΟΚΚ (6/20 περιπτώσεις), σε στατιστικά σημαντικό βαθμό (Pearson's Chi-squared, $p=0,02$)



Γράφημα 9: Ραβδόγραμμα περιπτώσεων ταυτόχρονης θετικότητας BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό σε ΟΚΚ και ΟΟΚ.

Η συσχέτιση των ποσοτικών αποτελεσμάτων (σκορ) της έκφρασης της BMP4 στο επιθήλιο και στο συνδετικό ιστό και στις 2 ομάδες απεικονίζεται στο παρακάτω διάγραμμα διασποράς (Γράφημα 10).



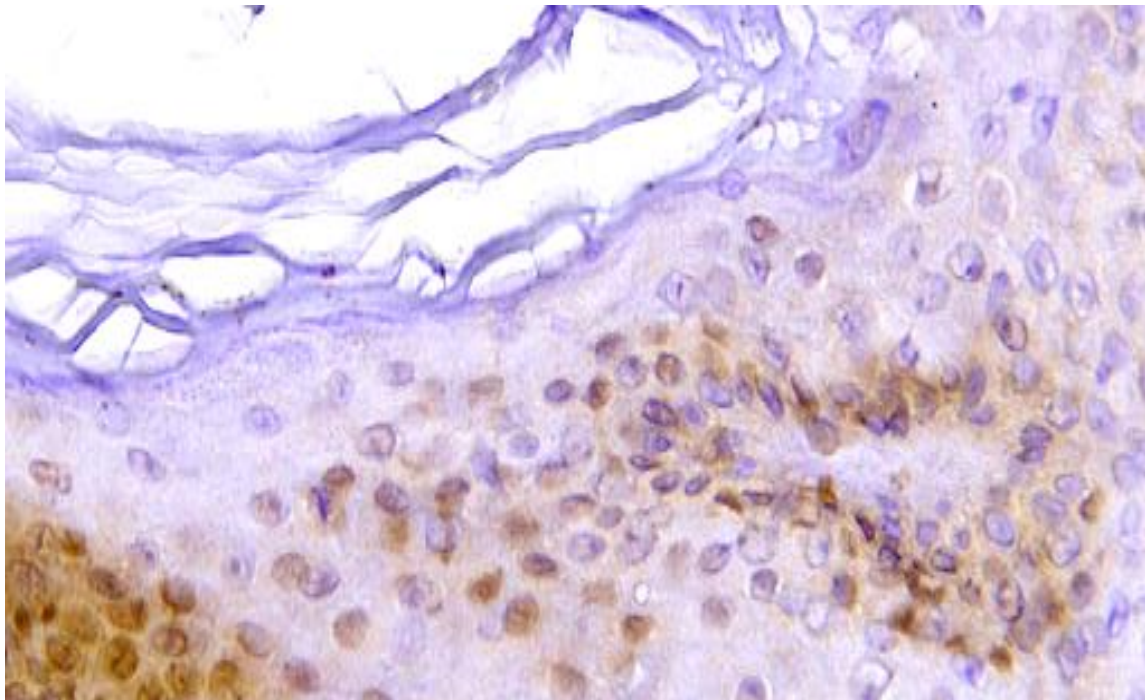
Γράφημα 10: Διάγραμμα διασποράς των αποτελεσμάτων (σκορ) της έκφρασης της BMP4 σε συνδετικό ιστό (άξονας x) και επιθήλιο (άξονας y). Αναδεικνύεται θετική μονοτονική συσχέτιση της αύξησης του αποτελέσματος (σκορ) στο συνδετικό ιστό με την αύξηση του αποτελέσματος (σκορ) στο επιθήλιο και στις 2 ομάδες.

Ο συντελεστής συσχέτισης Spearman's rho υπολογίστηκε για τις 2 κύστεις: στο δείγμα των OKK ήταν 0,475 ($p=0,034$) και στο δείγμα OOK 0,553 ($p=0,026$), επιβεβαιώνοντας την οπτικά παρατηρούμενη, μέτρια θετική συσχέτιση ανάμεσα στο ποσοτικό αποτέλεσμα (σκορ) της έκφρασης της BMP4 σε συνδετικό ιστό και επιθήλιο και για τις 2 βλάβες, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό.

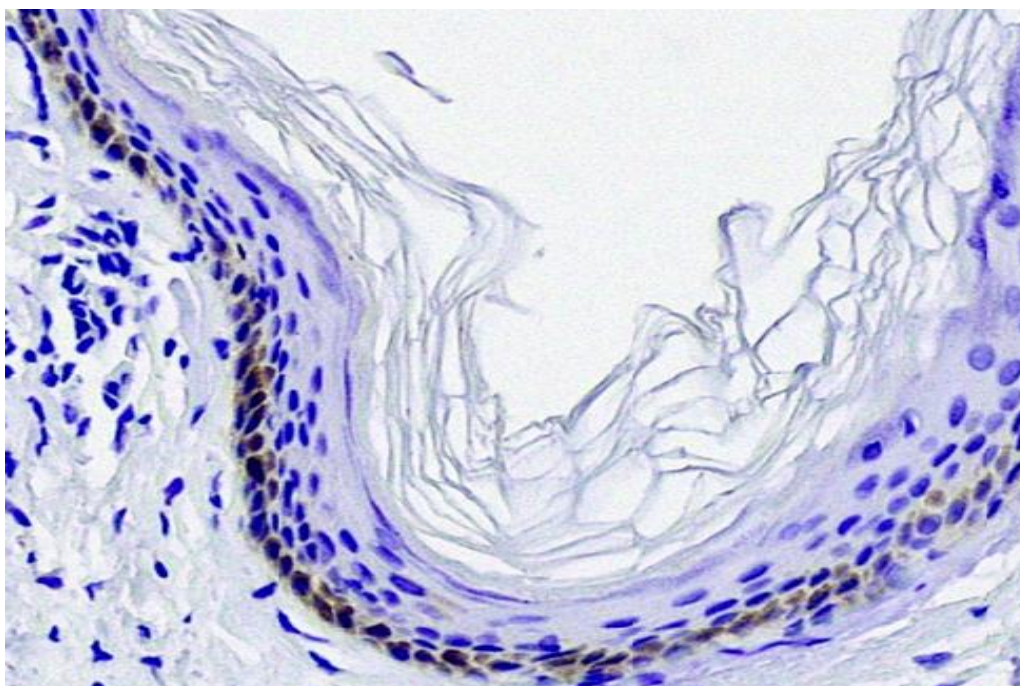
2.3 Ανοσοϊστοχημική έκφραση FOXN1

2.3.1 Ανοσοϊστοχημική έκφραση FOXN1 σε ιστό-θετικό μάρτυρα

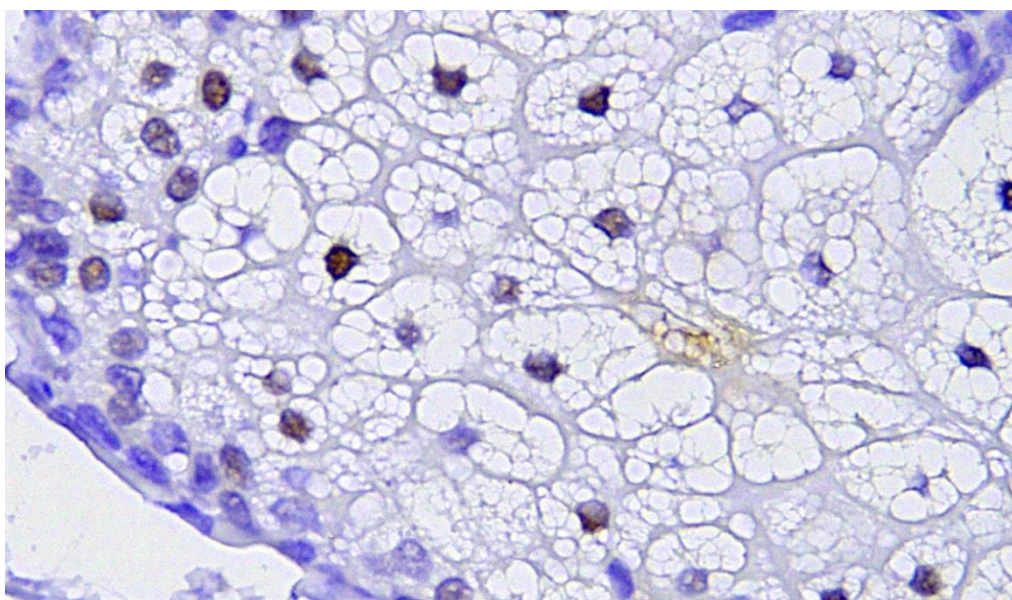
Η έκφραση του FOXN1 στον ιστό-θετικό μάρτυρα τον οποίο αποτέλεσαν τομές σημηματορροϊκής κεράτωσης ήταν μέτριας έντασης πυρηνική ή κυτταροπλασματική και πυρηνική σε κύτταρα της υπερβασικής στιβάδας (Εικόνα 39). Επίσης, χρώση με παρόμοια χαρακτηριστικά παρατηρήθηκε στο παρακείμενο υγιές δέρμα, με την έκφραση του FOXN1 να εντοπίζεται σε διάσπαρτα κύτταρα, κυρίως, της βασικής και της υπερβασικής στιβάδας (Εικόνα 40) αλλά και σε τριχοθυλάκια και σημηματογόνους αδένες (Εικόνα 41). Τέλος, έντονη χρώση παρατηρήθηκε σε ενδοθηλιακά κύτταρα στο συνδετικό ιστό.



Εικόνα 39: Ανοσοϊστοχημική χρώση FOXN1 σε σημηματορροϊκή κεράτωση (θετικός μάρτυρας). Παρατηρείται θετική (καφέ χρώμα) πυρηνική και, εν μέρει, κυτταροπλασματική χρώση σε διάσπαρτα κύτταρα της υπερβασικής στιβάδας (x400)



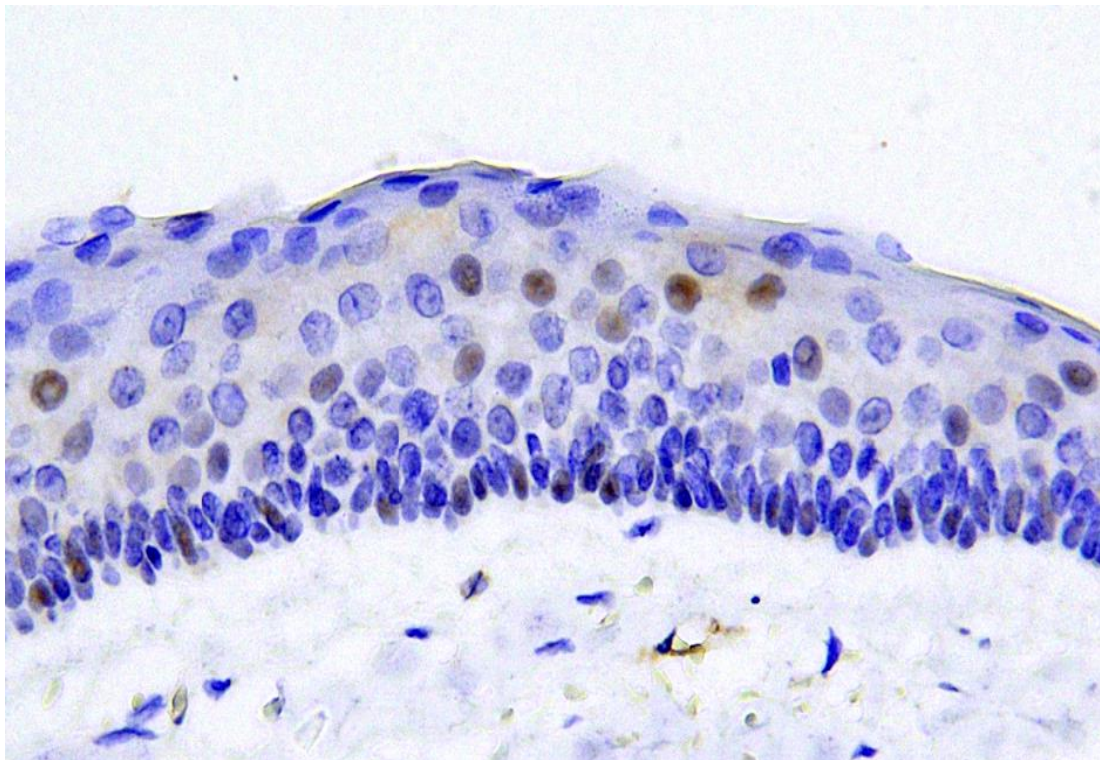
Εικόνα 40: Ανοσοϊστοχημική χρώση FOXP1 σε υγιές δέρμα (θετικός μάρτυρας). Παρατηρείται θετική χρώση (καφέ χρώμα) στους πυρήνες και στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων, κυρίως, της βασικής στιβάδας (x200).



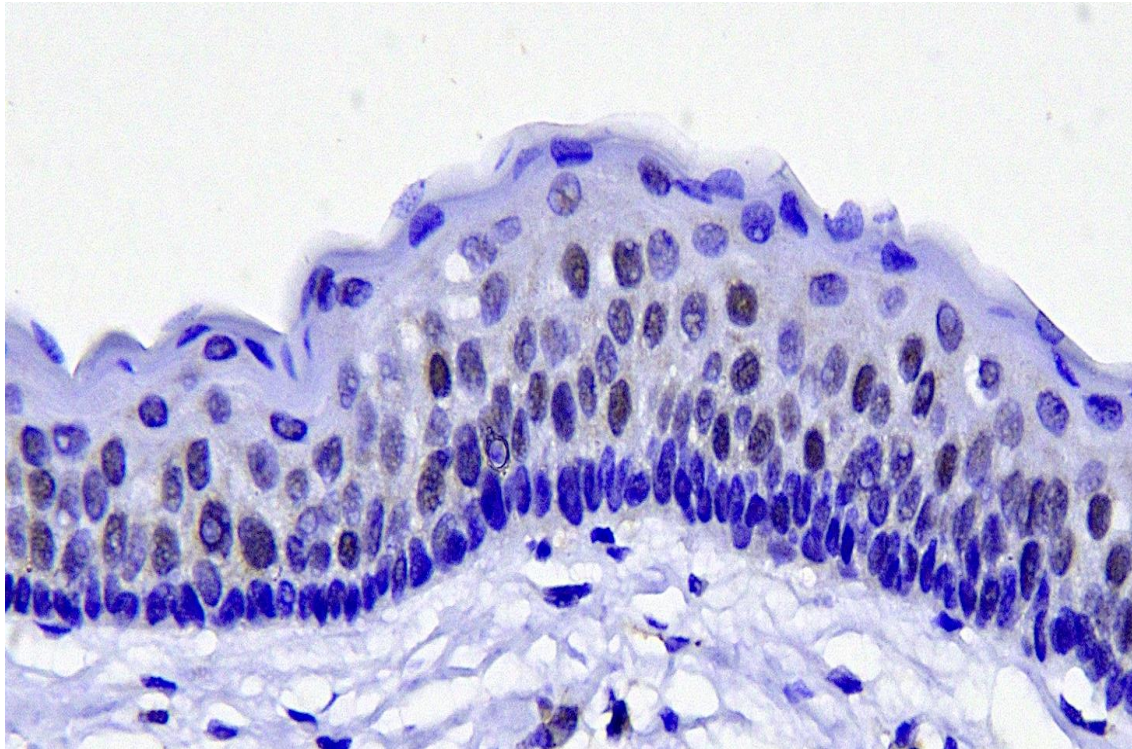
Εικόνα 41: Ανοσοϊστοχημική χρώση FOXP1 σε σημηματογόνο αδένα (θετικός μάρτυρας). Παρατηρείται θετική χρώση (καφέ χρώμα) στους πυρήνες των κυττάρων (x400)

2.3.2 Ανοσοϊστοχημική έκφραση FOXP3 σε ΟΚΚ

Ο FOXP3 εκφραζόταν σε 6/20 (30%) ΟΚΚ (Εικόνες 42-44). Σε όλες τις περιπτώσεις, η χρώση ήταν, κυρίως, ασθενής πυρηνική, με τα θετικά χρωσμένα κύτταρα να εντοπίζονται, ως επί το πλείστον, στην υπερβασική στιβάδα ενώ 3 από τις 6 ΟΚΚ εμφάνιζαν χρώση σε κύτταρα της βασικής στιβάδας. Παρατηρήθηκε, επίσης, στικτή κυτταροπλασματική και πυρηνική χρώση σε ενδοθηλιακά κύτταρα στο συνδετικό ιστό της βλάβης.



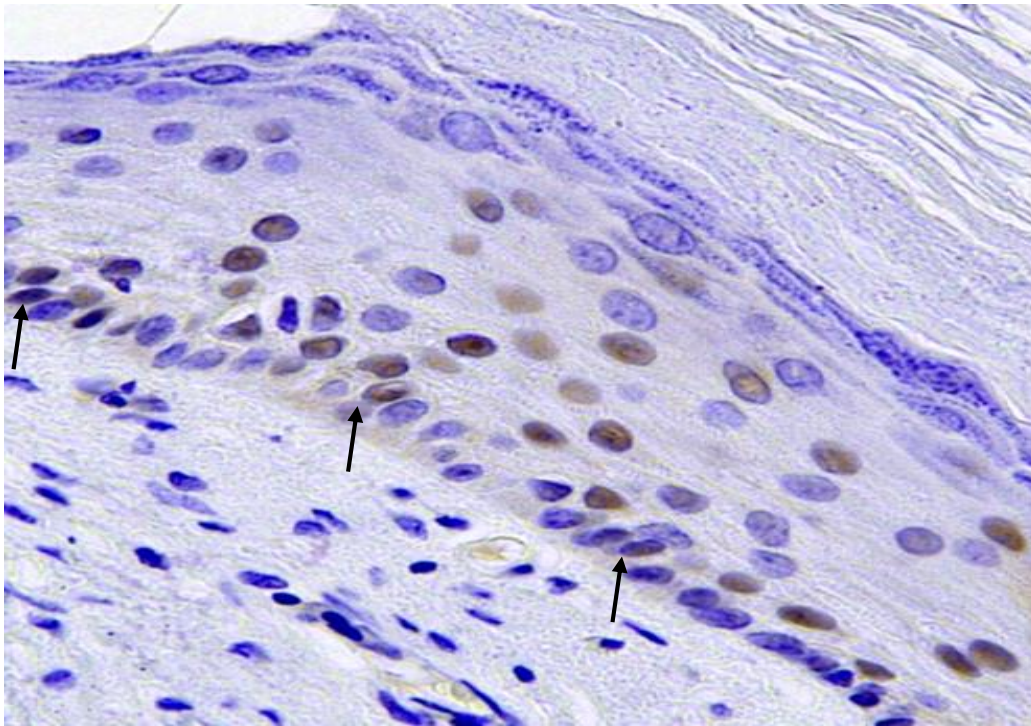
Εικόνα 42: Ανοσοϊστοχημική χρώση FOXP3 σε ΟΚΚ. Παρατηρείται ασθενής πυρηνική χρώση σε μεγαλύτερο του 10% και λιγότερο από 50% των κυττάρων της βασικής και υπερβασικής στιβάδας (Σκορ 2 για κάθε στιβάδα) (x400)



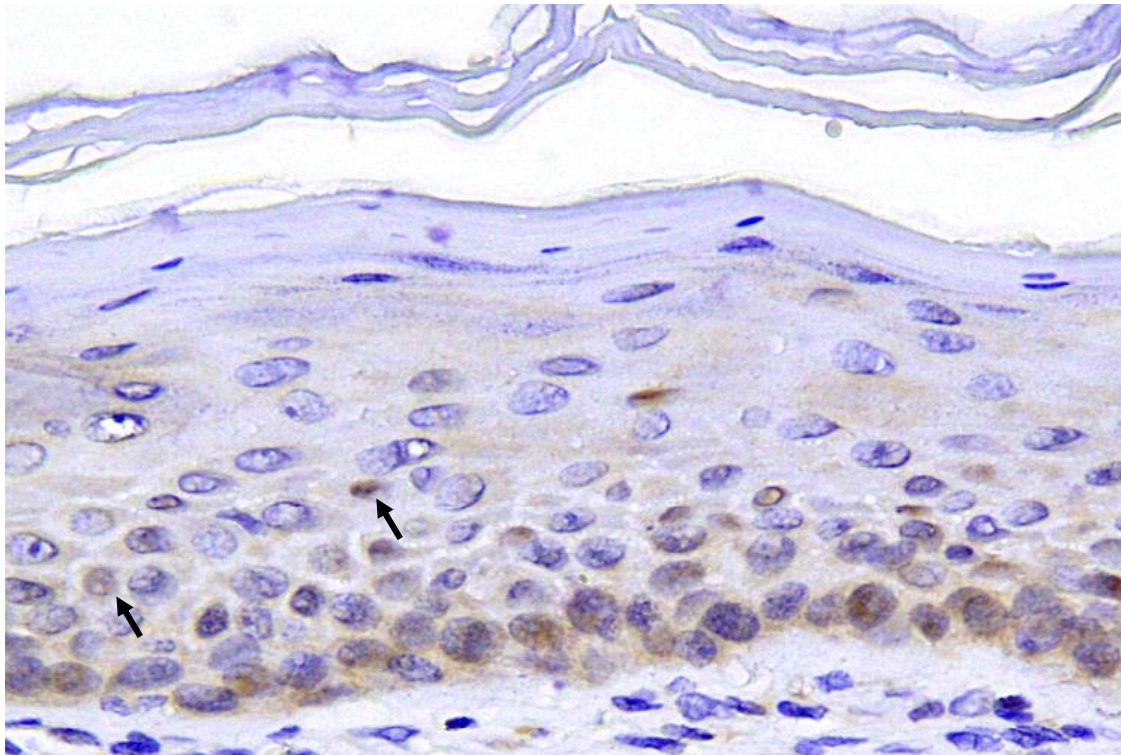
Εικόνα 43: Ανοσοϊστοχημική χρώση FOXP1 σε ΟΚΚ. Παρατηρείται πυρηνική χρώση σε μεγαλύτερο από 50% των κυττάρων της υπερβασικής στιβάδας (Σκορ 3) με απουσία χρώσης από τα κύτταρα της βασικής στιβάδας (Σκορ 0) (x400).

2.3.3 Ανοσοϊστοχημική έκφραση FOXP1 σε ΟΟΚ

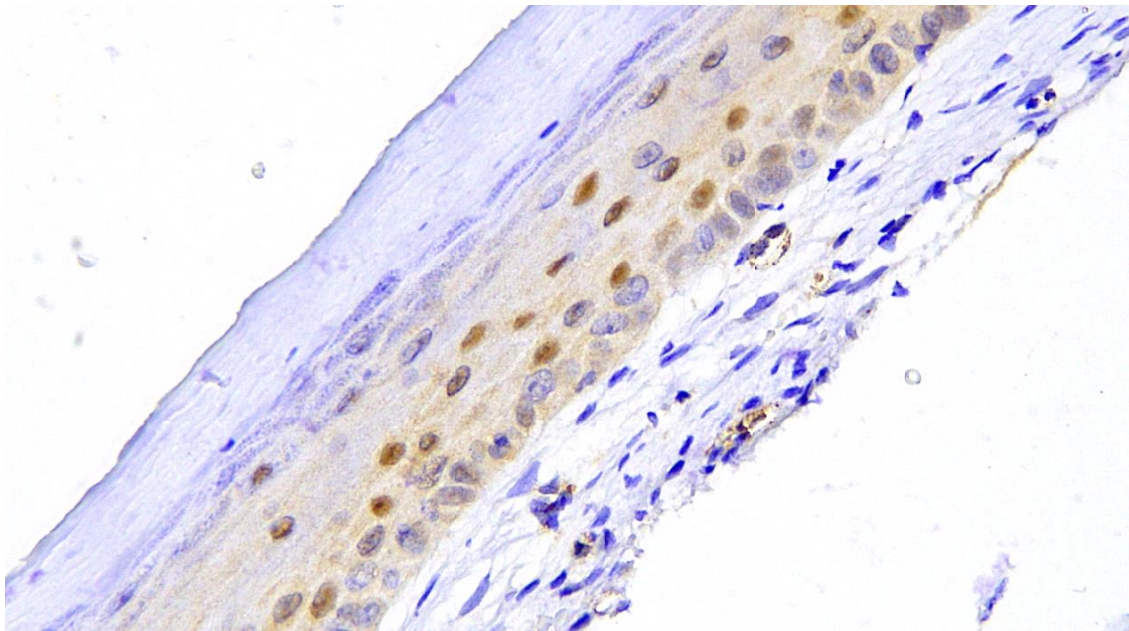
Στο δείγμα των ΟΟΚ παρατηρήθηκε, ασθενούς χαρακτήρα, θετική έκφραση του FOXP1 σε 12/16 (75%) περιπτώσεις (Εικόνες 44-46). Σε 7 περιπτώσεις η χρώση ήταν πυρηνική και στις υπόλοιπες 5 πυρηνική και κυτταροπλασματική. Στις 8/12 θετικές περιπτώσεις υπήρχε χρώση, ταυτόχρονα, σε κύτταρα τόσο της βασικής όσο και της υπερβασικής στιβάδας, σε 3 μόνο στην υπερβασική και σε 1 μόνο στη βασική στιβάδα. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε περιοχές άλλου τύπου επιθηλίου πέραν του ορθοκερατινοποιημένου. Παρατηρήθηκε, επίσης, θετική χρώση ενδοθηλιακών κυττάρων σε αγγεία του συνδετικού ιστού.



Εικόνα 44: Ανοσοϊστοχημική χρώση FOXP1 σε ΟΟΚ. Παρατηρείται πυρηνική χρώση σε μεγαλύτερο του 50% των κυττάρων της υπερβασικής στιβάδας (Σκορ 3) και διάσπαρτων κυττάρων (βέλη) της βασικής στιβάδας (x400).



***Εικόνα 45:** Ανοσοϊστοχημική χρώση FOXP1 σε ΟΟΚ. Παρατηρείται, ασθενούς χαρακτήρα, θετική πυρηνική χρώση (καφέ χρώμα) σε μεγαλύτερο του 50% των κυττάρων της βασικής στιβάδας (Σκορ 3) και διάσπαρτων κυττάρων (βέλη) της υπερβασικής στιβάδας (Σκορ 1) (x400).*

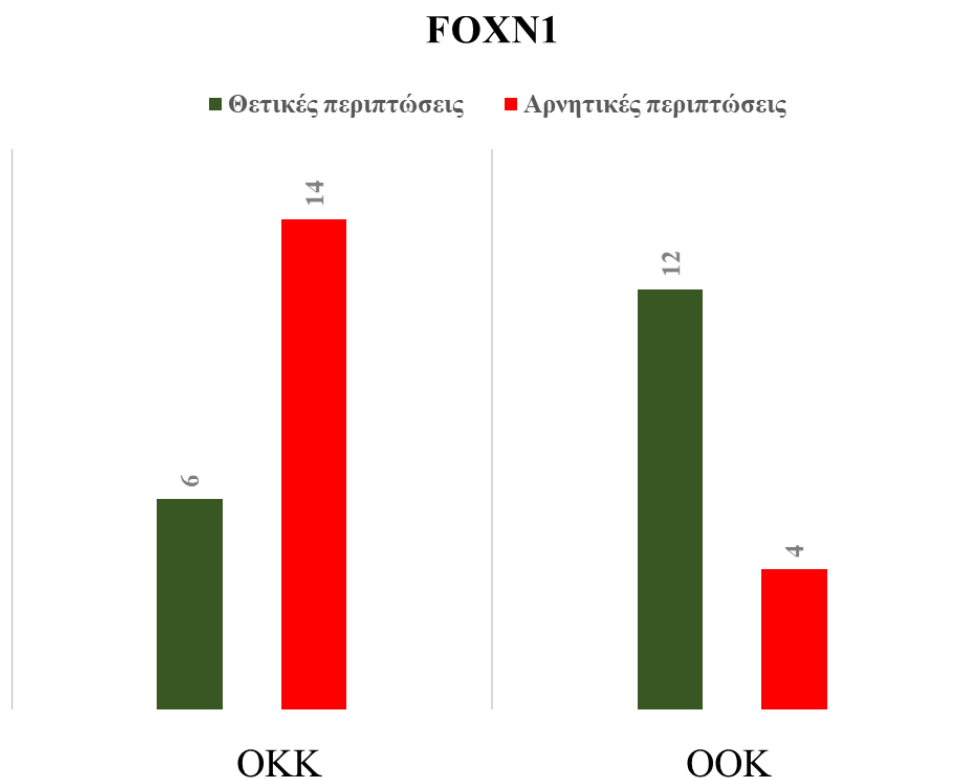


***Εικόνα 46:** Ανοσοϊστοχημική χρώση FOXP1 σε ΟΟΚ. Παρατηρείται θετική πυρηνική χρώση (καφέ χρώμα) σε μεγαλύτερο του 50% των κυττάρων της υπερβασικής στιβάδας*

(Σκορ 3) και, κυρίως, κυτταροπλασματική χρώση σε διάσπαρτα κύτταρα της βασικής στιβάδας (Σκορ 2) (x200).

2.3.4 Συγκεντρωτικά αποτελέσματα και σύγκριση ΟΚΚ-ΟΟΚ

Τα περιγραφικά αποτελέσματα όσον αφορά στην έκφραση του FOXN1 στο επιθήλιο των ΟΚΚ και ΟΟΚ παρουσιάζονται στο Γράφημα 11.



Γράφημα 11: Ραβδόγραμμα θετικών και αρνητικών περιπτώσεων έκφρασης FOXN1 στο επιθήλιο των ΟΚΚ και ΟΟΚ

Η παρατηρούμενη διαφορά στα ποσοστά θετικών περιπτώσεων ανάμεσα στις 2 ομάδες, 75% στις ΟΟΚ έναντι 30% στις ΟΚΚ, αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική με την εφαρμογή της μεθόδου Pearson's Chi-Squared ($p=0,007$)

Στον Πίνακα 15 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ημιποσοτικής αξιολόγησης της ανοσοϊστοχημικής χρώσης του FOXN1, για κάθε περίπτωση, ανά επιθηλιακή στιβάδα και στο σύνολο του επιθηλίου, όπως και η εντόπιση της χρώσης.

Τέλος, η μέση τιμή της έκφρασης του FOXN1 στο επιθήλιο, ανά είδος κύστης παρουσιάζεται στον Πίνακα 16.

Πίνακας 15: Αναλυτικά δεδομένα αξιολόγησης ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του FOXN1 σε OKK και OOK, σύμφωνα με το προτεινόμενο από τους Vered και συν. [51] σύστημα αξιολόγησης

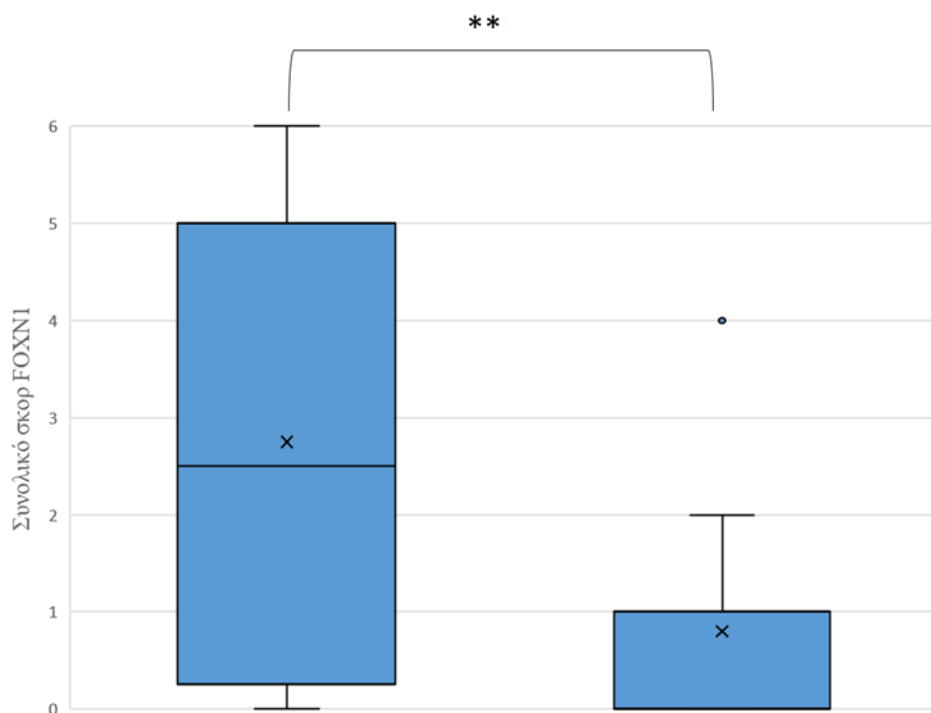
Είδος βλάβης και αριθμός περίπτωσης	Βασική στιβάδα	Υπερβασική στιβάδα	Σύνολο επιθηλίου	Εντόπιση ανοσοϊστοχημικής χρώσης
OKK1	1	3	4	Πυρηνική
OKK2	0	2	2	Πυρηνική
OKK3	0	0	0	-
OKK4	0	0	0	-
OKK5	1	3	4	Πυρηνική
OKK6	0	0	0	-
OKK7	0	1	1	Πυρηνική
OKK8	0	0	0	-
OKK9	0	0	0	-
OKK10	0	0	0	-
OKK11	0	0	0	-
OKK12	0	0	0	-
OKK13	0	0	0	-
OKK14	0	0	0	-
OKK15	0	1	1	Πυρηνική
OKK16	0	0	0	-
OKK17	0	0	0	-

OKK18	0	0	0	-
OKK19	2	2	4	Πυρηνική
OKK20	0	0	0	-
OOK1	2	3	5	Πυρηνική+Κυτταροπλασματική
OOK2	1	0	1	Πυρηνική+Κυτταροπλασματική
OOK3	3	3	6	Πυρηνική+Κυτταροπλασματική
OOK4	0	0	0	-
OOK5	2	3	5	Πυρηνική
OOK6	3	3	6	Πυρηνική
OOK7	3	3	6	Πυρηνική
OOK8	1	2	3	Πυρηνική+Κυτταροπλασματική
OOK9	2	2	4	Πυρηνική
OOK10	0	0	0	-
OOK11	0	0	0	-
OOK12	0	2	2	Πυρηνική+Κυτταροπλασματική
OOK13	0	1	1	Πυρηνική
OOK14	0	0	0	-
OOK15	0	1	1	Πυρηνική
OOK16	2	2	4	Πυρηνική

Πίνακας 16 – Ποσοτικά αποτελέσματα (μέση τιμή) της ανοσοϊστοχημικής αξιολόγησης της έκφρασης του FOXN1 σε OKK και OOK.

Είδος βλάβης	Βασική στιβάδα	Υπερβασική στιβάδα	Σύνολο επιθηλίου
OKK	0,2±0,52	0,6±1,05	0,8±1,47
OOK	1,1875±1,22	1,5625±1,26	2,75±2,38

Η μέση τιμή της έκφρασης του FOXN1 στη βασική και την υπερβασική στιβάδα του επιθηλίου των ΟΟΚ, και κατ' επέκταση στο σύνολο του επιθηλίου, βρέθηκε αυξημένη σε στατιστικά σημαντικό βαθμό σε σύγκριση με την αντίστοιχη των ΟΚΚ, όταν ελέγχθηκαν οι διαφορές με την μέθοδο Mann-Whitney U ($p=0,008$ για το σύνολο του επιθηλίου) (Γράφημα 12).



Γράφημα 12: Θηκόγραμμα (boxplot) το οποίο παρουσιάζει την κατανομή της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του FOXN1 στο επιθήλιο των 2 ομάδων. (** $p<0,01$).

2.3.5 Συσχέτιση έκφρασης FOXN1 με επιμέρους κλινικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά OKK/OOK

2.3.5.1 Συσχέτιση με ιστολογικά ευρήματα που έχουν συσχετισθεί με υποτροπή σε OKK

Δεν αναδείχθηκε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα κατά την σύγκριση του ποσοστού θετικών περιπτώσεων FOXN1 ανάμεσα σε OKK με παρουσία επιθηλιακών εκβλαστήσεων και θυγατρικών κύστεων έναντι OKK χωρίς την παρουσία των δύο αυτών παραμέτρων (Fisher's exact test, $p > 0,05$) (Πίνακες 17 & 19). Μη στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα καταγράφηκε και κατά την σύγκριση των μέσων τιμών έκφρασης του FOXN1 όταν οι OKK αξιολογήθηκαν ανάλογα με την παρουσία ή όχι των δύο προαναφερθείσων παραμέτρων. (Πίνακες 18 & 20)

Πίνακας 17: Θετικές και αρνητικές περιπτώσεις έκφρασης FOXN1 σε OKK με παρουσία και χωρίς παρουσία επιθηλιακών εκβλαστήσεων

Επιθηλιακές εκβλαστήσεις	Θετικές περιπτώσεις	Αρνητικές περιπτώσεις
ΝΑΙ (n=11)	4(36,37%)	7 (63,64%)
ΟΧΙ (n=9)	2(22,22%)	7 (77,78%)

Πίνακας 18 : Μέση τιμή της έκφρασης FOXN1 σε OKK με παρουσία και χωρίς παρουσία επιθηλιακών εκβλαστήσεων. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Mann-Whitney U test)

	Εντόπιση χρώσης	Επιθηλιακές εκβλαστήσεις		
		Ναι (n=11)	Οχι (n=9)	
Μέση τιμή έκφρασης FOXN1	Βασική στιβάδα	0,09	0,33	p>0,05
	Υπερβασική στιβάδα	0,64	0,56	
	Σύνολο επιθηλίου	0,73	0,89	

Πίνακας 19: Θετικές και αρνητικές περιπτώσεις έκφρασης FOXN1 σε OKK με παρουσία και χωρίς παρουσία θυγατρικών κύστεων

Θυγατρικές κύστες	Θετικές περιπτώσεις	Αρνητικές περιπτώσεις
ΝΑΙ (n=9)	3(33,33%)	6 (66,67%)
ΟΧΙ (n=11)	3 (27,27%)	8 (72,73%)

Πίνακας 20 : Μέση τιμή της έκφρασης FOXN1 σε OKK με παρουσία και χωρίς παρουσία θυγατρικών κύστεων. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Mann-Whitney U test)

	Εντόπιση χρώσης	Θυγατρικές κύστες		
		Ναι (n=9)	Οχι (n=7)	
Μέση τιμή έκφρασης FOXN1	Βασική στιβάδα	0	0,36	p>0,05
	Υπερβασική στιβάδα	0,44	0,73	
	Σύνολο επιθηλίου	0,44	1,09	

Επίσης, δεν αναδείχθηκε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα κατά την σύγκριση του ποσοστού θετικών περιπτώσεων FOXN1 ανάμεσα σε OKK με παρουσία επιθηλιακών νησιδίων στο συνδετικό ιστό έναντι OKK χωρίς νησίδια (Fisher's exact test, p>0,05) (Πίνακας 21). Κατά την σύγκριση των μέσων τιμών έκφρασης του FOXN1 σε OKK με παρουσία έναντι OKK χωρίς παρουσία επιθηλιακών νησιδίων παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέση τιμή έκφρασης της πρωτεΐνης στην υπερβασική στιβάδα και στο σύνολο του επιθηλίου (Mann-Whitney U test, p<0,05) (Πίνακας 22).

Πίνακας 21: Θετικές και αρνητικές περιπτώσεις έκφρασης FOXN1 σε OKK με παρουσία και OKK χωρίς παρουσία επιθηλιακών νησίδων

Επιθηλιακά νησίδια	Θετικές περιπτώσεις	Αρνητικές περιπτώσεις
ΝΑΙ (n=10)	2(20%)	8 (80%)
ΟΧΙ (n=10)	4 (40%)	6 (60%)

Πίνακας 22 : Μέση τιμή της έκφρασης FOXN1 σε OKK με παρουσία και OKK χωρίς παρουσία επιθηλιακών νησίδων. Παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στη μέση τιμή της έκφρασης της πρωτεΐνης στην υπερβασική στιβάδα και το σύνολο του επιθηλίου ανάμεσα στις δύο «ομάδες» OKK (Mann-Whitney U test)

	Εντόπιση χρώσης	Επιθηλιακά νησίδια		
		Ναι (n=10)	Όχι (n=10)	
Μέση τιμή έκφρασης FOXN1	Βασική στιβάδα	0	0,4	p>0,05
	Υπερβασική στιβάδα	0,1	1,1	p=0,04*
	Σύνολο επιθηλίου	0,1	1,5	p=0,04*

*Στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα, p <0,05

2.3.5.2 Συσχέτιση έκφρασης FOXN1 με παρουσία έγκλειστου δοντιού σε ΟΟΚ

Στη σύγκριση ΟΟΚ σε σχέση με έγκλειστο δόντι και ΟΟΚ χωρίς έγκλειστο δόντι δεν προέκυψε στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα όσον αφορά στο ποσοστό θετικών και αρνητικών περιπτώσεων FOXN1 στις δύο αυτές υποομάδες ΟΟΚ (Fisher's exact test, $p > 0,05$) (Πίνακας 23). Αντιθέτως, η διαφορά στη μέση τιμή της έκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα στη βασική στιβάδα και στο σύνολο του επιθηλίου ανάμεσα στις δύο υποομάδες αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική (Mann-Whitney U test, $p < 0,05$) (Πίνακας 24).

Πίνακας 23: Θετικές και αρνητικές περιπτώσεις έκφρασης FOXN1 σε ΟΟΚ σε σχέση με έγκλειστο δόντι και ΟΟΚ χωρίς σχέση με έγκλειστο δόντι

Σχέση με έγκλειστο δόντι	Θετικές περιπτώσεις	Αρνητικές περιπτώσεις
ΝΑΙ (n=9)	6(66,67%)	3 (33,33%)
ΟΧΙ (n=7)	4 (57,14%)	3 (42,86%)

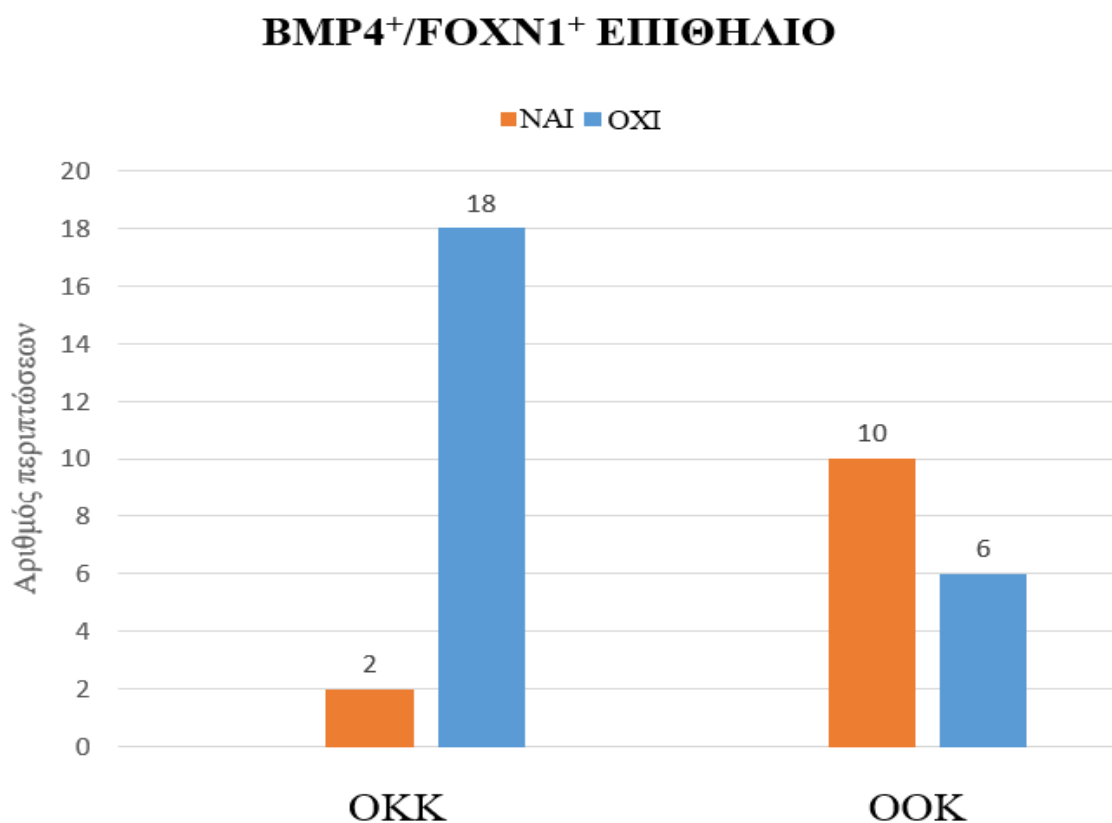
Πίνακας 24 : Μέση τιμή της έκφρασης FOXN1 σε ΟΟΚ σε σχέση με έγκλειστο δόντι και ΟΟΚ χωρίς σχέση με έγκλειστο δόντι. Παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην μέση τιμή της έκφρασης του FOXN1 σε βασική στιβάδα και στο σύνολο του επιθηλίου (Mann-Whitney U test)

	Εντόπιση χρώσης	Σχέση με έγκλειστο δόντι		
		Ναι (n=9)	Οχι (n=7)	
Μέση τιμή έκφρασης FOXN1	Βασική στιβάδα	0,56	2	p=0,023*
	Υπερβασική στιβάδα	1,11	2,14	p>0,05
	Σύνολο επιθηλίου	1,67	4,14	p=0,042*

*Στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα, $p < 0,05$

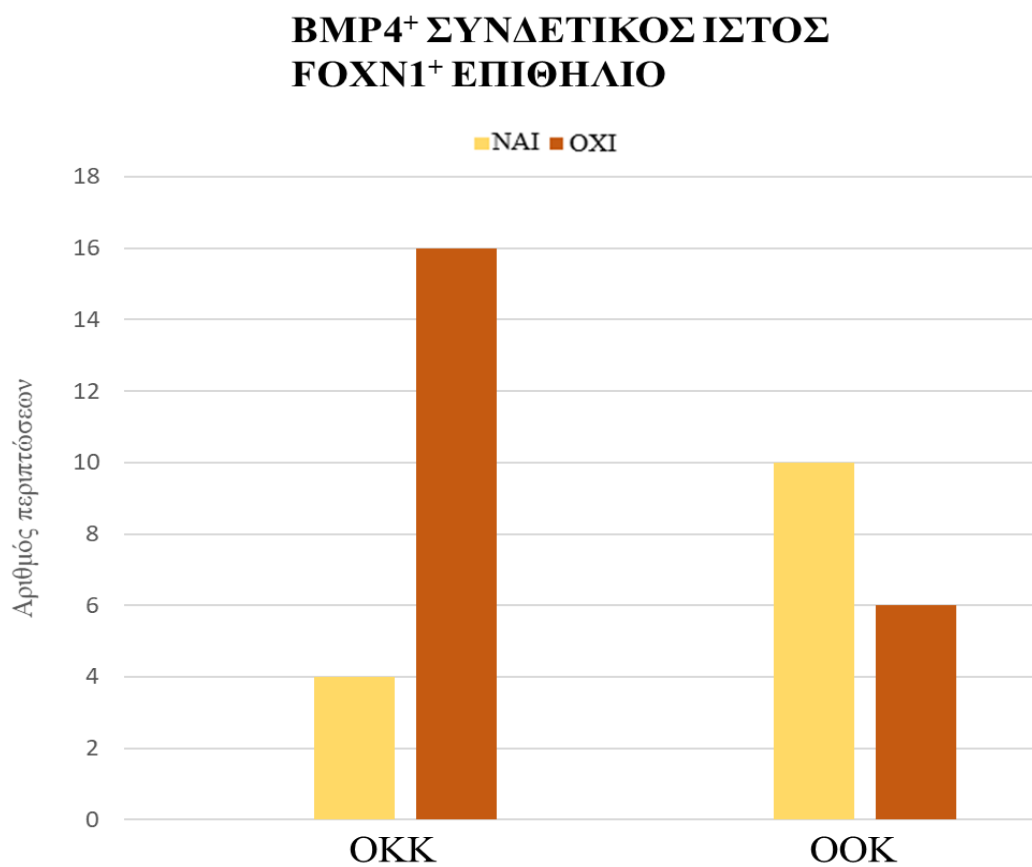
2.3.6 Συσχέτιση έκφρασης FOXN1 με την έκφραση BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό

Στο Γράφημα 13 φαίνονται οι περιπτώσεις στις οποίες υπήρχε ταυτόχρονη θετικότητα BMP4 και FOXN1 στο επιθήλιο ανά είδος βλάβης . Ο «διπλά θετικός» φαινότυπος BMP4-FOXN1 παρατηρήθηκε συχνότερα στο επιθήλιο των ΟΟΚ (62,5%), σε σχέση με τις ΟΚΚ (10%) , σε στατιστικά σημαντικό βαθμό (Chi square test, $p=0,0009$).



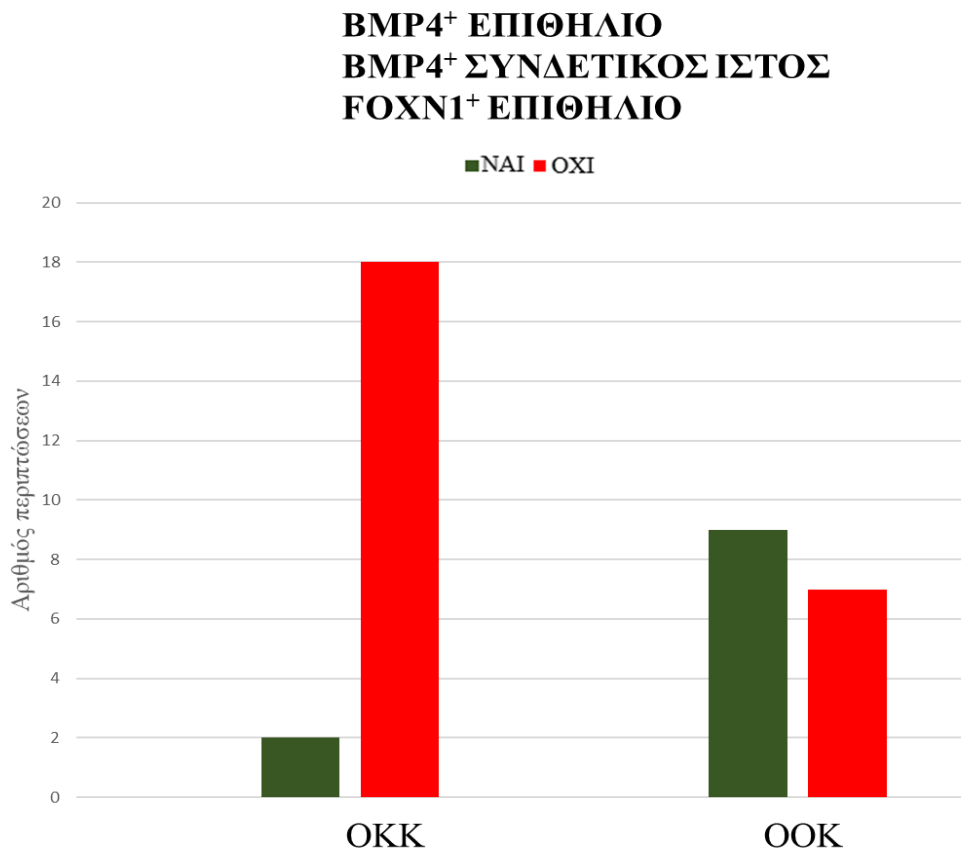
Γράφημα 13: Ραβδόγραμμα περιπτώσεων ταυτόχρονης θετικότητας BMP4-FOXN1 στο επιθήλιο των ΟΚΚ και ΟΟΚ.

Στο Γράφημα 14, φαίνονται οι περιπτώσεις ανά τύπο βλάβης στις οποίες υπήρχε ταυτόχρονη θετικότητα της BMP4 στο συνδετικό ιστό και του FOXN1 στο επιθήλιο. Συγκεκριμένα, σε 10/16 (62,5%) ΟΟΚ παρατηρήθηκε διπλή θετικότητα έναντι 4/20 (20%) ΟΚΚ. Και σε αυτή την περίπτωση, η διαφορά στο παρατηρούμενο ποσοστό, ανάμεσα στις δυο ομάδες, ήταν στατιστικά σημαντική, όταν αξιολογήθηκε με τη μέθοδο Pearson's Chi-squared ($p=0,009$).



Γράφημα 14: Ραβδόγραμμα περιπτώσεων ταυτόχρονης θετικότητας BMP4 στο συνδετικό ιστό και FOXN1 στο επιθήλιο των ΟΚΚ και ΟΟΚ.

Τέλος, η ταυτόχρονη θετικότητα της BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό, παράλληλα με θετικότητα του FOXN1 στο επιθήλιο των δύο ομάδων, παρατηρήθηκε σε ποσοστό 56,25% και 10%, σε ΟΟΚ και ΟΚΚ αντίστοιχα, με την διαφορά αυτή να αναδεικνύεται στατιστικά σημαντική (Fisher's exact test, $p=0,004$) (Γράφημα 15).

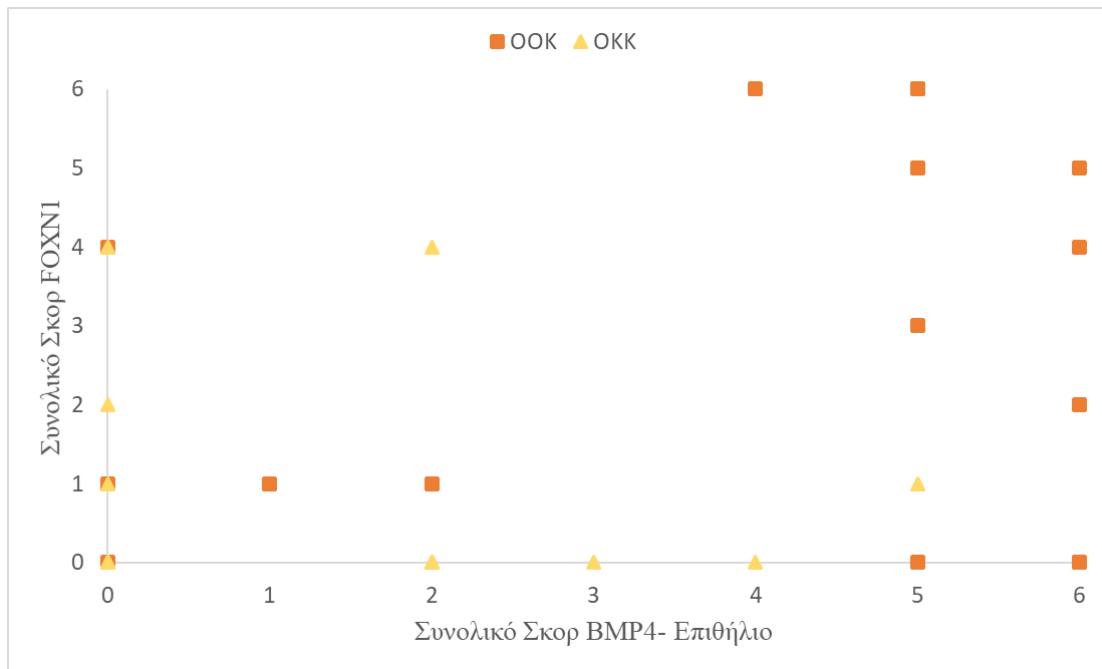


Γράφημα 15: Ραβδόγραμμα περιπτώσεων ταυτόχρονης θετικότητας BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό και FOXN1 στο επιθήλιο των ΟΚΚ και ΟΟΚ.

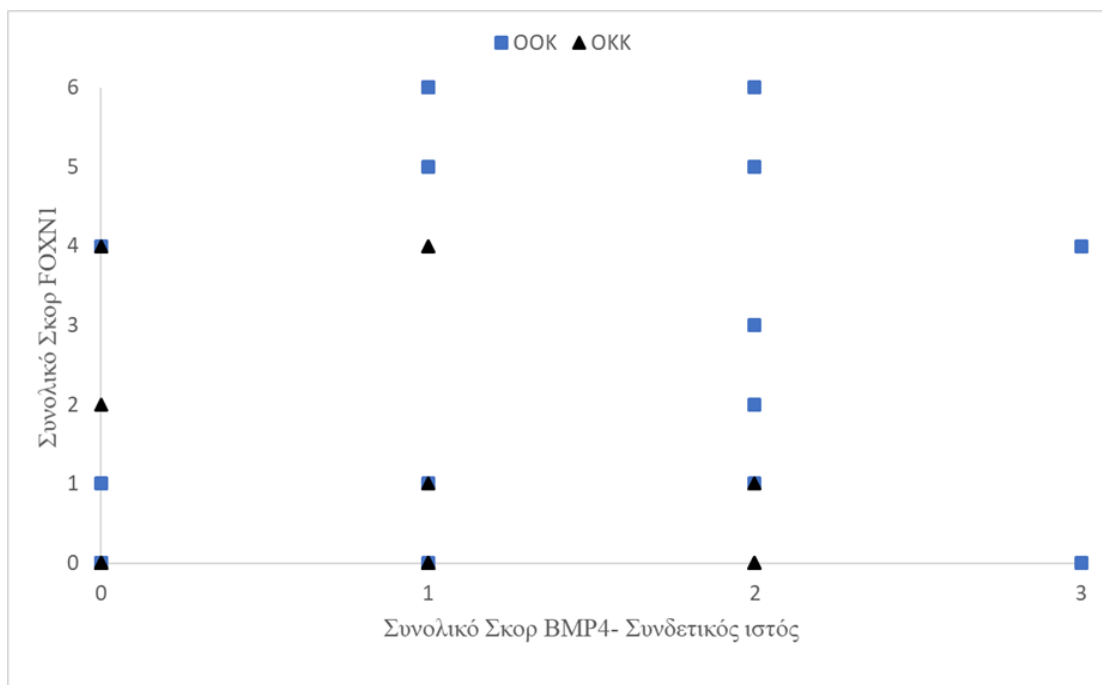
Η σχέση μεταξύ των ποσοτικών αποτελεσμάτων (σκορ) της έκφρασης του FOXN1 στο επιθήλιο (άξονας y) και των ποσοτικών αποτελεσμάτων της έκφρασης της BMP4 στο επιθήλιο (άξονας x) και για τις δύο ομάδες παρατίθεται οπτικά με διάγραμμα διασποράς στο Γράφημα 16.

Αντίστοιχα, η σχέση μεταξύ των ποσοτικών αποτελεσμάτων (σκορ) της έκφρασης του FOXN1 στο επιθήλιο (άξονας y) και των ποσοτικών αποτελεσμάτων της έκφρασης της BMP4 στο συνδετικό ιστό (άξονας x) παρατίθεται οπτικά με διάγραμμα διασποράς στο Γράφημα 17.

Και στις δύο περιπτώσεις, δεν φαίνεται να υπάρχει κάποια θετική ή αρνητική γραμμική ή/και μονοτονική σχέση ανάμεσα στο ποσοτικό αποτέλεσμα (σκορ) της έκφρασης του FOXN1 και των ποσοτικών αποτελεσμάτων (σκορ) της έκφρασης της BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό.



Γράφημα 16: Διάγραμμα διασποράς των ποσοτικών αποτελεσμάτων (σکور) της έκφρασης της BMP4 στο επιθήλιο (άξονας x) και των ποσοτικών αποτελεσμάτων (σکور) της έκφρασης του FOXN1 (άξονας y). Δεν αναδεικνύεται θετική ή αρνητική γραμμική ή/και μονοτονική συσχέτιση μεταξύ των δύο ομάδων



Γράφημα 17: Διάγραμμα διασποράς των ποσοτικών αποτελεσμάτων (σکور) της έκφρασης της BMP4 στο συνδετικό ιστό (άξονας x) και των ποσοτικών αποτελεσμάτων (σکور) της έκφρασης του FOXN1 (άξονας y). Δεν αναδεικνύεται θετική ή αρνητική γραμμική ή/και μονοτονική συσχέτιση μεταξύ των δύο ομάδων

IV.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε και συγκρίθηκε η έκφραση και η μικροανατομική κατανομή των μορίων BMP4 και FOXN1 σε Οδοντογενείς Κερατινοκύστεις σε σχέση με Ορθοκερατινοποιημένες Οδοντογενείς Κύστεις.

Ένα από τα κοινά χαρακτηριστικά των ΟΚΚ και ΟΟΚ (βλέπε εδάφιο **Σύγκριση ΟΚΚ με ΟΟΚ**), εκτός από το γεγονός ότι αποτελούν 2 ενδοστικές κυστικές βλάβες με παραγωγή κερατίνης, είναι η ιστολογική τους ομοιότητα με δομές και εξαρτήματα του καλυπτήριου συστήματος, όπως η ενδιάμεση των τριχοθυλακίων επιδερμίδα στην περίπτωση της ΟΟΚ, (interfollicular epidermis) και η τριχοσμηγματογόνος μονάδα (pilosebaceous unit) στην περίπτωση της ΟΚΚ (38, 96). Επίσης, ομοιότητα σε ιστολογικό και ανοσοϊστοχημικό επίπεδο παρατηρείται με κυστικές βλάβες δερματικής προέλευσης, ειδικότερα της ΟΟΚ με την επιδερμοειδή (επιδερμικού εγκλεισμού) κύστη και της ΟΚΚ με το στεατοκύστωμα [38, 96]. Παρά τα κοινά τους χαρακτηριστικά, οι ΟΚΚ και ΟΟΚ εμφανίζουν εκ διαμέτρου αντίθετη βιολογική συμπεριφορά, όπως αυτή διαφαίνεται από τις διαφορές στο ποσοστό υποτροπής, το ακτινογραφικό μέγεθος και την συχνότητα εμφάνισης πολλαπλών βλαβών [29, 132, 134].

Επιπροσθέτως, μελέτες ανοσοϊστοχημικής έκφρασης κυτοκερατινών δείχνουν ότι η ΟΟΚ εμφανίζει, τρόπον τινά, «φυσιολογική» κερατινοποίηση, με έναν ανοσοφαινότυπο ανάλογο με αυτόν του ορθοκερατινοποιημένου επιθηλίου της επιδερμίδας χαρακτηριζόμενη από CK5/CK14⁺ βασικά κερατινοκύτταρα και πλήρως διαφοροποιημένα CK1/CK10⁺ υπερβασικά κερατινοκύτταρα [96, 166]. Αντίθετα, στην ΟΚΚ, έχει δειχθεί ότι υπάρχει θετικότητα CK14 καθώς και άλλων κυτοκερατινών οι οποίες συνδέονται με υψηλή πολλαπλασιαστική δραστηριότητα των επιθηλιακών κυττάρων, όπως οι CK16, CK17, σε υπερβασική εντόπιση, καταδεικνύοντας πιθανή διαταραχή της φυσιολογικής κερατινοποίησης [96, 166, 347,

348], μια παρατήρηση η οποία έχει προταθεί ότι σχετίζεται με τις διαφορές στη βιολογική συμπεριφορά των δύο βλαβών [96, 166, 192].

Ο μεταγραφικός παράγοντας FOXN1 ρυθμίζει την τελική επιθηλιακή διαφοροποίηση στο δέρμα, μέσω επαγωγής της έκφρασης των CK1/CK10 και ελέγχου του ισοζυγίου πολλαπλασιασμού/διαφοροποίησης σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις στις οποίες συμμετέχουν κερατινοκύτταρα [320, 321, 335]. Η πρωτεΐνη BMP4 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην οδοντογένεση, επάγοντας τις επιθηλιο-μεσεγχυματικές διεργασίες οι οποίες απαιτούνται για την μετάβαση στο στάδιο του οδοντοβλαστήματος και τη δημιουργία της οδοντικής ταινίας στο αρχέγονο στοματικό επιθήλιο [252, 258]. Επίσης, φαίνεται ότι έχει ρόλο στην ρύθμιση του πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης τόσο των επιθηλιακών όσο και των μεσεγχυματικών κυττάρων είτε αναστέλλοντας το σηματοδοτικό μονοπάτι της πρωτεΐνης SHH είτε ρυθμίζοντας την έκφραση προ-αποπτωτικών μορίων, όπως το MSX2, «καθοδηγώντας» έτσι την ιστοδιαφοροποίηση των οδοντικών ιστών [262, 266]. Παρόμοιο ρόλο φαίνεται ότι διαδραματίζει στην εμβρυογένεση και ομοιόσταση νυχιών και τριχοθυλακίου, επάγοντας το MSX2 αλλά και τον FOXN1, τα οποία με τη σειρά τους συμβάλουν στην ωρίμανση των κερατινοκυττάρων και την έκφραση δομικών κερατινών στις δύο αυτές δομές [328, 329].

Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι: (α) ο άξονας BMP-FOXN1 συμμετέχει στην διαφοροποίηση επιθηλιακών κυττάρων στην επιδερμίδα και ελέγχει τη φυσιολογική έκφραση κυτοκερατινών και (β) σε δυσλειτουργία του παρατηρείται ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός, διαταραγμένη επιθηλιακή διαστρωμάτωση και «μετανάστευση» κυττάρων με χαρακτηριστικά βλαστοκυττάρων σε υπερβασικές θέσεις [327, 329, 342, 349], θεωρήθηκε σκόπιμο να αξιολογηθεί η έκφραση των BMP4 και FOXN1, συγκριτικά στις OKK και OOK.

Για τη μελέτη επιλέχθηκε η μέθοδος της ανοσοϊστοχημείας, με σκοπό τόσο τη συγκριτική αξιολόγηση της έκφραση των πρωτεϊνών στις δύο ομάδες βλαβών όσο και τη διερεύνηση της μικροανατομικής κατανομής τους στο επενδυτικό επιθήλιο των κύστεων [350, 351].

Με στόχο την αντικειμενικότερη αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης, τη μείωση της μεταβλητότητας της αξιολόγησης μεταξύ του ιδίου (intraobserver variability) και διαφορετικών παρατηρητών (interobserver variability) και του χρόνου εργασίας, επιλέχθηκε η χρήση αυτοματοποιημένου προγράμματος ανάλυσης εικόνας [351, 352]. Εξάλλου, οι περιορισμοί μετακινήσεων και η αποφυγή συγχρωτισμού που υπαγόρευσε η εν εξελίξει πανδημία του COVID19, ενίσχυσε ακόμα περισσότερο την ανάγκη απομακρυσμένης και γρήγορης μεθόδου αξιολόγησης των περιπτώσεων (remote digital pathology) [352, 353].

Με την χρήση του προγράμματος κατέστη εφικτός ο υπολογισμός του ποσοστού των θετικών κυττάρων στις 5 περιοχές ενδιαφέροντος οι οποίες αντιστοιχούσαν στις 5 περιοχές εντονότερης ανοσοϊστοχημικής χρώσης (areas of highest immunoreactivity) [346], για κάθε περίπτωση. Έτσι, έγινε με μεγαλύτερη ευκολία η αξιολόγηση της έκτασης της χρώσης με ημιποσοτική προσέγγιση [51].

Σχετικά με την παράμετρο της έντασης έχει αποδειχθεί ότι, όταν πραγματοποιείται χρήση εγκιβωτισμένων σε παραφίνη ιστών, είναι αρκετά συχνή η μείωση του σήματος της έντασης της χρώσης κατά αναλογία με το χρονικό διάστημα διατήρησης του ιστού, ειδικότερα όταν εξετάζονται πυρηνικά αντιγόνα [354, 355]. Με αυτό το δεδομένο και λόγω του αναδρομικού χαρακτήρα της μελέτης σε αρχειακό υλικό και της πρωτότυπης αξιολόγησης του FOXN1, επιλέχθηκε να μην γίνει αξιολόγηση της έντασης και δεν συμπεριλήφθηκε στο συνολικό αποτέλεσμα (σκορ) των

περιπτώσεων. Εν τέλει, και στα 2 προς μελέτη αντισώματα παρατηρήθηκε ομοιομορφία της έντασης της χρώσης η οποία ήταν, σχεδόν στο σύνολο των περιπτώσεων και των 2 ομάδων, ασθενούς χαρακτήρα. Το εύρημα αυτό επιβεβαίωσε εκ των υστέρων τη μη συμπερίληψη της έντασης της χρώσης στον αρχικό σχεδιασμό της μελέτης.

Οι μελέτες οι οποίες αξιολογούν ανοσοϊστοχημικούς δείκτες σε ΟΚΚ και ΟΟΚ με τη χρήση αυτοματοποιημένων προγραμμάτων ανάλυσης εικόνας είναι περιορισμένες ενώ σε ελάχιστες από αυτές περιγράφεται λεπτομερώς η μεθοδολογία ρύθμισης των παραμέτρων προετοιμασίας της εικόνας και των περιοχών ενδιαφέροντος και ο τρόπος αξιολόγησης της χρώσης [105, 188, 356-360]. Στην παρούσα εργασία, η μεθοδολογία και η διαδικασία ανάλυσης εικόνας με το πρόγραμμα ImagePro-Plus v6. 0. 0. 260 (Media Cybernetics, Rockville MD, USA) περιγράφεται βήμα προς βήμα με τη χρήση αντιπροσωπευτικών εικόνων σε μια προσπάθεια εγκαθίδρυσης μιας αυτοματοποιημένης και εύκολα αναπαραγωγίσιμης διαδικασίας αξιολόγησης ανοσοϊστοχημικής χρώσης στις εν λόγω οντότητες.

Το τελικό δείγμα της παρούσας μελέτης απετέλεσαν 20 ιστολογικά τεκμηριωμένες περιπτώσεις ΟΚΚ και 16 ιστολογικά τεκμηριωμένες περιπτώσεις ΟΟΚ [1]. Όσον αφορά στις ΟΚΚ, επιλέχθηκαν μόνο περιπτώσεις μη υποτροπιάζουσών (πρωτοπαθών) και μη συνδρομικών ΟΚΚ. Η εν λόγω επιλογή έγινε με γνώμονα το γεγονός ότι οι υποτροπιάζουσες και συνδρομικές ΟΚΚ εμφανίζουν διαφορετικό ιστολογικό, μοριακό και ανοσοϊστοχημικό προφίλ σε σχέση με τις πρωτοπαθείς μη συνδρομικές, σύμφωνα με αρκετές μελέτες, [67, 84, 361, 362], αν και το τελευταίο δεν έχει επαρκώς τεκμηριωθεί έως σήμερα [363]. Σε κάθε περίπτωση, λόγω του

πρωτοτύπου της μελέτης, επιλέχθηκε να αξιολογηθεί η έκφραση των δύο μορίων μόνο σε πρωτοπαθείς μη συνδρομικές ΟΚΚ.

Στο δείγμα των ΟΚΚ υπήρχε ελαφρά υπεροχή του ανδρικού φύλου (Α:Γ=1, 22) σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία αλλά και με το σύνολο των περιπτώσεων ΟΚΚ οι οποίες διαγνώστηκαν στο Εργαστήριο Στοματολογίας στο διάστημα 1980-2017, με την παρατηρούμενη αναλογία να είναι Α:Γ=1,3 [1, 29, 30]. Η μέση ηλικία των ασθενών με ΟΚΚ ήταν τα 50, 15 ± 14 , 05 έτη (εύρος: 24-81 έτη, διάμεση ηλικία: 49, 5 έτη), μέση ηλικία παρόμοια με αυτήν η οποία περιγράφεται ως το δεύτερο «ηλικιακό κύμα» της νόσου [1]. Το παραπάνω εύρημα θα μπορούσε να εξηγηθεί από το γεγονός ότι δεν συμπεριλήφθηκαν περιπτώσεις συνδρομικών ΟΚΚ οι οποίες, κατά κανόνα, εμφανίζονται σε νεότερες ηλικίες [32]. Όσον αφορά στην εντόπιση, η κάτω γνάθος υπερείχε της άνω και αναφερόταν στο 75% των περιπτώσεων, ποσοστό το οποίο συμφωνεί με τις περισσότερες μελέτες της βιβλιογραφίας [1, 29]. Το ποσοστό αυτό είναι ελαφρώς αυξημένο αλλά παραπλήσιο του ποσοστού των ΟΚΚ με εντόπιση την κάτω γνάθο (68,6%) το οποίο αναφέρεται σε πρόσφατη επιδημιολογική μελέτη οδοντογενών κύστεων στον Ελληνικό πληθυσμό [30]. Τέλος, σε 20% των περιπτώσεων υπήρχε συσχέτιση με έγκλειστο δόντι, με την «οδοντοφόρο» ποικιλία της ΟΚΚ να εμφανίζεται σε ποσοστό 25-52% στη βιβλιογραφία [29].

Λόγω της σπανιότητας της ΟΟΚ και με στόχο την ύπαρξη όσο δυνατόν μεγαλύτερου δείγματος, επιλέχθηκε το σύνολο των περιπτώσεων ΟΟΚ (N=16) στο διάστημα 2000-2018. Στο δείγμα υπήρξε «υπερεκπροσώπηση» του ανδρικού φύλου με 15/16 βλάβες σε άρρενες. Η μεγάλη αυτή διαφορά θα μπορούσε να αποδοθεί στην «αναγκαστική» επιλογή του συγκεκριμένου δείγματος (convenience sampling) [364]. Ωστόσο, σε επιδημιολογικές μελέτες σε ΟΟΚ αναφέρεται ότι το ανδρικό φύλο προσβάλλεται σε διπλάσια έως τριπλάσια συχνότητα από το γυναικείο ενώ παρόμοια «ευρεία»

υπεροχή των αρρένων έχει παρατηρηθεί στην πλειοψηφία των ερευνητικών μελετών με δείγμα ΟΟΚ [96,134,135]. Μάλιστα, σε πρόσφατη μελέτη η αναλογία ήταν 12 άνδρες προς 3 γυναίκες [365]. Η μέση ηλικία των ασθενών με ΟΟΚ στην παρούσα μελέτη ήταν τα 45,4±21, 2 έτη (εύρος: 12-81 έτη, διάμεσος: 41,5 έτη), με την πλειοψηφία των ασθενών να βρίσκονται στην 3^η ή 6^η δεκαετία σε συμφωνία με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας [134]. Η κάτω γνάθος προσβαλλόταν συχνότερα, εύρημα το οποίο επισημαίνεται στην πλειοψηφία των μελετών ΟΟΚ [1,134,135]. Τέλος, η παρατήρηση ότι οι ΟΟΚ εμφανίζονται συχνότερα σε σχέση με έγκλειστο δόντι [134] επιβεβαιώθηκε και στην παρούσα μελέτη στην οποία το 56,25% των βλαβών σχετιζόταν με έγκλειστο.

Για την ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της BMP4 ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε ο, προτεινόμενος από την εταιρεία η οποία προμήθευσε το αντίσωμα (Abcam Plc), ιστός και αντιστοιχούσε σε τομές πορογενούς καρκινώματος του μαστού. Η ορθότητα της χρώσης επιβεβαιώθηκε από την τοπογραφική εντόπιση της στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων του καρκινώματος, όπως αναφέρεται βιβλιογραφικά [344].

Κατά τη σύγκριση των ΟΚΚ/ΟΟΚ, παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση της BMP4 στο επιθήλιο της ΟΟΚ σε σχέση με την ΟΚΚ, τόσο σε ποιοτικό, δηλαδή στο ποσοστό θετικών περιπτώσεων, όσο και σε ποσοτικό επίπεδο, δηλαδή στα αποτελέσματα (σκορ) της έκτασης της χρώσης, σε βασική, υπερβασική στιβάδα και στο σύνολο του επιθηλίου. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των Kim και συν. [294] και Swarup και συν. [295] οι οποίοι ανέφεραν αυξημένη έκφραση της BMP4 στις ΟΚΚ σε σχέση με οδοντοφόρους κύστες και ποικίλα

οδοντογενή νεοπλάσματα αντίστοιχα . Οι συγκρίσεις, όμως, θα πρέπει να γίνονται με φειδώ καθότι εκτός από την συγκριτική αξιολόγηση της έκφρασης της BMP4 στην ΟΚΚ με διαφορετικές οντότητες από την παρούσα μελέτη, οι Kim και συν. [294] συμπεριέλαβαν στο δείγμα των ΟΚΚ 10 περιπτώσεις υποτροπιαζουσών βλαβών καθώς και περιπτώσεις με έντονη υποεπιθηλιακή φλεγμονή. Επίσης, οι Swarup και συν. [295] περιέγραψαν αποκλειστικά πυρηνική χρώση της πρωτεΐνης στο επιθήλιο των ΟΚΚ χωρίς, ωστόσο, η συγκεκριμένη ανοσοϊστοχημική εντόπιση να έχει αναφερθεί βιβλιογραφικά για την BMP4, είτε σε παθολογικές είτε σε φυσιολογικές καταστάσεις [292, 344].

Όπως έχει ήδη αναλυθεί στην εισαγωγή, η BMP4 εκφράζεται στο οδοντογενές επιθήλιο από τα πρώτα στάδια της οδοντογένεσης, ήδη από το στάδιο του πλακόδιου, και μέσω αλληλεπίδρασης με τα μονοπάτια SHH και Wnt, αρχικώς, επάγει την έκφραση της BMP4 στο οδοντογενές μεσέγγυμα η οποία με τη σειρά της συμβάλλει στη δημιουργία του πρωτογενούς αδαμαντινικού κόμβου (primary enamel knot) και τη διαφοροποίηση των οδοντοβλαστών και αδαμαντινοβλαστών [263, 264]. Σε επόμενα στάδια, μετά την δημιουργία των σκληρών οδοντικών ιστών, η πρωτεΐνη συμμετέχει στον έλεγχο της απόπτωσης των επιθηλιακών κυττάρων και την ομοιόσταση των οδοντικών βλαστοκυττάρων [263, 264].

Η χαμηλή ή απύσα έκφραση της BMP4 στο επενδυτικό επιθήλιο των ΟΚΚ στην παρούσα μελέτη συνηγορεί με τα αναφερόμενα στη βιβλιογραφία και, ενδεχομένως, σχετίζεται με την παθογένεση της βλάβης ως δηλωτική ποσοτικής ή ποιοτικής διαταραχής στην έκφραση της πρωτεΐνης. Ειδικότερα, η υπολειτουργία του μονοπατιού της BMP4 έχει αναφερθεί ως εναλλακτικός μηχανισμός αιτιοπαθογένειας της ΟΚΚ σε πειραματικά μοντέλα, συμπίπτοντας παράλληλα με την συνεχή ενεργοποίηση της SHH, ένα χαρακτηριστικό εύρημα στη μεγάλη πλειοψηφία των

OKK [12, 51, 296-298]. Στην αναπτυσσόμενη οδοντοφυΐα ποντικών, η BMP4 ρυθμίζει την έκφραση της SHH στο οδοντογενές επιθήλιο με δόσοεξαρτώμενο τρόπο [265, 266]. Άλλες πειραματικές μελέτες στο ίδιο είδος έχουν αποδείξει ότι, κατά τη διάπλαση των γομφίων, η διαταραχή της έκφρασης ή σηματοδότησης της BMP4 στο οδοντογενές επιθήλιο οδηγεί σε υπερέκφραση της SHH, γεγονός το οποίο δημιουργεί συνθήκες ανεξέλεγκτου πολλαπλασιασμού και αυξημένης δραστηριότητας των SOX2⁺ οδοντικών βλαστοκυττάρων [298]. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι τα SOX2⁺ βλαστοκύτταρα έχει προταθεί ότι συμμετέχουν στην παθογένεση της OKK [105, 123]. Επιπροσθέτως, τόσο οι Gao και συν. [296] όσο και οι Jiang και συν. [297] παρατήρησαν αδυναμία διάπλασης των γομφίων και παράλληλη δημιουργία κυστικών βλαβών όμοιων ιστολογικά με OKK σε διαγονιδιακά μοντέλα ποντικών στα οποία προκλήθηκε διαγραφή των SMADs, δηλαδή των ενδοκυττάρων διαμεσολαβητών του σήματος της BMP4, στο οδοντογενές επιθήλιο καθώς και στο μεσέγγυμα των πειραματόζων. Οι εν λόγω κυστικές βλάβες χαρακτηρίζονταν από υπερέκφραση μορίων-στόχων της SHH, όπως το GLI1 [296, 297]. Αν και δεν υπάρχουν ανάλογες μελέτες στο ανθρώπινο είδος ή/και στην μετεμβρυϊκή ζωή, είναι αποδεδειγμένο ότι τα υπολείμματα της οδοντικής ταινίας των ανθρώπων περιέχουν πληθυσμό αδρανών SOX2⁺ οδοντικών βλαστοκυττάρων [366], ο πολλαπλασιασμός των οποίων, όπως προαναφέρθηκε, ίσως, αποτελεί γενεσιουργό αίτιο των OKK [105,123].

Στο τριχοθυλάκιο, έναν ιστό ο οποίος φέρει κοινά ιστολογικά χαρακτηριστικά με την OKK [96] και κατά την διάπλαση του οποίου συντελούνται επιθήλιο-μεσεγγυματικές διεργασίες παρόμοιες με της οδοντογένεσης [108], η SHH δημιουργεί περιβάλλον το οποίο ευνοεί τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων μέσω παραγωγής αναστολέων της BMP4, όπως το Noggin [367]. Επιπροσθέτως, σε νεογέννητα

ποντίκια στα οποία χορηγήθηκε Noggin, παρατηρήθηκε αναστολή της διάπλασης του φατνιακού οστού και του περιοδοντίου και δημιουργία, κατά τους ερευνητές, «κύστεων με κερατίνη» χωρίς, ωστόσο, να γίνεται λεπτομερής ιστολογική ανάλυση των κύστεων και αναφορά αν υπήρχε, παράλληλα, αυξημένη έκφραση της SHH [368]. Τέλος, στο βασικοκυτταρικό καρκίνωμα, νεόπλασμα το οποίο χαρακτηρίζεται από υπερέκφραση της SHH και παρόμοια μοριακά και ανοσοϊστοχημικά χαρακτηριστικά με την OKK [362], συμβαίνει υπερέκφραση του BMP4 αναστολέα Gremlin 1 με αποτέλεσμα τη μείωση της επιθηλιακής BMP4 [369]. Τα ευρήματα αυτά, μάλιστα, συσχετίστηκαν με επιθετικότερο δυναμικό του βασικοκυτταρικού καρκινώματος, με το ρόλο, ωστόσο, άλλων σηματοδοτικών μονοπατιών να μην έχει πλήρως αποσαφηνισθεί σε αυτό το εύρημα [369].

Σε αντιδιαστολή, οι ΟΟΚ εκφράζουν BMP4 στο επιθήλιο σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με τις ΟΚΚ, εύρημα το οποίο, ενδεχομένως, υποδηλώνει ομαλή λειτουργία της BMP4 στο επιθήλιο των ΟΟΚ οδηγώντας σε επαρκή ρύθμιση της SHH αλλά και ομαλή κερατινοποίηση, αφού σε ορθοκερατινοποιημένα επιθήλια, όπως της επιδερμίδας, η BMP4 σχετίζεται με τη φυσιολογική κερατινοποίηση των ιστών [51,96, 254]. Τέλος, είναι ενδιαφέρον πως αυξημένη έκφραση BMP4 έχει αναφερθεί στον αδеноματωειδή οδοντογενή όγκο, μια βλάβη με συχνή σχέση με έγκλειστο δόντι [291, 292] ,ένα «χαρακτηριστικό» το οποίο παρατηρείται στην πλειοψηφία των ΟΟΚ και με μεγαλύτερη συχνότητα από ότι στις ΟΚΚ [134] . Το εύρημα αυτό, ίσως, οφείλεται στο γεγονός ότι η BMP4 αποτελεί κομβικής σημασίας μόριο για την παραγωγή των σκληρών οδοντικών ιστών και την ολοκλήρωση της διάπλασης των δοντιών [252, 259].

Σε αντίθεση με το επενδυτικό επιθήλιο, στο συνδετικό ιστό των δύο βλαβών δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην έκφραση της BMP4, αν και η μέση τιμή της έκφρασης στις ΟΟΚ ήταν μεγαλύτερη από την αντίστοιχη της ΟΚΚ. Παρότι στο δείγμα αποκλείστηκαν περιπτώσεις με έντονη φλεγμονή, σε ορισμένες από τις ΟΚΚ παρατηρήθηκαν διάσπαρτες εστίες φλεγμονωδών κυττάρων σε υποεπιθηλιακές περιοχές. Η θετικότητα BMP4 στις ΟΚΚ ανιχνεύθηκε, κατά βάση στα φλεγμονώδη κύτταρα τα οποία έχειδειχθεί ότι εκφράζουν την πρωτεΐνη [370], εναντιθέσει με τις ΟΟΚ στις οποίες η χρώση εντοπιζόταν κυρίως σε ατρακτοειδή κύτταρα του μεσγχύματος, συμβατά με ινοβλάστες. Περαιτέρω απόδειξη για το ρόλο της φλεγμονής στην έκφραση της BMP4 στις ΟΚΚ αποτελεί το γεγονός ότι, σε περιοχές έντονης φλεγμονώδους διήθησης όπου το επιθήλιο της ΟΚΚ έχανε τα χαρακτηριστικά του, υπήρχε διάχυτη θετική χρώση της πρωτεΐνης τόσο στο επιθήλιο όσο στο συνδετικό ιστό ενώ παρόμοια αποτελέσματα σημειώθηκαν στην εργασία των Kim και συν. [294]. Επίσης, η παρόμοια έκφραση της BMP4 στις δύο βλάβες στο συνδετικό ιστό, ίσως, να δηλώνει ότι ο τελευταίος, σε αντίθεση με το επιθήλιο, έχει, κυρίως, «υποστηρικτικό» ρόλο στις δύο βλάβες και δε συμμετέχει «ενεργά» στα διαφορετικά χαρακτηριστικά τους, μια θέση η οποία έχει υποστηριχθεί και σε άλλες μελέτες μορίων στο συνδετικό ιστό, κυρίως, της ΟΚΚ [371]. Αντιθέτως, παρατηρήθηκε πως ταυτόχρονη θετικότητα της BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό ή «διπλά θετικός» φαινότυπος BMP4 εμφανιζόταν συχνότερα στις ΟΟΚ σε σχέση με τις ΟΚΚ σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Όπως προαναφέρθηκε, η επιθηλιακή BMP4 είναι απαραίτητη για τη «μετάβαση» του οδοντογενούς δυναμικού από το επιθήλιο στο μεσέγχυμα, ένα γεγονός το οποίο σηματοδοτεί, παράλληλα, τη μετάβαση από το στάδιο του πλακοδίου (οδοντικής ταινίας) στο στάδιο του οδοντοβλαστήματος [263, 267] ενώ, σε επόμενα στάδια, υπάρχει διατήρηση της

έκφρασης της BMP4 στο μεσέγγυμα και στον πρωτοταγή αδαμαντινικό κόμβο, δηλαδή στο αναπτυσσόμενο οδοντογενές επιθήλιο [267, 273]. Λαμβάνοντας υπόψη τα προαναφερθέντα, η διπλή θετικότητα της BMP4 και στις δύο εντοπίσεις (επιθήλιο-μεσέγγυμα) στις ΟΟΚ, πιθανόν, υποδηλώνει προέλευση της βλάβης από μετέπειτα «στάδιο» από αυτό της οδοντικής ταινίας.

Τέλος, και στις δύο βλάβες φαίνεται να υπάρχει μέτρια συσχέτιση των ποσοτικών αποτελεσμάτων (σκορ) της έκφρασης της BMP4 στο επιθήλιο με τα αποτελέσματα (σκορ) της στο συνδετικό ιστό, υποδηλώνοντας δράση της πρωτεΐνης με αυτοκρινή και παρακρινή τρόπο (267, 291, 292). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και σε άλλες οδοντογενείς βλάβες, όπως τα αδαμαντινοβλαστώματα και οι αδеноματοειδείς οδοντογενείς όγκοι, ωστόσο, δεν έχει αποσαφηνισθεί αν η αλληλεπίδραση επιθηλίου-μεσεγγύματος μέσω της δράσης της BMP4 παίζει ρόλο στη βιολογική συμπεριφορά των βλαβών ή απλώς αποτελεί ένδειξη οδοντογενούς κυτταρικής διαφοροποίησης των βλαβών [291, 292]. Το ίδιο μπορεί να ειπωθεί και για την περίπτωση των ΟΚΚ / ΟΟΚ στις οποίες, όπως προαναφέρθηκε, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην έκφραση της πρωτεΐνης στο συνδετικό ιστό.

Με βάση τα παραπάνω ευρήματα: (α) η μη στατιστικά σημαντική διαφορά στην έκφραση της πρωτεΐνης στο τοίχωμα των ΟΚΚ/ΟΟΚ υποδηλώνει τον, μάλλον, «δευτερεύοντα» ρόλο τον οποίο έχει ο συνδετικός ιστός στις διαφορές στη βιολογική συμπεριφορά των δύο βλαβών, (β) η μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης ταυτόχρονης θετικότητας στο επενδυτικό επιθήλιο και τοίχωμα της ΟΟΚ οδηγεί στην υπόθεση ότι η εν λόγω βλάβη προέρχεται από στάδιο της οδοντογένεσης στο οποίο υπάρχει παράλληλη έκφραση BMP4 στο επιθήλιο και στο μεσέγγυμα, στάδιο μεθύτερο αυτού της οδοντικής ταινίας και (γ) η συσχέτιση ποσοτικά της έκφρασης της BMP4

σε επιθήλιο και τοίχωμα σε ΟΚΚ/ΟΟΚ επιβεβαιώνει την δράση της πρωτεΐνης με παρακρινή τρόπο, όπως σε άλλα οδοντογενή νεοπλάσματα, και την αλληλεπίδραση επιθηλίου-τοιχώματος και στις δύο βλάβες [291, 292]. Παρά όλα αυτά, δεν είναι εύκολο να καθοριστεί αν αυτή η αλληλεπίδραση παίζει ρόλο στις διαφορές του επιθετικού δυναμικού των δύο βλαβών, λόγω έλλειψης στοιχείων για πιθανές υποτροπές, κυρίως στις ΟΚΚ. Τέλος, την εξαγωγή συμπερασμάτων για το ρόλο της BMP4 στο συνδετικό ιστό δυσχεραίνει η ύπαρξη θετικά χρωσμένων φλεγμονωδών κυττάρων τα οποία εκφράζουν την πρωτεΐνη και, έστω και σε ήπιο βαθμό, βρίσκονται στο τοίχωμα των βλαβών .

Οι περισσότερες μελέτες για το FOXN1 βασίζονται σε μοριακές μεθόδους ανίχνευσης [335, 336, 339], ενώ λίγες χρησιμοποιούν ανοσοϊστοχημεία [333, 338]. Το αντίσωμα το οποίο χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη δεν έχει χρησιμοποιηθεί σε προηγούμενες μελέτες. Η επιβεβαίωση της ειδικότητας του έγινε μέσω της θετικής έκφρασης του σε τομές σμηγματορροϊκής κεράτωσης η οποία έχει δείχθει ότι φέρει υψηλό αριθμό FOXN1 mRNA μεταγράφων [335, 336] και προτείνεται ως θετικός μάρτυρας από την εταιρεία παραγωγής του αντισώματος. Τομές της ίδιας βλάβης είχαν χρησιμοποιηθεί ως θετικός μάρτυρας από τους Ishigami και συν. [338] σε μελέτη του ίδιου κλώνου αλλά διαφορετικής εταιρείας. Τόσο στο θετικό μάρτυρα, όσο και σε ορισμένες περιπτώσεις ΟΟΚ παρατηρήθηκε ταυτόχρονη πυρηνική και κυτταροπλασματική χρώση των κυττάρων, εύρημα το οποίο επισημάνθηκε και στην εργασία των Ishigami και συν. [338], με την κυτταροπλασματική εντόπιση να μην είναι αναμενόμενη. Αν και για την ερμηνεία του ευρήματος θεωρείται πιθανή η μη ειδική αναγνώριση άλλων επιτόπων (cross-reaction) στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων [372], θα πρέπει να σημειωθεί ότι

κυτταροπλασματική εντόπιση έχει αναφερθεί και σε άλλους Forkhead box παράγοντες στο πλαίσιο παθολογικών διεργασιών [373-375]. Επιπροσθέτως, όπως θα αναλυθεί και παρακάτω, ο FOXN1 έχει προταθεί ότι δρα παρακρινώς σε γειτονικά κύτταρα [317], μια παρατήρηση η οποία, ίσως, δικαιολογεί την εντόπιση του, σε σπάνιες περιπτώσεις, στο κυτταρόπλασμα.

Μέχρι σήμερα, η μόνη αναφορά έκφρασης του FOXN1 σε οδοντογενείς ιστούς είναι από τους Lee και συν. [316] οι οποίοι χρησιμοποιώντας γονίδιο-ανταποκριτή (reporter gene) του παράγοντα σε νεογέννητα ποντίκια ανέφεραν έκφραση του μορίου στα οδοντικά σπέρματα και στο αναπτυσσόμενο επιθήλιο γλώσσας και υπερώας, την 15^η εμβρυϊκή μέρα η οποία, στα στάδια της οδοντογένεσης, αντιστοιχεί στη μετάβαση από το στάδιο του κυπέλλου σε αυτό του κώδωνα. Η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη εργασία διερεύνησης της έκφρασης του μορίου σε οδοντογενείς βλάβες, και δη σε οδοντογενείς βλάβες με παραγωγή κερατίνης, όπως η ΟΟΚ και η ΟΟΚ.

Το ποσοστό FOXN1 θετικών περιπτώσεων καθώς και η μέση τιμή της έκφρασης του παράγοντα ήταν μεγαλύτερα στις ΟΟΚ σε σχέση με τις ΟΚΚ σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στην παρούσα μελέτη. Η υψηλότερη έκφραση του FOXN1, τόσο στη βασική όσο και στην υπερβασική στιβάδα στις ΟΟΚ σε σχέση με τις ΟΚΚ, καταδεικνύει την ύπαρξη στις πρώτες μεγαλύτερου αριθμού κυττάρων τα οποία έχουν σταματήσει να διαιρούνται και έχουν περιέλθει σε «μετα-μιτωτική» κατάσταση (post-mitotic stage) προς πλήρη διαφοροποίηση [316, 317]. Σύμφωνα με τους Prowse και συν. [317], τα FOXN1 θετικά κύτταρα της υπερβασικής στιβάδας της επιδερμίδας, φαίνεται ότι, εκτός από το να «μεταφέρονται» από φάση διαίρεσης σε φάση τελικής διαφοροποίησης, έχουν την ικανότητα να διεγείρουν προγονικά κύτταρα της βασικής στιβάδας ώστε αρχικά να πολλαπλασιαστούν και στη συνέχεια να διαφοροποιηθούν.

Είναι πιθανό, λοιπόν, μια παρόμοια «διαδικασία» να επισυμβαίνει στις ΟΟΚ και να οδηγεί στην υψηλότερη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων της, συγκριτικά με τις ΟΚΚ.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το εύρημα ότι οι ΟΟΚ χωρίς σχέση με έγκλειστο δόντι είχαν υψηλότερη μέση τιμή έκφρασης του FOXN1 από τις «οδοντοφόρες» ΟΟΚ στη βασική στιβάδα και το σύνολο του επιθηλίου, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό, αν και θα πρέπει να σημειωθεί ο μικρός αριθμός περιπτώσεων στις δύο αυτές «ομάδες» ΟΟΚ. Η εν λόγω παρατήρηση, ίσως, να υποδεικνύει την ύπαρξη δύο διαφορετικών «τύπων» ΟΟΚ: μιας «κλασικής» οδοντογενούς η οποία σχετίζεται με έγκλειστο δόντι, της αναφερόμενης στη βιβλιογραφία και ως «οδοντοφόρου κύστης με ορθοκερατινοποίηση» [129] και μιας «ενδοστικής επιδερμοειδούς» ποικιλίας η οποία δε σχετίζεται με έγκλειστο και φέρει ομοιότητες με την επιδερμοειδή και δερμοειδή κύστη [166, 192]. Σε κάθε περίπτωση, είναι αναγκαίες περισσότερες μελέτες πάνω στον ανοσοφαινότυπο της ΟΟΚ και τη σχέση της με την επιδερμίδα και την επιδερμοειδή κύστη για την αποσαφήνιση της θεωρίας περί «ενδοστικής επιδερμοειδούς κύστης» [96,147,192].

Κατά τη διάπλαση του θύμου αδένου, η έκφραση του FOXN1 αναστέλλεται από τη SHH [326] στα θυμικά επιθηλιακά κύτταρα, με παρόμοιο μηχανισμό να «δικαιολογεί», πιθανόν, τη χαμηλή έκφραση του FOXN1 στις ΟΚΚ, λαμβάνοντας ως δεδομένο ότι στην πλειοψηφία των ΟΚΚ υπάρχει συνεχής ενεργοποίηση του μονοπατιού της SHH και των γονιδίων-στόχων αυτής [362]. Επιπροσθέτως, στην περίπτωση των σημηματοροϊκών κερατώσεων έχει αποδειχθεί ανασταλτική δράση των μονοπατιών EGF-EGFR και MAPK/ERK στο FOXN1 [335]. Στην εργασία των Ramadoss και συν. [196] παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση του EGFR σε ΟΚΚ με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας ενώ σε μελέτες μεταγραφώματος της ΟΚΚ έχει

επισημανθεί αυξημένη ενεργοποίηση του μονοπατιού MAPK/ERK στην εν λόγω βλάβη [124]. Κατά συνέπεια, η χαμηλή έκφραση του FOXN1 ίσως οφείλεται σε υψηλή δραστηριότητα των προαναφερθέντων μονοπατιών στην ΟΚΚ. Θα πρέπει να σημειωθεί, ωστόσο, ότι σε μικρό αριθμό των ΟΚΚ παρατηρήθηκε υψηλή έκφραση του παράγοντα στην υπερβασική στιβάδα. Πιθανές θεωρίες για αυτό το εύρημα είναι:

α) μέσω της θετικότητας του FOXN1 να «καθρεφτίζεται» η κατεύθυνση ορισμένων από τις ΟΚΚ από ένα φαινότυπο οδοντογενών επιθηλιακών κυττάρων σε ένα φαινότυπο κερατινοκυττάρων, παρόμοιων με αυτών της επιδερμίδας ή του αρχέγονου στοματικού επιθηλίου [123].

β) να υποδηλώνεται, σε ορισμένες από τις ΟΚΚ, η ύπαρξη ικανού αριθμού «διαφοροποιημένων» επιθηλιακών κυττάρων, ένα εύρημα το οποίο, ίσως, σχετίζεται με ευνοϊκότερη βιολογική συμπεριφορά όπως στην περίπτωση δερματικών νεοπλασμάτων [335, 338]. Προς αυτή την κατεύθυνση, με δεδομένη την έλλειψη πληροφοριών για την ύπαρξη υποτροπών στις περιπτώσεις ΟΚΚ, έγινε συγκριτική αξιολόγηση της έκφρασης του FOXN1 σε ΟΚΚ ανάλογα με την παρουσία ή όχι ιστολογικών ευρημάτων τα οποία έχουν συσχετισθεί βιβλιογραφικά με υποτροπή, όπως η παρουσία επιθηλιακών νησιδίων ή/και θυγατρικών κύστεων στο τοίχωμα και επιθηλιακών εκβλαστήσεων [68, 84, 133]. Αυτό πραγματοποιήθηκε ως μια προσπάθεια έμμεσης συσχέτισης της έκφρασης του μεταγραφικού παράγοντα με την βιολογική συμπεριφορά των ΟΚΚ. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ΟΚΚ χωρίς παρουσία επιθηλιακών νησιδίων στο συνδετικό ιστό εμφάνιζαν υψηλότερη έκφραση του παράγοντα, σε ποσοτικό επίπεδο, συγκριτικά με ΟΚΚ με παρουσία νησιδίων, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό. Πέρα από το μειονέκτημα της χρήσης «έμμεσων» ιστολογικών δεικτών του επιθετικού δυναμικού των ΟΚΚ, ο χαμηλός αριθμός

FOXN1 θετικών περιπτώσεων στο δείγμα των ΟΚΚ περιορίζει τη δυνατότητα ακριβέστερης αξιολόγησης του ρόλου του παράγοντα σε αυτή την ομάδα βλαβών.

Η ανίχνευση του FOXN1, κυρίως, στις ΟΟΚ αλλά και σε ορισμένες ΟΚΚ καθώς και η διαφορά στην έκφραση του παράγοντα ανάμεσα σε ΟΟΚ χωρίς έγκλειστο δόντι και ΟΟΚ σε σχέση με έγκλειστο, γεννά ερωτήματα σχετικά με την ακριβή προέλευση των ΟΚΚ, ΟΟΚ, όπως αναφέρθηκε και στα παραπάνω εδάφια. Με δεδομένη τη θετικότητα του FOXN1 στην επιδερμίδα αλλά και το στοματικό επιθήλιο σε νεογέννητα ποντίκια [316], μια πιθανή θεωρία για την ανίχνευση του σε ενδοστικές βλάβες, είναι να συμβαίνει, σε αρχικά στάδια της εμβρυογένεσης, «παγίδευση» υπολειμμάτων του στοματικού εξωδέρματος εντός των γνάθων κατά την διάπλαση των τελευταίων. Στη συνέχεια, αυτά τα υπολείμματα, κάτω από άγνωστα ερεθίσματα, βλαστάνουν και δίνουν γένεση στις κύστεις. Αυτή είναι η επικρατούσα θεωρία για την αιτιοπαθογένεια των πολύ σπάνιων ενδοστικών δερμοειδών κύστεων [376, 377]. Υπέρ αυτής της θεωρίας είναι η αναφορά ολιγάριθμων περιπτώσεων ΟΚΚ,ΟΟΚ με παρουσία εξαρτημάτων του δέρματος στο τοίχωμα και παρουσίας μελανίνης στο επενδυτικό επιθήλιο [73, 147, 375] και η παρόμοια ιστολογική εικόνα και ανοσοφαινότυπος των ΟΟΚ, και λιγότερο των ΟΚΚ, με κυστικές βλάβες τις επιδερμίδας [192]. Αντίθετα, αυτή η συλλογιστική δεν μπορεί να δικαιολογήσει τις περιπτώσεις ΟΚΚ/ΟΟΚ οι οποίες αναπτύσσονται σε σχέση με έγκλειστα δόντια και τη συνύπαρξη ΟΚΚ/ΟΟΚ με άλλα, αμιγώς οδοντογενή νεοπλάσματα, όπως το αδαμαντινοβλάστωμα και το οδόντωμα και έτσι η προέλευση των 2 αυτών κυστικών βλαβών από οδοντογενή υπολείμματα έχει θεωρηθεί, έως τώρα, η επικρατέστερη [96,143, 378].

Ο καθορισμός της σχέσης BMP4-FOXN1 σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις έχει πραγματοποιηθεί, κατά κύριο λόγο, με πειραματικά μοντέλα αποσιώπησης ενός εκ των δύο μορίων σε πειραματόζωα και αξιολόγησης της έκφρασης του άλλου μορίου [327, 328] και, δευτερευόντως, με ταυτόχρονη ανίχνευση των 2 μορίων σε θυμικά επιθηλιακά κύτταρα, με μεθόδους κυτταρομετρίας ροής ή ανοσοφθορισμού [323, 326].

Στην παρούσα μελέτη, μια αδρή εκτίμηση της σχέσης των δύο μορίων δίνεται από:

- α) το ποσοστό περιπτώσεων διπλής θετικότητας και των 2 μορίων στο επιθήλιο των βλαβών,
- β) το ποσοστό περιπτώσεων ταυτόχρονης θετικότητας της BMP4 στο συνδετικό ιστό και του FOXN1 στο επιθήλιο, και τέλος
- γ) το ποσοστό περιπτώσεων ενός «τριπλά θετικού» φαινότυπου, με ταυτόχρονη θετικότητα της BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό και του FOXN1 στο επιθήλιο.

Το ποσοστό και των 3 «κατηγοριών» ήταν μεγαλύτερο στις ΟΟΚ σε σχέση με τις ΟΚΚ, σε στατιστικά σημαντικό βαθμό.

Αν και, αναμφίβολα, ο μικρός αριθμός περιπτώσεων περιορίζει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων, φαίνεται ότι ο άξονας BMP4-FOXN1 είναι πιο «ενεργός» στην περίπτωση των ΟΟΚ οδηγώντας σε μεγαλύτερη ωρίμανση των επιθηλιακών της κυττάρων και κατά συνέπεια σε ηπιότερη βιολογική συμπεριφορά σε σχέση με την ΟΚΚ.

Η παράλληλη έκφραση της BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό και του FOXN1 στο επιθήλιο των ΟΟΚ προσομοιάζει τις διεργασίες φυσιολογικής ρύθμισης των κυτοκερατινών από τα δύο μόρια, όπως αυτή πραγματοποιείται στην περίπτωση του

τριχοθυλακίου και της επιδερμίδας [379]. Σε αυτούς τους ιστούς, η επιθηλιο-μεσεγγυματική αλληλεπίδραση της BMP4 είναι απαραίτητη για την επαγωγή του FOXN1 και την έναρξη της διαφοροποίησης των κερατινοκυττάρων [379].

Σε διαγονιδιακά μοντέλα ποντικών στα οποία έγινε αναστολή της έκφρασης της BMP4 σε επιθήλιο και μεσέγγυμα στο τριχοθυλάκιο, παρατηρήθηκε υποέκφραση του FOXN1 στο επιθήλιο και αυξημένος κυτταρικός πολλαπλασιασμός με συνεχή ενεργοποίηση της SHH στα επιθηλιακά κύτταρα του στελέχους της τρίχας, επιβεβαιώνοντας, και σε αυτούς τους ιστούς, τον καίριο ρόλο της BMP4 στη ρύθμιση του σηματοδοτικού μονοπατιού της SHH καθώς και στην επαγωγή του FOXN1 [349]. Επιπροσθέτως, κατά την διάπλαση του θύμου αδένος, η φυσιολογική έκφραση της BMP4 έχει «προστατευτικό» ρόλο στα κύτταρα τα οποία εκφράζουν FOXN1 από την κατασταλτική δράση της SHH [326]. Συνδυάζοντας τα παραπάνω δεδομένα, η υπολειτουργία του άξονα BMP4-FOXN1 στις OKK, ίσως, έχει ως αποτέλεσμα τον ελλειμματικό έλεγχο της δραστηριότητας της SHH οδηγώντας, παράλληλα, σε υψηλό πολλαπλασιαστικό δυναμικό και διαταραχή της κερατινοποίησης.

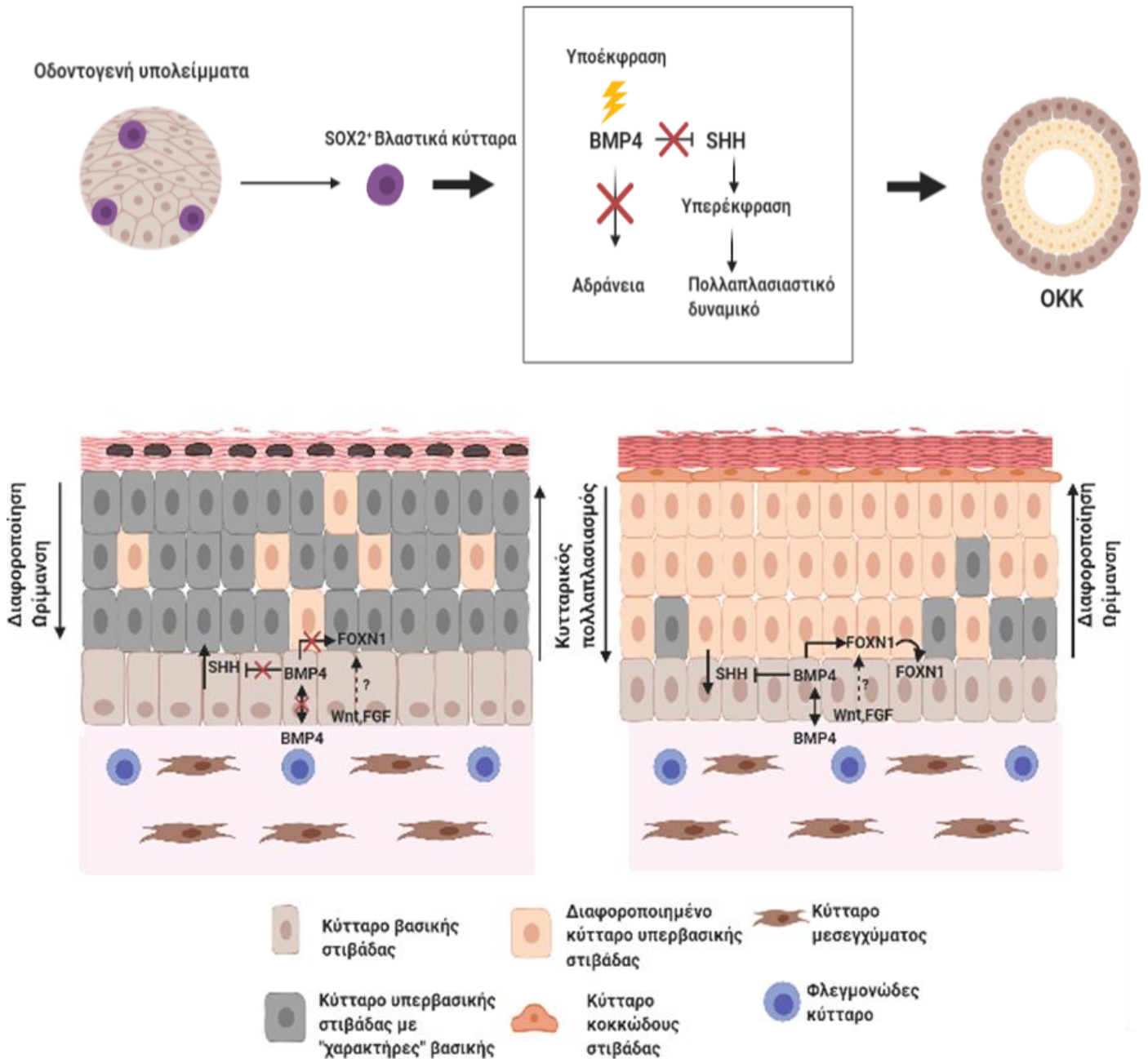
Τέλος, η αξιολόγηση συσχέτισης των ποσοτικών αποτελεσμάτων (σκορ) της έκφρασης της BMP4 στο επιθήλιο και συνδετικό ιστό και του FOXN1 στο επιθήλιο, δεν ανέδειξε κάποια γραμμική ή μονοτονική σχέση σε κάποια από τις δύο ομάδες, αν και στην περίπτωση των OKK υπήρχε χαμηλό αριθμός θετικών περιπτώσεων.

Μολονότι δεν υπάρχουν ενδείξεις περί δόσοεξαρτώμενης σχέσης της έκφρασης της BMP4 με αυτή του FOXN1 [326, 328], δεν μπορεί να αποκλειστεί το γεγονός ότι η έκφραση του FOXN1 επηρεάζεται κι από εναλλακτικά μονοπάτια τα οποία έχει δείχθει ότι επάγουν τον παράγοντα σε δέρμα και θύμο, όπως αυτά του Wnt και του FGF [325, 337]. Και τα δύο μόρια έχουν αξιολογηθεί σε OKK αλλά όχι συγκριτικά με OOK [361, 380, 381]. Συνεπώς, απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση της δράσης τους

στις δύο βλάβες και της ύπαρξης ή όχι σχέσης με τον FOXN1. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι έχει αποδειχθεί συνεργική δράση της BMP4 στο αναπτυσσόμενο μεσέγχυμα και των μορίων Wnt και FGF στο επιθήλιο κατά την διάπλαση της επιδερμίδας [254].

Συνοψίζοντας και συνδυάζοντας τα ευρήματα της παρούσας μελέτης με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, θεωρείται πιθανόν πως η έκφραση της BMP4 δρα ως «διακόπτης» στο ισοζύγιο πολλαπλασιασμού-διαφοροποίησης των επιθηλιακών βλαστοκυττάρων τα οποία υπάρχουν σε οδοντογενή υπολείμματα. Σε καταστάσεις, δηλαδή, χαμηλής ή απύσας έκφρασης της BMP4 επέρχεται αδυναμία ρύθμισης της SHH με αποτέλεσμα τη συνεχή της ενεργοποίηση και επακόλουθο τον πολλαπλασιασμό των SOX2⁺ οδοντικών βλαστοκυττάρων και τη δημιουργία ΟΚΚ (Εικόνα 47Α). Αντίθετα, στις ΟΟΚ η αυξημένη έκφραση της BMP4 στο επιθήλιο, αφενός καταστέλλει την δραστηριότητα της SHH μειώνοντας το πολλαπλασιαστικό δυναμικό των κυττάρων και αφετέρου επάγει την έκφραση του FOXN1 οδηγώντας τα επιθηλιακά κύτταρα σε πρόγραμμα τελικής διαφοροποίησης (Εικόνα 47Β). Έτσι, η συχνότερη «ενεργοποίηση» του μονοπατιού BMP4-FOXN1 στις ΟΟΚ σε σχέση με τις ΟΚΚ, ενδεχομένως, σχετίζεται με τις διαφορές στην ωρίμανση και διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων ανάμεσα στις δύο βλάβες. Σε φυσιολογικές διεργασίες έκφρασης κυτοκερατινών, η αλληλεπίδραση της επιθηλιακής και μεσεγχυματικής BMP4 αποτελεί την κύρια επαγωγική διαδικασία για την έκφραση του FOXN1, ωστόσο, δεν μπορεί να αποκλειστεί η επαγωγή του και από άλλα σηματοδοτικά μονοπάτια στην περίπτωση των οδοντογενών βλαβών, σε συνέργεια ή όχι με την BMP4.

A



Εικόνα 47: Σχηματική απεικόνιση Α) του πιθανού ρόλου της BMP4 στην αιτιοπαθογένεια των OKK Β) των διαφορών OKK/OOK σε συνάφεια με την ενδεχόμενη ενεργοποίηση ή όχι του μονοπατιού BMP4-FOXN1.

Στα μειονεκτήματα της παρούσας μελέτης συγκαταλέγονται:

α) ο σχετικά μικρός αριθμός ΟΚΚ και ΟΟΚ, γεγονός που δυσχεραίνει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων, κυρίως όσον αφορά πιθανή σχέση της έκφρασης των 2 αντισωμάτων με επιμέρους χαρακτηριστικά των βλαβών, όπως η παρουσία έγκλειστου ή συγκεκριμένων ιστολογικών παραμέτρων. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι στο δείγμα των ΟΚΚ δεν πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση πιθανών διαφορών στην έκφραση των 2 πρωτεϊνών ανάμεσα σε ΟΚΚ χωρίς έγκλειστο δόντι και ΟΚΚ με έγκλειστο, όπως έγινε στην περίπτωση των ΟΟΚ, λόγω του μικρού αριθμού των «οδοντοφόρων» ΟΚΚ (4/20 περιπτώσεις). Σημειώνεται, ωστόσο, πως αυτή η σύγκριση δεν αποτελούσε σκοπό της μελέτης.

β) ο αναδρομικός χαρακτήρας της μελέτης ο οποίος είχε ως αποτέλεσμα την έλλειψη πληροφοριών σχετικά με την έκβαση των βλαβών και, κυρίως, πιθανές υποτροπές. Έτσι, οποιαδήποτε συσχέτιση της έκφρασης των πρωτεϊνών με τη βιολογική συμπεριφορά, κατά βάση της ΟΚΚ, έγινε με έμμεσους δείκτες, όπως ιστολογικά ευρήματα τα οποία έχουν συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο υποτροπής [68, 84, 133].

Ο ρόλος της BMP4 και του γονιδίου-στόχου της FOXP1 στην παθογένεση των ΟΚΚ/ΟΟΚ υποδηλώνει συμμετοχή τους στην οδοντογένεση ή/και σε οδοντογενείς παθολογίες η οποία θα μπορούσε να τεκμηριωθεί περαιτέρω με χρήση μεθόδων ανάλυσης της γονιδιακής έκφρασης και του μεταγραφώματος των 2 μορίων και με τη χρήση μεθόδων βιοπληροφορικής. Παράλληλα, με παρόμοιες μεθόδους θα ήταν δυνατή και η ταυτοποίηση άλλων μορίων τα οποία δρουν συνεργικά ή ανταγωνιστικά με τον άξονα BMP4-FOXP1 στην οδοντογένεση/οδοντογενείς βλάβες.

Τα τελευταία χρόνια, μέσω «χειραγώγησης» συγκεκριμένων μεταγραφικών παραγόντων, έχει αναδειχθεί η δυνατότητα των οδοντικών βλαστοκυττάρων να διαφοροποιούνται προς κύτταρα της επιδερμίδας, του τριχοθυλακίου και άλλων τύπων επιθήλια [382-384]. Επιπροσθέτως, ο FOXN1 έχει θεμελιώδη ρόλο στον επαναπρογραμματισμό («reprogramming») ινοβλαστών σε θυμικά επιθηλιακά κύτταρα [341] και σε διεργασίες οι οποίες οδηγούν στην αναγέννηση του θυλακίου της τρίχας [328] ενώ συμμετοχή σε επαναπρογραμματισμό βλαστικών κυττάρων έχει αναφερθεί και για την BMP4 [385]. Με βάση τα παραπάνω, οι OKK/ OOK, ίσως, αποτελούν ένα ιδανικό *in vivo* βιολογικό μοντέλο για την μελέτη πιθανής συμμετοχής του άξονα BMP4-FOXN1 σε επαναπρογραμματισμό οδοντικών ιστών/βλαστοκυττάρων, οδηγώντας τα προς διαφοροποίηση σε άλλους μη-οδοντογενείς ιστούς. Επεκτείνοντας τον παραπάνω συλλογισμό, χρήζει διερεύνησης εάν οι OOK/OKK μπορούν να αποτελέσουν μια «δεξαμενή» απομόνωσης βλαστικών κυττάρων, όπως οι ακρορριζικές κύστες [386]. Εφόσον αυτό καταστεί δυνατό, η μελέτη των ιδιοτήτων και χαρακτηριστικών αυτών των βλαστικών κυττάρων ενδέχεται να ανοίξει νέες προοπτικές στο πεδίο της αναγεννητικής ιατρικής/μηχανικής ιστών.

Τέλος, η χορήγηση εξωγενούς ανασυνδυασμένης BMP4 σε σειρές κυττάρων γλοιοβλαστώματος, ενός κακοήθους νεοπλάσματος το οποίο χαρακτηρίζεται από χαμηλή διαφοροποίηση και ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό, είχε ως αποτέλεσμα την επαγωγή των κυττάρων προς έναν πιο «καλοήγη», διαφοροποιημένο φαινότυπο και μείωση του επιθετικού δυναμικού των βλαβών [299]. Αυτό το εύρημα οδήγησε τους ερευνητές στον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της χορήγησης ανασυνδυασμένης μορφής της πρωτεΐνης σε ασθενείς με υποτροπιάζον γλοιοβλάστωμα μέσω κλινικών μελετών [300]. Με δεδομένο το ότι η χειρουργική αντιμετώπιση της OKK μπορεί να

προκαλεί αυξημένη νοσηρότητα, λόγω τοπικά επιθετικής βιολογικής συμπεριφοράς, η αντιμετώπισή τους με χορήγηση εξωγενούς BMP4 θα αποτελούσε μία επιλογή.

V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Η BMP4 εκφράζεται σε υψηλότερο βαθμό στο επιθήλιο της ΟΟΚ σε σχέση με την ΟΚΚ, ένα στατιστικά σημαντικό εύρημα. Αντιθέτως, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη σύγκριση της έκφρασης της πρωτεΐνης στο συνδετικό ιστό των 2 βλαβών.
2. Η έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα FOXP1 στο επιθήλιο της ΟΟΚ είναι υψηλότερη σε σχέση με την ΟΚΚ, με το αποτέλεσμα αυτό να αναδεικνύεται στατιστικά σημαντικό
3. Η χαμηλή ή απύσα έκφραση της BMP4 στην ΟΚΚ, πιθανόν, σχετίζεται με την παθογένεση της βλάβης, ως δηλωτική ποσοτικής ή ποιοτικής διαταραχής στην έκφραση της πρωτεΐνης. Αποτέλεσμα αυτής είναι η αδυναμία ελέγχου της SHH πρωτεΐνης ευνοώντας έτσι τον συνεχή κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε οδοντογενή υπολείμματα και την δημιουργία των ΟΚΚ.
4. Η υψηλότερη ανοσοϊστοχημική έκφραση των BMP4 και FOXP1 και η μεγαλύτερη συχνότητα ταυτόχρονης θετικότητας των 2 μορίων στην ΟΟΚ έναντι της ΟΚΚ, υποδηλώνουν αυξημένη δραστηριότητα του άξονα BMP4-FOXP1 στην ΟΟΚ, γεγονός που, πιθανόν, οδηγεί σε υψηλότερη διαφοροποίηση των κυττάρων του επιθηλίου της και ηπιότερη βιολογική συμπεριφορά συγκριτικά με την ΟΚΚ.
5. Ο συχνότερα παρατηρούμενος «τριπλός» φαινότυπος στις ΟΟΚ (BMP4⁺ σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό και FOXP1⁺ σε επιθήλιο) είναι παρόμοιος με τον φαινότυπο που συναντάται στην επιδερμίδα και το τριχοθυλάκιο, υποδεικνύοντας μια πιθανή «μη οδοντογενή»/ «επιδερμική» προέλευση των ΟΟΚ

VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η Οδοντογενής Κερατινοκύστη (ΟΚΚ) και η Ορθοκερατινοποιημένη Οδοντογενής Κύστη (ΟΟΚ) αποτελούν δύο οδοντογενείς βλάβες αναπτυξιακής αιτιολογίας με πρότυπο επιθηλιακής διαφοροποίησης και κερατινοποίησης παρόμοιο με του καλυπτικού επιθηλίου και κυστικών δερματικών βλαβών, αλλά με εκ διαμέτρου αντίθετη βιολογική συμπεριφορά όπως αυτή χαρακτηρίζεται από το αυξημένο ποσοστό υποτροπής της πρώτης έναντι της δεύτερης. Η μορφογενετική πρωτεΐνη του οστού 4 (BMP4) αποτελεί κομβικό μόριο για την φυσιολογική διαδικασία της οδοντογένεσης, ρυθμίζοντας την έκφραση της πρωτεΐνης Sonic Hedgehog (SHH) ενός μορίου το οποίο φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της ΟΚΚ. Επίσης, σε ποικίλους ιστούς επιθηλιακής προέλευσης, όπως το τριχοθυλάκιο και η επιδερμίδα, επάγει την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα Forkhead box N1 (FOXN1), συμβάλλοντας στην ωρίμανση των επιθηλιακών κυττάρων και τον έλεγχο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

Σκοπός: Η ανοσοϊστοχημική διερεύνηση και συγκριτική αξιολόγηση της έκφρασης και της μικροανατομικής κατανομής των μορίων BMP4 και FOXN1 σε ΟΚΚ συγκριτικά με ΟΟΚ.

Μέθοδος και Υλικά: Η έκφραση των BMP4 και FOXN1 μελετήθηκε με τη τεχνική της ανοσοϊστοχημείας σε 20 μη συνδρομικές και μη υποτροπιάζουσες ΟΚΚ προερχόμενες από 20 ασθενείς συγκριτικά με 16 περιπτώσεις ΟΟΚ. Όλα τα

ιστοτεμάχια προήλθαν από το ιστοπαθολογικό αρχείο του Εργαστηρίου Στοματολογίας της Οδοντιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Αποτελέσματα: Παρατηρήθηκε κυτταροπλασματική έκφραση της BMP4 στο επιθήλιο 7/20 (35%) ΟΚΚ έναντι 13/16 (81,25%) ΟΟΚ, με τη διαφορά αυτή να είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,006$). Κατά την σύγκριση της έκφρασης της πρωτεΐνης στο συνδετικό ιστό ανάμεσα στις 2 βλάβες, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,718$), ωστόσο, η ταυτόχρονη θετικότητα BMP4 σε επιθήλιο και συνδετικό ιστό παρατηρήθηκε πιο συχνά στις ΟΟΚ ($p=0,02$). Όσον αφορά στον FOXN1, 12/16 (75%) ΟΟΚ εμφάνιζαν θετικότητα στο επιθήλιο έναντι 6/20 (30%) ΟΚΚ ενώ ο φαινότυπος BMP4⁺ FOXN1⁺ παρατηρήθηκε σε συχνότερο βαθμό στις ΟΟΚ ($p=0,007$), τόσο για την επιθηλιακή όσο και για τη μεσεγχυματική εντόπιση της BMP4, με τα προαναφερθέντα αποτελέσματα να αναδεικνύονται στατιστικά σημαντικά ($p=0,004$).

Συμπεράσματα: Η υψηλότερη ανοσοϊστοχημική έκφραση των BMP4 και FOXN1 και η μεγαλύτερη συχνότητα ταυτόχρονης θετικότητας των 2 μορίων στην ΟΟΚ έναντι της ΟΚΚ, πιθανόν, υποδηλώνουν αυξημένη δραστηριότητα του μονοπατιού BMP4-FOXN1 στην ΟΟΚ και συμμετοχή στην υψηλότερη επιθηλιακή διαφοροποίηση της συγκριτικά με την ΟΚΚ.

VII. ABSTRACT

Introduction: Odontogenic Keratocyst (OKC) and Orthokeratinized Odontogenic Cyst (OOC) are odontogenic cysts of developmental origin that share common features such as keratinized lining epithelium and histological similarity with the epidermis and cutaneous cystic lesions, albeit showing contrasting biological behavior and recurrence rate. Bone morphogenetic protein 4 (BMP4) plays a critical role in the process of odontogenesis regulating the expression of the Sonic Hedgehog (SHH) protein, a molecule implicated in the pathogenesis of OKC. Furthermore, in various tissues of epithelial origin, mainly the interfollicular epidermis and the hair follicle, BMP4 induces the expression of the transcription factor Forkhead box N1 (FOXN1) which participates in the terminal differentiation of epithelial cells as well as the control of cellular proliferation.

Objectives: To investigate and compare the immunohistochemical expression of BMP4 and FOXN1 in OKCs and OOCs.

Materials and Methods: BMP4 and FOXN1 expression was assessed by immunohistochemistry in 20 non-syndromic and non-recurrent OKCs in comparison to 16 OOCs. All specimens were retrieved from the archives of the Oral Pathology Laboratory of the Department of Oral Medicine and Oral Pathology, National and Kapodistrian University of Athens, Greece.

Results: BMP4 epithelial expression was cytoplasmic and was detected in 7/20 (35%) OKCs compared to 13/16 (81,25%) OOCs and this observed difference was statistically significant ($p=0,006$). Even though no difference was noted in the expression of BMP4 in the connective tissue of the two lesions ($p=0,718$), a higher percentage of simultaneous positivity of the protein in the epithelium and connective tissue of OOC

was seen, in a statistically significant manner ($p=0,02$). Regarding epithelial FOXN1 expression, it was detected in 12/16 (75%) of OOC cases versus 6/20 (30%) of OKC cases ($p=0,007$). The double positive phenotype of BMP4 and FOXN1 was more prevalent in OOCs in comparison to OKCs, both in cases where BMP4 was expressed in the epithelium and in cases where the protein's expression was found in the connective tissue, with these results being statistically significant ($p=0,004$)

Conclusion: The higher immunohistochemical expression of both BMP4 and FOXN1 as well as the more prevalent BMP4⁺ FOXN1⁺ phenotype in OOC suggest a higher activity of the BMP4-FOXN1 axis in this lesion, a finding that is possibly reflected in the more mature epithelial phenotype of OOC compared to OKC.

VIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Speight P, Devilliers P, Li TJ, Odell EW, Wright JM. Odontogenic keratocyst. In: El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ, eds. *WHO Classification of Head and Neck Tumours*. Lyon: IARC Press; 2017:233-237
2. Ide F, Ito Y, Muramatsu T, Miyazaki Y, Nishimura M, Kikuchi K, Kusama K. The Advent of Studies on Jaw Cysts with Keratinization: A Review of Overlooked Papers on Odontogenic Keratocyst and Orthokeratinized Odontogenic Cyst. 2020;14(3):785-791
3. Mikulicz J. Beitrag zur Genese der Dermoide am Kopfe. *Wien med Wochenschr*. 1876;26(39):953-6, (40)983-6, (41)1004-8.
4. Philipsen HP. OM Keratocyster (kolestea – tomer). *I.Kaerberne. Tandlægebladet* 1956; 60:963 – 980.
5. Pindborg JJ, Hansen J. Studies on odontogenic cyst epithelium. 2. clinical and roentgenologic aspects of odontogenic keratocysts. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1963; 58:283-94.
6. Pindborg JJ. Histological typing of odontogenic tumors, jaw cysts, and allied lesions. *WHO*. 1971;18-27.
7. Robinson HBG. Classification of cysts of the jaws. *Am J Orthod Oral Surg*. 1945 Jun 1;31(6):A370-5.
8. Shear M: Primordial cysts. *J Dent Assoc S Afr* 15:211, 1960
9. Robinson HBG. Primordial cyst versus keratocyst. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1975 Sep 1;40(3):362-4.
10. Philipsen HP, Reichart PA. Revision of the 1992-edition of the WHO histological typing of odontogenic tumours. A suggestion. *J Oral Pathol Med*. 2002;31(5):253-8.
11. Organization WH, Cancer IA for R on. *Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours*. IARC; 2005. 440 p.
12. Stojanov IJ, Schaefer I-M, Menon RS, Wasman J, Gokozan HN, Garcia EP, Baur DA, Woo SB, Scholl LM. Biallelic PTCH1 Inactivation Is a Dominant Genomic Change in Sporadic Keratocystic Odontogenic Tumors. *Am J Surg Pathol*. 2020;44(4):553-560.
13. Ahlfors E, Larsson Å, Sjögren S. The odontogenic keratocyst: A benign cystic tumor? *J Oral Maxillofac Surg*. 1984;42(1):10-9.
14. Shear M. The aggressive nature of the odontogenic keratocyst: is it a benign cystic neoplasm? Part 2. Proliferation and genetic studies. *Oral Oncol*. 2002;38(4):323-31.
15. Ide F, Mishima K, Saito I. Solid-cystic tumor variant of odontogenic keratocyst: an aggressive but benign lesion simulating keratoameloblastoma. *Virchows Arch*. 2003;442(5):501-3.
16. Agaram NP, Collins BM, Barnes L, Lomago D, Aldeeb D, Swalsky P, Finkelstein S, Hunt JL. Molecular analysis to demonstrate that odontogenic keratocysts are neoplastic. *Arch Pathol Lab Med*. 2004;128(3):313-7.

17. Wright JM, Vered M. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Odontogenic and Maxillofacial Bone Tumors. *Head Neck Pathol.* 2017;28;11(1):68–77.
18. Jaeger F, de Noronha MS, Silva ML, Amaral MB, Grossmann SM, Horta MC, de Souza PE, de Aguiar MC, Mesquita RA. Prevalence profile of odontogenic cysts and tumors on Brazilian sample after the reclassification of odontogenic keratocyst. *J Craniomaxillofac Surg.* 2017;45(2):267-270.
19. Jones AV, Craig GT, Franklin CD. Range and demographics of odontogenic cysts diagnosed in a UK population over a 30-year period. *J Oral Pathol Med.* 2006;35(8):500–7.
20. Ledesma-Montes C, Hernández-Guerrero JC, Garcés-Ortiz M. Clinico-Pathologic Study of Odontogenic Cysts in a Mexican Sample Population. *Arch Med Res.* 2000;31(4):373–6.
21. Sharifian MJ, Khalili M. Odontogenic cysts: a retrospective study of 1227 cases in an Iranian population from 1987 to 2007. *J Oral Sci.* 2011;53(3):361–7.
22. Souza Lb, Gordon-Nunez Ma, Nonaka Cw, Medeiros Mc, Torres Tf, Emiliano Gb. Odontogenic cysts: Demographic profile in a Brazilian population over a 38-year period. *Med Oral Patol Oral Cirurgia Bucal.* 2010;e583–90.
23. Tortorici S, Amodio E, Massenti MF, Buzzanca ML, Burruano F, Vitale F. Prevalence and distribution of odontogenic cysts in Sicily: 1986 - 2005. *J Oral Sci.* 2008;50(1):15–8.
24. Taylor AM, Irigoyen ME, Franco MAD, Tejero AT. Quistes odontogénicos. Análisis de 856 casos. *Med Oral.* 2002;7:8.
25. Gaitán-Cepeda LA, Quezada-Rivera D, Tenorio-Rocha F, Leyva-Huerta ER. Reclassification of odontogenic keratocyst as tumour. Impact on the odontogenic tumours prevalence. *Oral Dis.* 2010;16(2):185–7.
26. Del Corso G, Righi A, Bombardi M, Rossi B, Dallera V, Pelliccioni GA, Marchetti C, Foschini MP. Jaw cysts diagnosed in an Italian population over a 20-year period. *Int J Surg Pathol.* 2014;22(8):699-706.
27. Tekkesin MS, Olgac V, Aksakalli N, Alatli C. Odontogenic and nonodontogenic cysts in Istanbul: Analysis of 5088 cases. *Head Neck.* 2012;34(6):852–5.
28. Johnson NR, Gannon OM, Savage NW, Batstone MD. Frequency of odontogenic cysts and tumors: a systematic review. *J Investig Clin Dent.* 2014;5(1):9–14.
29. MacDonald-Jankowski DS. Keratocystic odontogenic tumour: systematic review. *Dentomaxillofacial Radiol.* 2011;40(1):1–23.
30. Tamiolakis P, Thermos G, Tosios KI, Sklavounou-Andrikopoulou A. Demographic and Clinical Characteristics of 5294 Jaw Cysts: A Retrospective Study of 38 Years. *Head Neck Pathol.* 2019 1;13(4):587–96.
31. Rachanis CC, Shear M. Age-standardized incidence rates of primordial cyst (keratocyst) on the Witwatersrand. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1978;6(6):296–9.
32. Woolgar JA, Rippin JW, Browne RM. The odontogenic keratocyst and its occurrence in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1987;64(6):727–30.

33. Ide F, Shimoyama T, Horie N. *Peripheral Odontogenic Keratocyst: A Report of 2 Cases.* *J Periodontol.* 2002;73(9):1079–81.
34. Chi AC, Owings JR, Muller S. *Peripheral odontogenic keratocyst: Report of two cases and review of the literature.* *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005 Jan 1;99(1):71–8.
35. Kaminagakura E, Almeida JD, Carvalho YR, Franco RC, Soares FA, Rocha RM, Kowalski LP. *Keratocyst of the buccal mucosa: case report and immunohistochemical comparative study with sporadic intraosseous keratocystic odontogenic tumor.* *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013;116(5):e387-92
36. Abe T, Maruyama S, Yamazaki M, Essa A, Babkair H, Mikami T, Shingaki S, Kobayashi T, Hayashi T, Cheng J, Saku T. *Intramuscular keratocyst as a soft tissue counterpart of keratocystic odontogenic tumor: differential diagnosis by immunohistochemistry.* *Hum Pathol* 2014;45:110–8.
37. Precheur HV, Krolls SO. *An unusual presentation of an odontogenic keratocyst in the buccal space: case report.* *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(11):2513–5.
38. Ide F, Kikuchi K, Miyazaki Y, Mishima K, Saito I, Kusama K. *Keratocyst of the buccal mucosa: is it odontogenic?* *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;110(5):e42–7.
39. Gorlin RJ. *Nevoid basal cell carcinoma (Gorlin) syndrome: Unanswered issues.* *J Lab Clin Med.* 1999;134(6):551–2.
40. Farndon PA, Del Mastro RG, Evans DG, Kilpatrick MW. *Location of gene for Gorlin syndrome.* *Lancet Lond Engl.* 1992;339(8793):581–2.
41. Shanley S, Ratcliffe J, Hockey A, Haan E, Oley C, Ravine D, Martin N, Wicking C, Chenevix-Trench G. *Nevoid basal cell carcinoma syndrome: review of 118 affected individuals.* *Am J Med Genet.* 1994; 15;50(3):282-90.
42. Ponti G, Tomasi A, Manfredini M, Pellacani G. *Oral mucosal stigmata in hereditary-cancer syndromes: From germline mutations to distinctive clinical phenotypes and tailored therapies.* *Gene.* 2016;582(1):23–32.
43. Fan Z, Li J, Du J, Zhang H, Shen Y, Wang CY, Wang S. *A missense mutation in PTCH2 underlies dominantly inherited NBCCS in a Chinese family.* *J Med Genet.* 2008;45:303-8.
44. Shanley S, Ratcliffe J, Hockey A, Haan E, Oley C, Ravine D, Martin N, Wicking C, Chenevix-Trench G. *Nevoid basal cell carcinoma syndrome: review of 118 affected individuals.* *Am J Med Genet.* 1994;50(3):282-90.
45. Kimonis VE, Goldstein AM, Pastakia B, Yang ML, Kase R, DiGiovanna JJ, Bale AE, Bale SJ. *Clinical manifestations in 105 persons with nevoid basal cell carcinoma syndrome.* *Am J Med Genet.* 1997;69(3):299-308.
46. Bree AF, Shah MR. *Consensus statement from the first international colloquium on basal cell nevus syndrome (BCNS).* *Am J Med Genet A.* 2011;155(9):2091–7.
47. Lam EWN, Lee L, Perschbacher SE, Pharoah MJ. *The occurrence of keratocystic odontogenic tumours in nevoid basal cell carcinoma syndrome.* *Dento Maxillo Facial Radiol.* 2009;38(7):475–9.

48. Gupta SR, Jaetli V, Mohanty S, Sharma R, Gupta A. Nevroid basal cell carcinoma syndrome in Indian patients: a clinical and radiological study of 6 cases and review of literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012;113(1):99–110.
49. Woolgar JA, Rippin JW, Browne RM. A comparative study of the clinical and histological features of recurrent and non-recurrent odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol*. 1987;16(3):124–8.
50. Antonoglou GN, Sándor GK, Koidou VP, Papageorgiou SN. Non-syndromic and syndromic keratocystic odontogenic tumors: systematic review and meta-analysis of recurrences. *J Cranio-Maxillo-fac Surg Off Publ Eur Assoc Cranio-Maxillo-fac Surg*. 2014;42(7):e364-371.
51. Vered M, Peleg O, Taicher S, Buchner A. The immunoprofile of odontogenic keratocyst (keratocystic odontogenic tumor) that includes expression of PTCH, SMO, GLI-1 and bcl-2 is similar to ameloblastoma but different from odontogenic cysts. *J Oral Pathol Med*. 2009;38(7):597–604.
52. Connor JM, Evans DA, Goose DH. Multiple odontogenic keratocysts in a case of the Noonan syndrome. *Br J Oral Surg*. 1982;20(3):213–6.
53. Carr RJ, Green DM. Multiple odontogenic keratocysts in a patient with type II (mitis) Ehlers-Danlos syndrome. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 1988;26(3):205–14.
54. Krimmel M, Reinert S. Multiple odontogenic keratocysts in mental retardation-overgrowth (Simpson-Golabi-Behmel) syndrome. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2000;38(3):221–3.
55. Buckley PC, Seldin EB, Dodson TB, August M. Multilocularity as a Radiographic Marker of the Keratocystic Odontogenic Tumor. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012;70(2):320–4.
56. Apajalahti S, Hagström J, Lindqvist C, Suomalainen A. Computerized tomography findings and recurrence of keratocystic odontogenic tumor of the mandible and maxillofacial region in a series of 46 patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011;111(3):e29-37.
57. Kauke M, Safi AF, Kreppel M, Grandoch A, Nickenig HJ, Zöller JE, Dreiseidler T. Size distribution and clinicoradiological signs of aggressiveness in odontogenic myxoma-three-dimensional analysis and systematic review. *Dentomaxillofac Radiol*. 2018;47(2):20170262.
58. Ide F, Horie N, Shimoyama T, Saito I, Tanaka A, Kusama K. Infrequent clinicopathologic features of keratocystic odontogenic tumour: a 29-year multi-institutional retrospective review. *Oral Surg* 2009;2:1–9
59. Ali M, Baughman RA. Maxillary odontogenic keratocyst: a common and serious clinical misdiagnosis. *J Am Dent Assoc* 1939. 2003;134(7):877–83.
60. Kontogiannis TG, Tosios KI, Kerezoudis NP, Krithinakis S, Christopoulos P, Sklavounou A. Periapical lesions are not always a sequelae of pulpal necrosis: a retrospective study of 1521 biopsies. *Int Endod J*. 2015;48(1):68–73.
61. Tsukamoto G, Makino T, Kikuchi T, Kishimoto K, Nishiyama A, Sasaki A, Matsumura T. A comparative study of odontogenic keratocysts associated with and not associated with an impacted mandibular third molar. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94(2):272-5.

62. Alves DBM, Tuji FM, Alves FA, Rocha AC, Santos-Silva ARD, Vargas PA, Lopes MA. Evaluation of mandibular odontogenic keratocyst and ameloblastoma by panoramic radiograph and computed tomography. *Dentomaxillofac Radiol.* 2018;47(7):20170288.
63. Kakimoto N, Chindasombatjaroen J, Tomita S, Shimamoto H, Uchiyama Y, Hasegawa Y, Kishino M, Murakami S, Furukawa S. Contrast-enhanced multidetector computerized tomography for odontogenic cysts and cystic-appearing tumors of the jaws: is it useful? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013;115(1):104-13.
64. Probst FA, Probst M, Pautke Ch, Kaltsi E, Otto S, Schiel S, Troeltzsch M, Ehrenfeld M, Cornelius CP, Müller-Lisse UG. Magnetic resonance imaging: a useful tool to distinguish between keratocystic odontogenic tumours and odontogenic cysts. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2015r;53(3):217-22.
65. Fujita M, Matsuzaki H, Yanagi Y, Hara M, Katase N, Hisatomi M, Unetsubo T, Konouchi H, Nagatsuka H, Asaumi JI. Diagnostic value of MRI for odontogenic tumours. *Dentomaxillofac Radiol.* 2013;42(5):20120265.
66. Robinson RA. Diagnosing the most common odontogenic cystic and osseous lesions of the jaws for the practicing pathologist. *Mod Pathol.* 2017;30(1):S96–103.
67. Azevedo RS, Cabral MG, dos Santos TCRB, de Oliveira AV, de Almeida OP, Pires FR. Histopathological features of keratocystic odontogenic tumor: a descriptive study of 177 cases from a Brazilian population. *Int J Surg Pathol.* 2012;20(2):154–60.
68. Chrcanovic BR, Gomez RS. Recurrence probability for keratocystic odontogenic tumors: An analysis of 6427 cases. *J Cranio-Maxillo-fac Surg Off Publ Eur Assoc Cranio-Maxillo-fac Surg.* 2017;45(2):244–51.
69. Bello I-O. Keratocystic odontogenic tumor: A biopsy service's experience with 104 solitary, multiple and recurrent lesions. *Med Oral Patol Oral Cirurgia Bucal.* 2016 1;21(5):e538-546.
70. Ide F, Mishima K, Saito I, Kusama K. Diagnostically challenging epithelial odontogenic tumors: a selective review of 7 jawbone lesions. *Head Neck Pathol.* 2009r;3(1):18–26.
71. Fornatora ML, Reich RF, Chotkowski G, Freedman PD. Odontogenic keratocyst with mural cartilaginous metaplasia: a case report and a review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;92(4):430–4.
72. Ng KH, Siar CH. Odontogenic keratocyst with dentinoid formation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;95(5):601–6.
73. Rodrigues-Fernandes C-I, Bonan P-R-F, Carvalho E-JA, Sánchez-Romero C, de Almeida O-P, Perez D-EC. Pigmented odontogenic keratocyst: Report of a rare case and review of the literature. *J Clin Exp Dent.* 2018 1;10(12):e1230–4.
74. Geng N, Lv D, Chen QM, Zhu ZY, Wu RQ, He ZX, Chen Y. Solid variant of keratocystic odontogenic tumor with ameloblastomatous transformation: a case report and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012 ;114(2):223-9.
75. Vickers RA, Gorlin RJ. Ameloblastoma: Delineation of early histopathologic features of neoplasia. *Cancer.* 1970;26(3):699–710.
76. Bodner L, Manor E, Shear M, van der Waal I. Primary intraosseous squamous cell carcinoma arising in an odontogenic cyst: a clinicopathologic analysis of 116 reported cases.

J Oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol. 2011 ;40(10):733–8.

77. Martínez-Martínez M, Mosqueda-Taylor A, Delgado-Azañero W, Rumayor-Piña A, de Almeida OP. Primary intraosseous squamous cell carcinoma arising in an odontogenic keratocyst previously treated with marsupialization: case report and immunohistochemical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2016;121(4):e87-95.

78. Al-Moraissi EA, Dahan AA, Alwadeai MS, Oginni FO, Al-Jamali JM, Alkhutari AS, Al-Tairi NH, Almaweri AA, Al-Sanabani JS. What surgical treatment has the lowest recurrence rate following the management of keratocystic odontogenic tumor?: A large systematic review and meta-analysis. *J Craniomaxillofac Surg.* 2017;45(1):131-144.

79. Pogrel MA. The keratocystic odontogenic tumor. *Oral Maxillofac Surg Clin N Am.* 2013 ;25(1):21–30, v.

80. Kaczmarzyk T, Mojsa I, Stypulkowska J. A systematic review of the recurrence rate for keratocystic odontogenic tumour in relation to treatment modalities. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2012;41(6):756–67.

81. Johnson NR, Batstone MD, Savage NW. Management and recurrence of keratocystic odontogenic tumor: a systematic review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013 ;116(4):e271-276.

82. Sharif FN, Oliver R, Sweet C, Sharif MO. Interventions for the treatment of keratocystic odontogenic tumours. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015 ;26;(11).

83. Finkelstein MW, Hellstein JW, Lake KS, Vincent SD. Keratocystic odontogenic tumor: A retrospective analysis of genetic, immunohistochemical and therapeutic features. Proposal of a multicenter clinical survey tool. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013 1;116(1):75–83.

84. Cunha JF, Gomes CC, de Mesquita RA, Andrade Goulart EM, de Castro WH, Gomez RS. Clinicopathologic features associated with recurrence of the odontogenic keratocyst: a cohort retrospective analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2016;121(6):629–35.

85. Zhao Y, Liu B, Han Q-B, Wang S-P, Wang Y-N. Changes in bone density and cyst volume after marsupialization of mandibular odontogenic keratocysts (keratocystic odontogenic tumors). *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2011;69(5):1361–6.

86. Kaczmarzyk T, Kisielowski K, Koszowski R, Rynkiewicz M, Gawelek E, Babiuch K, Bednarczyk A, Drozdowska B. Investigation of clinicopathological parameters and expression of COX-2, bcl-2, PCNA, and p53 in primary and recurrent sporadic odontogenic keratocysts. *Clin Oral Investig.* 2018;22(9):3097-3106.

87. Titinchi F, Nortje CJ. Keratocystic odontogenic tumor: a recurrence analysis of clinical and radiographic parameters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;114(1):136–42.

88. Li T-J. The odontogenic keratocyst: a cyst, or a cystic neoplasm? *J Dent Res.* 2011;90(2):133–42.

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

90. Shiran H, Shafaei Fard SH, Hakimi S, Azari Pour Esfahani A. Use of Topical 5-Fluorouracil for Keratocystic Odontogenic Tumors of Gorlin-Goltz Syndrome as a New Targeted Therapy: A Case Report and Review of Literature. *J Res Dent Maxillofac Sci.* 2019;4(4):43–8.
91. Ostrofsky MK. *Epithelial Residues in the Retromolar Regions and Their Possible Relationship to the Formation of the Primordial Cyst (odontogenic Keratocyst).* 1982;1.
92. Jheon AH, Seidel K, Biehs B, Klein OD. From molecules to mastication: the development and evolution of teeth. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* 2013;2(2):165–83.
93. Shear M. Odontogenic keratocysts: natural history and immunohistochemistry. *Oral Maxillofac Surg Clin N Am.* 2003;15(3):347–62.
94. Padma Priya S, Higuchi A, Abu Fanas S, Pooi Ling M, Kumari Neela V, Sunil PM, Saraswathi TR, Murugan K, Alarfaj AA, Munusamy MA, Kumar S. Odontogenic epithelial stem cells: hidden sources. *Lab Invest.* 2015;95(12):1344-52.
95. Stoelinga PJ. Long-term follow-up on keratocysts treated according to a defined protocol. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2001;30(1):14–25.
96. Aragaki T, Michi Y, Katsube K, Uzawa N, Okada N, Akashi T, Amagasa T, Yamaguchi A, Sakamoto K. Comprehensive keratin profiling reveals different histopathogenesis of keratocystic odontogenic tumor and orthokeratinized odontogenic cyst. *Hum Pathol.* 2010;41(12):1718-25.
97. Li S, Ge S, Yang P. Expression of cytokeratins in enamel organ, junctional epithelium and epithelial cell rests of Malassez. *J Periodontal Res.* 2015;50(6):846–54.
98. Grachtchouk M, Liu J, Wang A, Wei L, Bichakjian CK, Garlick J, Paulino AF, Giordano T, Dlugosz AA. Odontogenic keratocysts arise from quiescent epithelial rests and are associated with deregulated hedgehog signaling in mice and humans. *Am J Pathol.* 2006;169(3):806-14.
99. Stoelinga PJ, Peters JH. A note on the origin of keratocysts of the jaws. *Int J Oral Surg.* 1973;2(2):37–44.
100. Stoelinga PJ, Cohen MM, morgan AF. The origin of keratocysts in the basal cell nevus syndrome. *J Oral Surg Am Dent Assoc* 1965. 1975;33(9):659–63.
101. Vedtofte P, Holmstrup P, Dabelsteen E. Human odontogenic keratocyst transplants in nude mice. *Scand J Dent Res.* 1982;90(4):306–14.
102. de Oliveira Ramos G, Costa A, Meurer MI, Vieira DSC, Rivero ERC. Immunohistochemical analysis of matrix metalloproteinases (1, 2, and 9), Ki-67, and myofibroblasts in keratocystic odontogenic tumors and pericoronal follicles. *J Oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol.* 2014;43(4):282–8.
103. Sousa-Neto ES, Cangussu MC, Gurgel CA, Guimarães VS, Ramos EA, Xavier FC, Cury PR, Carneiro Júnior B, Leonardi R, Dos Santos JN. Interaction of stromal and microvascular components in keratocystic odontogenic tumors. *J Oral Pathol Med.* 2016;45(8):557-64.
104. Myung P, Ito M. Dissecting the bulge in hair regeneration. *J Clin Invest.* 2012;122(2):448–54.

105. Silva BS, Silva LR, Lima KL, Dos Santos AC, Oliveira AC, Dezzen-Gomide AC, Batista AC, Yamamoto-Silva FP. *SOX2 and BCL-2 Expressions in Odontogenic Keratocyst and Ameloblastoma. Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2020;25(2):e283-e290.
106. Laga AC, Lai CY, Zhan Q, Huang SJ, Velazquez EF, Yang Q, Hsu MY, Murphy GF. *Expression of the embryonic stem cell transcription factor SOX2 in human skin: relevance to melanocyte and merkel cell biology. Am J Pathol.* 2010;176(2):903-13.
107. Fernandez-Flores A. *Cutaneous keratocyst: a renaming as isthmic-anagenic cyst proposal. Am J Dermatopathol.* 2008;30(1):87-9.
108. Mikkola ML, Millar SE. *The mammary bud as a skin appendage: unique and shared aspects of development. J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2006;11(3-4):187-203.
109. Hahn H, Wicking C, Zaphiropoulos PG, Gailani MR, Shanley S, Chidambaram A, Vorechovsky I, Holmberg E, Uden AB, Gillies S, Negus K, Smyth I, Pressman C, Leffell DJ, Gerrard B, Goldstein AM, Dean M, Toftgard R, Chenevix-Trench G, Wainwright B, Bale AE. *Mutations of the human homolog of Drosophila patched in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. Cell.* 1996;85(6):841-51.
110. Johnson RL, Rothman AL, Xie J, Goodrich LV, Bare JW, Bonifas JM, Quinn AG, Myers RM, Cox DR, Epstein EH Jr, Scott MP. *Human homolog of patched, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. Science.* 1996 Jun 14;272(5268):1668-71.
111. Guo Y-Y, Zhang J-Y, Li X-F, Luo H-Y, Chen F, Li T-J. *PTCH1 gene mutations in Keratocystic odontogenic tumors: a study of 43 Chinese patients and a systematic review. PloS One.* 2013;8(10):e77305.
112. Diniz MG, Borges ER, Guimarães AL, Moreira PR, Brito JA, Gomez MV, De Marco L, Gomez RS. *PTCH1 isoforms in odontogenic keratocysts. Oral Oncol.* 2009;45(3):291-5.
113. Bangs, F. & Anderson, K. V. *Primary cilia and mammalian Hedgehog signaling. Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 9, a028175 (2017).
114. Corcoran RB, Scott MP. *Oxysterols stimulate Sonic hedgehog signal transduction and proliferation of medulloblastoma cells. Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(22):8408-13.
115. Lear JT, Corner C, Dziejwski P, Fife K, Ross GL, Varma S, Harwood CA. *Challenges and new horizons in the management of advanced basal cell carcinoma: a UK perspective. Br J Cancer.* 2014;111(8):1476-81.
116. Pan S, Dong Q, Sun L-S, Li T-J. *Mechanisms of inactivation of PTCH1 gene in nevoid basal cell carcinoma syndrome: modification of the two-hit hypothesis. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2010;16(2):442-50.
117. Sasaki R, Miyashita T, Matsumoto N, Fujii K, Saito K, Ando T. *Multiple keratocystic odontogenic tumors associated with nevoid basal cell carcinoma syndrome having distinct PTCH1 mutations: a case report. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2010;110(2):e41-6.
118. Sun L-S, Li X-F, Li T-J. *PTCH1 and SMO gene alterations in keratocystic odontogenic tumors. J Dent Res.* 2008;87(6):575-9.
119. Shimada Y, Katsube K, Kabasawa Y, Morita K, Omura K, Yamaguchi A, Sakamoto K. *Integrated genotypic analysis of hedgehog-related genes identifies subgroups of keratocystic odontogenic tumor with distinct clinicopathological features. PLoS One.* 2013;8(8):e70995.

120. Ren C, Amm HM, DeVilliers P, Wu Y, Deatherage JR, Liu Z, MacDougall M. Targeting the sonic hedgehog pathway in keratocystic odontogenic tumor. *J Biol Chem*. 2012 Aug 3;287(32):27117-25.
121. Sandoval-Basilio J, González-González R, Bologna-Molina R, Isiordia-Espinoza M, Leija-Montoya G, Alcaraz-Estrada SL, Serafin-Higuera I, González-Ramírez J, Serafin-Higuera N. Epigenetic mechanisms in odontogenic tumors: A literature review. *Arch Oral Biol*. 2018;87:211-217.
122. Qu J, Yu F, Hong Y, Guo Y, Sun L, Li X, Zhang J, Zhang H, Shi R, Chen F, Li T. Underestimated PTCH1 mutation rate in sporadic keratocystic odontogenic tumors. *Oral Oncol*. 2015;51(1):40-5.
123. Heikinheimo K, Kurppa KJ, Laiho A, Peltonen S, Berdal A, Bouattour A, Ruhin B, Catón J, Thesleff I, Leivo I, Morgan PR. Early dental epithelial transcription factors distinguish ameloblastoma from keratocystic odontogenic tumor. *J Dent Res*. 2015;94(1)
124. Hu S, Divaris K, Parker J, Padilla R, Murrah V, Wright JT. Transcriptome Variability in Keratocystic Odontogenic Tumor Suggests Distinct Molecular Subtypes. *Scientific Rep*: 6 2016:24236
125. Jeannel. Kyste dermoïde développé dans le rebord alvéolaire des incisives de la mâchoires supérieure. *Bull Mém Soc Chir Paris*. 1886;12:628–37
126. Hofrath H. Beitrag zur klinischen und histologischen Differentialdiagnostik der Kieferzysten und Adamantinome. *Paradentium*. 1932;4:138–47.
127. Wright JM. The odontogenic keratocyst: orthokeratinized variant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1981;51(6):609–18.
128. Crowley TE, Kaugars GE, Gunsolley JC. Odontogenic keratocysts: a clinical and histologic comparison of the parakeratin and orthokeratin variants. *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg*. 1992;50(1):22–6.
129. Vuhahula E , Nikai H , Ijuhin N , Ogawa I , Takata T , Koseki T , Tanimoto K . Jaw cysts with orthokeratinization: analysis of 12 cases. *J Oral Pathol Med* 1993;22:35–40.
130. Thomas M, Tremain R, Laugharne D. Epidermal cyst of the mandible: a case report. *Oral Surg*. 2017;10(3):171–3.
131. Barrett AW. Intra-osseous epidermal cysts of the jaws do not exist. *Oral Surg*. 2018;11(3):260–260.
132. Li TJ, Kitano M, Chen XM, Itoh T, Kawashima K, Sugihara K, Nozoe E, Mimura T. Orthokeratinized odontogenic cyst: a clinicopathological and immunocytochemical study of 15 cases. *Histopathology*. 1998;32(3):242-51.
133. Myoung H, Hong SP, Hong SD, Lee JI, Lim CY, Choung PH, Lee JH, Choi JY, Seo BM, Kim MJ. Odontogenic keratocyst: Review of 256 cases for recurrence and clinicopathologic parameters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;91(3):328-33.
134. MacDonald-Jankowski DS. Orthokeratinized odontogenic cyst: a systematic review. *Dentomaxillofacial Radiol*. 2010;39(8):455–67.
135. Dong Q, Pan S, Sun L-S, Li T-J. Orthokeratinized Odontogenic Cyst: A Clinicopathologic Study of 61 Cases. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134:5.

136. Vera-Sirera B, Forner-Navarro L, Vera-Sempere F. Differential expression of Cyclin D1 in keratin-producing odontogenic cysts. *Med Oral Patol Oral Cirurgia Bucal*. 2015;e59–65.
137. Richardson G, Ed B, Russell KA. A Review of Impacted Permanent Maxillary Cuspids — Diagnosis and Prevention. 2000;66(9):5.
138. Bolbaran V, Martinez B, Rojas R. Odontogenic keratocysts. A retrospective study of 285 cases. (II. Histopathological aspects). *Med Oral Organo Of Soc Espanola Med Oral Acad Iberoam Patol Med Bucal*. 2000;5(5):338–44.
139. Argyris PP, Koutlas IG. Orthokeratinized Odontogenic Cyst with an Associated Keratocystic Odontogenic Tumor Component and Ghost Cell Keratinization and Calcifications in a Patient with Gardner Syndrome. *Head Neck Pathol*. 2017;11(2):240–8.
140. Crane H, Da Forno P, Kyriakidou E, Speight PM, Hunter KD. Multiple Orthokeratinized Odontogenic Cysts: A Report of Two Cases and Review of the Literature. *Head Neck Pathol*. 2020;14(2):381–5.
141. Cheng Y-SL, Liang H, Wright J, Teenier T. Multiple Orthokeratinized Odontogenic Cysts: A Case Report. *Head Neck Pathol*. 2014;9(1):153–7.
142. MacDonald-Jankowski DS, Li TK. Orthokeratinized odontogenic cyst in a Hong Kong community: the clinical and radiological features. *Dentomaxillofacial Radiol*. 2010;39(4):240–5.
143. Kulkarni M, Kheur S, Agrawal T, Ingle Y. Orthokeratinizing odontogenic cyst of maxilla with complex odontoma. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2013;17(3):480.
144. Byatnal A, Natarajan J, Narayanaswamy V, Radhakrishnan R. Orthokeratinized odontogenic cyst: critical appraisal of a distinct entity. *Braz J Oral Sci*. 2013;12(1):71–5.
145. Servato JPS, Cardoso SV, Silva MCP da, Cordeiro MS, Faria PR de, Loyola AM. Orthokeratinized Odontogenic Cysts Presenting as a Periapical Lesion: Report of a Case and Literature Review. *J Endod*. 2014;40(3):455–8.
146. Christensen RE, Propper RH. Intraosseous mandibular cyst with sebaceous differentiation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1982;53(6):591–5.
147. Chi AC, Neville BW, McDonald TA, Trayham RT, Byram J, Peacock EH. Jaw Cysts With Sebaceous Differentiation: Report of 5 Cases and a Review of the Literature. *J Oral Maxillofac Surg*. 2007;65(12):2568–74.
148. Ide F, Saito I, Horie N, Shimoyama T. Orthokeratinized Odontogenic Cyst of the Mandible with Heterotopic Cartilage. *Head Neck Pathol*. 2009;3(2):150–2.
149. de Fátima Bernardes V, de Lacerda JCT, de Aguiar MCF, Gomez RS. Calcifying Odontogenic Cyst Associated with an Orthokeratinized Odontogenic Cyst. *Head Neck Pathol*. 2008;2(4):324.
150. Bajpai M, Pardhe N, Aroroa M, Chandolia B. Ortho Keratinized Odontogenic Cyst with Dentinoid Formation. *J Coll Physicians Surg--Pak JCPSP*. 2017;27(9):S110–1.
151. Brito LNS, Lima FJ, Alves PM, Nonaka CFW, Godoy GP, Brito LNS. Orthokeratinized odontogenic cyst associated with multinucleated giant cell reaction: report of unusual findings. *RGO - Rev Gaúcha Odontol*. 2017;65(4):376–9.

152. Cox DP. *p53 expression and mutation analysis of odontogenic cysts with and without dysplasia*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012;113(1):90–8.
153. Siar CH, Ng KH. *Squamous cell carcinoma in an orthokeratinised odontogenic keratocyst*. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1987;16(1):95–8.
154. Acharya S, Tayaar AS, Hallkeri K, Adirajaiah S, Gopalkrishnan K. *Squamous cell carcinoma emerging in an orthokeratinized odontogenic cyst: A case report and brief review*. *J Oral Maxillofac Surg Med Pathol*. 2014;26(4):563–8.
155. Wu R-Y, Shao Z, Wu T-F. *Chronic progression of recurrent orthokeratinized odontogenic cyst into squamous cell carcinoma: A case report*. *World J Clin Cases*. 2019;7(13):1686–95.
156. Uddin N, Zubair M, Abdul-Ghafar J, Khan ZU, Ahmad Z. *Orthokeratinized Odontogenic Cyst (OOC): Clinicopathological and radiological features of a series of 10 cases*. *Diagnostic Pathology*. 2019;14(1):28
157. Deboni MCZ, Brozoski MA, Traina AA, Acay RR, Naclério-Homem M da G. *Surgical management of dentigerous cyst and keratocystic odontogenic tumor in children: a conservative approach and 7-year follow-up*. *J Appl Oral Sci Rev FOB*. 2012;20(2):282–5.
158. Swanson KS, Kaugars GE, Gunsolley JC. *Nasopalatine duct cyst: an analysis of 334 cases*. *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg*. 1991;49(3):268–71.
159. Namin AK, Azad TM, Eslami B, Sarkarat F, Shahrokhi M, Kashanian F. *A study of the relationship between ameloblastoma and human papilloma virus*. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003;61(4):467–70.
160. Lalla K, Mahomed F, Meer S. *Keratinizing odontogenic cysts with a spectrum of verrucoid morphology: investigation of a potential role of human papillomavirus*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2016;122(5):625–30.
161. Vera-Sirera B, Rubio-Martínez L, Forner-Navarro L, Vera-Sempere F. *Orthokeratinized odontogenic cysts: a Spanish tertiary care centre study based on HPV DNA detection*. *Head Face Med*. 2018;14(1):10.
162. Diniz MG, Galvão CF, Macedo PS, Gomes CC, Gomez RS. *Evidence of loss of heterozygosity of the PTCH gene in orthokeratinized odontogenic cyst: PTCH gene in orthokeratinized odontogenic cyst*. *J Oral Pathol Med*. 2011;40(3):277–80.
163. Cha YH, Cho ES, Kang HE, Ko J, Nam W, Kim HJ, Kim NH, Kim HS, Cha IH, Yook JI. *Frequent oncogenic BRAF V600E mutation in odontogenic keratocyst*. *Oral Oncol*. 2017;74:62-67.
164. Johnson NR, Savage NW, Kazoullis S, Batstone MD. *A prospective epidemiological study for odontogenic and non-odontogenic lesions of the maxilla and mandible in Queensland*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2013;115(4):515–22.
165. Zhang J-Y, Dong Q, Li T-J. *Differences in collagen fibres in the capsule walls of parakeratinized and orthokeratinized odontogenic cysts*. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2011;40(11):1296–300.
166. da Silva MJA, de Sousa SOM, Corrêa L, Carvalhosa AA, de Araújo VC. *Immunohistochemical study of the orthokeratinized odontogenic cyst: A comparison with the*

- odontogenic keratocyst. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2002;94(6):732–7.
167. Koizumi Y. *Odontogenic Keratocyst, Orthokeratinized Odontogenic Cyst and Epidermal Cyst: An Immunohistochemical Study Including Markers of Proliferation, Cytokeratin and Apoptosis Related Factors.* *Int J Oral-Med Sci.* 2004;2(1):14–22.
168. Rangiani A, Motahhary P. *Evaluation of bax and bcl-2 expression in odontogenic keratocysts and orthokeratinized odontogenic cysts: A comparison of two cysts.* *Oral Oncol.* 2009;45(7):e41–4.
169. Rubini C, Artese L, Zizzi A, Fioroni M, Ascani G, Goteri G, Stramazotti D, Piccirilli M, Iezzi G, Piattelli A. *Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in different types of odontogenic cysts.* *Clin Oral Investig.* 2011;15(5):757-61.
170. Okamoto E, Kikuchi K, Miyazaki Y, González-Alva P, Oku Y, Tanaka A, Yoshida N, Fujinami M, Ide F, Sakashita H, Kusama K. *Significance of podoplanin expression in keratocystic odontogenic tumor.* *J Oral Pathol Med.* 2010;39(1):110-4.
171. Vered M, Shohat I, Buchner A, Dayan D. *Myofibroblasts in stroma of odontogenic cysts and tumors can contribute to variations in the biological behavior of lesions.* *Oral Oncol.* 2005;41(10):1028–33.
172. High AS, Robinson PA, Klein CE. *Discrimination of parakeratinised odontogenic keratocysts from other odontogenic and non-odontogenic cyst types by expression of a 38kd cell-surface glycoprotein.* *J Oral Pathol Med.* 1993;22(8):363–7.
173. Siar CH, Ng KH. *An immunohistochemical study of the lining epithelium of odontogenic keratocyst.* *J Nihon Univ Sch Dent.* 1995;37(3):163–9.
174. Piattelli A, Fioroni M, Rubini C. *Differentiation of odontogenic keratocysts from other odontogenic cysts by the expression of bcl-2 immunoreactivity.* *Oral Oncol.* 1998;4.
175. Kimi K, Kumamoto H, Ooya K, Motegi K. *Analysis of Apoptosis-related Factors and Apoptotic Cells in Lining Epithelium of Odontogenic Keratocysts.* *Oral Med Pathol.* 2000;5(1):35–40.
176. Piattelli A, Rubini C, Iezzi G, Fioroni M. *CD1a-Positive Cells in Odontogenic Cysts.* *J Endod.* 2002;28(4):267–8.
177. Piattelli A, Rubini C, Fioroni M, Favero L, Strocchi R. *Expression of transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1) in odontogenic cysts.* *Int Endod J.* 2004;37(1):7–11.
178. Piattelli A, Fioroni M, Iezzi G, Rubini C. *Calretinin Expression in Odontogenic Cysts.* *J Endod.* 2003;29(6):394–6.
179. Baghaei F, Eslami M, Sadri D. *Evaluation of Ki-67 Antigen and Protein P53 Expression in Orthokratized and Parakratized Odontogenic Keratocyst.* *J Dent.* 1(2):6.
180. Thosaporn W, Iamaroon A, Pongsiriwet S, Ng K. *A comparative study of epithelial cell proliferation between the odontogenic keratocyst, orthokeratinized odontogenic cyst, dentigerous cyst, and ameloblastoma.* *Oral Dis.* 2004;10(1):22–6.
181. Lo Muzio L, Santarelli A, Caltabiano R, Rubini C, Pieramici T, Fior A, Trevisiol L, Carinci F, Leonardi R, Bufo P, Lanzafame S, Piattelli A. *p63 expression in odontogenic cysts.* *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34(6):668-73.

182. Iezzi G, Piattelli A, Artese L, Goteri G, Fioroni M, Rubini C. *KAI-1 Protein Expression in Odontogenic Cysts. J Endod.* 2007;33(3):235–8.
183. Yagyuu T, Kirita T, Sasahira T, Moriwaka Y, Yamamoto K, Kuniyasu H. *Recurrence of Keratocystic Odontogenic Tumor: Clinicopathological Features and Immunohistochemical Study of the Hedgehog Signaling Pathway. Pathobiology.* 2008;75(3):171–6.
184. Barreto DC, Carinci F, Russo LL, Pimenta FJ, Perdigao PF, de Marco L, Guida L, Romeo U, Polimeni A, Gomez RS, Lo Muzio L. *Adhesion Molecules In Epithelial Odontogenic Lesions. European Journal of Inflammation.* 2011;9(2):37–42
185. Johann ACBR, Caldeira PC, Caliari MV, de Abreu MHNG, Aguiar MCF, Mesquita RA. *Metallothionein in the radicular, dentigerous, orthokeratinized odontogenic cysts and in keratocystic odontogenic tumor: Metallothionein in odontogenic lesions. J Oral Pathol Med.* 2011;40(3):270–6.
186. Caetano Ados S, Tjioe KC, Faustino SE, Hanemann JA, Belone Ade F, Soares CT, Oliveira DT. *Immunolocalization of podoplanin in benign odontogenic tumours with and without ectomesenchyme. Arch Oral Biol.* 2013;58(4):408-15.
187. Senguven B, Oygur T. *Investigation of interleukin-1 alpha and interleukin-6 expression and interleukin-1 alpha gene polymorphism in keratocystic odontogenic tumors and ameloblastomas. Med Oral Patol Oral Cirugia Bucal.* 2011;e467–72.
188. Hayashi T, Wato M, Iseki T, Tanaka A, Morita S. *Comparative expression profiles of keratins and apoptosis regulating proteins in keratocystic odontogenic tumor, orthokeratinized odontogenic cyst, and dentigerous cyst. Oral Med Pathol.* 2012;16(3/4):67–73.
189. Deyhimi P, Hashemzadeh Z. *Study of the biologic behavior of odontogenic keratocyst and orthokeratinized odontogenic cyst using TGF-alpha and P53 markers. Pathol - Res Pract.* 2014;210(4):201–4.
190. Gani F, Mahomed F, Meer S. *Evaluation of Ki-67 and cyclin D1 expression in odontogenic keratocysts and orthokeratinised jaw cysts. SADJ J South Afr Dent Assoc Tydskr Van Suid-Afr Tandheelkd Ver.* 2012;67(7):370–3.
191. Roy S, Garg V. *Evaluation of stromal myofibroblasts expression in keratocystic odontogenic tumor and orthokeratinized odontogenic cysts: A comparative study. J Oral Maxillofac Pathol JOMFP.* 2013;17(2):207–11.
192. Tsuji K, Wato M, Hayashi T, Yasuda N, Matsushita T, Ito T, Gamoh S, Yoshida H, Tanaka A, Morita S. *The expression of cytokeratin in keratocystic odontogenic tumor, orthokeratinized odontogenic cyst, dentigerous cyst, radicular cyst and dermoid cyst. Med Mol Morphol.* 2014;47(3):156-61.
193. Jaafari-ashkavandi Z, Pardis S, Asadzadeh M, Andisheh-tadbir A, Dehghani-nazhvani A. *Caveolin-1 expression in odontogenic cysts and ameloblastomas. Turk J Pathol.* 2014;30(2):94.
194. Jaafari-Ashkavandi Z, Dehghani-Nazhvani A, Razmjouyi F. *CD56 Expression in Odontogenic Cysts and Tumors. J Dent Res.* 2014;Dental Clinics:Dental Prospects; eISSN 20082118.

195. Hoshino M, Inoue H, Kikuchi K, Miyazaki Y, Yoshino A, Hara H, Terui T, Kusama K, Sakashita H. Comparative study of cytokeratin and langerin expression in keratinized cystic lesions of the oral and maxillofacial regions. *J Oral Sci.* 2015;57(4):287-94.
196. Ramadoss R, Krishnan R, Peddanna S, Cherian E, Gunasekaran N, Thayalan D. Immunohistochemical analysis of cytokeratin 10, cytokeratin 14, epidermal growth factor receptor, tenascin, and Ki-67 in selected odontogenic cysts. *SRM J Res Dent Sci.* 2015;6(2):96.
197. Yamada K, Wato M, Tsuji K, Tanaka A, Morita S. Expression of SHH, PTCH and SMO to the Hedgehog signal in keratocystic odontogenic tumor. *J Osaka Dent Univ.* 2015;49(1):85-93.
198. Mascitti M, Santarelli A, Zizzi A, Procaccini M, Lo Muzio L, Rubini C. Expression of p73 and TRAIL in odontogenic cysts and tumors. *J Oral Sci.* 2016;58(4):459-64.
199. Vera-Sirera B, Forner-Navarro L, Vera-Sempere F. Immunohistochemical expression of glucose transporter 1 in keratin-producing odontogenic cysts. *BMC Oral Health.* 2016;16(1):32.
200. Vera-Sirera B, Forner-Navarro L, Vera-Sempere F. NCAM (CD56) Expression in keratin-producing odontogenic cysts: aberrant expression in KCOT. *Head Face Med.* 2015;11(1):3.
201. Sarode SC, Sarode GS, Choudhary S, Patil S. FAK is overexpressed in keratocystic odontogenic tumor: a preliminary study. *J Oral Pathol Med.* 2017;46(8):611-7.
202. Dandena VK, Thimmaiah SY, Kiresur MA, Hunsigi P, Roy S, Rashmi M. A comparative study of odontogenic keratocyst and orthokeratinized odontogenic cyst using Ki67 and α smooth muscle actin. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2017;21(3):458.
203. Mascitti M, Togni L, Balercia A, Balercia P, Rubini C, Santarelli A. p53-Family Proteins in Odontogenic Cysts: An Immunohistochemical Study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2018;00(00):7.
204. Antonio PN, Garcia NG, Assao A, Lauris JRP, Soares FA, Oliveira DT. Immunoexpression of proteins involved in cytoskeleton remodeling in benign odontogenic lesions. *Arch Oral Biol.* 2018;87:151-6.
205. Argyris PP, Malz C, Taleb R, Koutlas IG. Benign and malignant odontogenic neoplasms of the jaws show a concordant nondiscriminatory p63/p40 positive immunophenotype. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018;126(6):506-12.
206. Kureel K, Urs AB, Augustine J. Cytokeratin and fibronectin expression in orthokeratinized odontogenic cyst: A comparative immunohistochemical study. *J Oral Maxillofac Pathol JOMFP.* 2019;23(1):65-72.
207. Hakeem A, Fitzpatrick SG, Gonsalves CA, Isom J, Islam MN, Bhattacharyya I, Cohen DM, Drew PA. p16INK4a as a proliferation marker unrelated to HPV expression in odontogenic cysts and tumors. *J Oral Pathol Med.* 2020;49(1):72-81.
208. Miranda da Costa NM, Saab Abe CT, Mitre GP, Mesquita RA, Silva Kataoka MSd, Ribeiro Ribeiro AL, Jaeger RG, Alves-Júnior SdM, Smith AM, Pinheiro JdJV. HIF-1 α is Overexpressed in Odontogenic Keratocyst Suggesting Activation of HIF-1 α and NOTCH1 Signaling Pathways. *Cells.* 2019; 8(7):731.

209. Manthapuri S, Sanjeevareddygar S, Mantha H, Oruganti RV, Reddy S, Vamshi VR. Evaluation of biological behavior of odontogenic keratocyst and orthokeratinized odontogenic cyst using picosirius red stain: A clinicopathological retrospective study. *J Dr NTR Univ Health Sci.* 2019;8(3):206.
210. Bragdon B, Moseychuk O, Saldanha S, King D, Julian J, Nohe A. Bone Morphogenetic Proteins: A critical review. *Cell Signal.* 2011;23(4):609–20.
211. Urist MR, Wallace TH, Adams T. The function of fibrocartilaginous fracture callus. *J Bone Joint Surg Br.* 1965;47-B(2):304–18.
212. Ali IHA, Brazil DP. Bone morphogenetic proteins and their antagonists: current and emerging clinical uses. *Br J Pharmacol.* 2014;171(15):3620–32.
213. Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone Morphogenetic Proteins. *Growth Factors.* 2004;22(4):233–41.
214. Zhang H, Bradley A. Mice deficient for BMP2 are nonviable and have defects in amnion/chorion and cardiac development. *Development.* 1996;122(10):2977–86.
215. Winnier G, Blessing M, Labosky PA, Hogan BL. Bone morphogenetic protein-4 is required for mesoderm formation and patterning in the mouse. *Genes Dev.* 1995;9(17):2105–16.
216. Frank DB., Abtahi A, Yamaguchi D.J., Manning S, Shyr Y, Pozzi A, Baldwin S, Johnson JE, de Caestecker MP. Bone Morphogenetic Protein 4 Promotes Pulmonary Vascular Remodeling in Hypoxic Pulmonary Hypertension. *Circ Res.* 2005;97(5):496–504.
217. Rosendahl A, Pardali E, Speletas M, ten Dijke P, Heldin C-H, Sideras P. Activation of Bone Morphogenetic Protein/Smad Signaling in Bronchial Epithelial Cells during Airway Inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002;27(2):160–9.
218. Feng J, Gao J, Li Y, Yang Y, Dang L, Ye Y, Deng J, Li A. BMP4 enhances foam cell formation by BMPR-2/Smad1/5/8 signaling. *Int J Mol Sci.* 2014;15(4):5536–52.
219. Hu J, Liu J, Kwok MWT, Wong RHL, Huang Y, Wan S. Bone Morphogenetic Protein-4 Contributes to Venous Endothelial Dysfunction in Patients With Diabetes Undergoing Coronary Revascularization. *Ann Thorac Surg.* 2013;95(4):1331–9.
220. Bentley H, Hamdy FC, Hart KA, Seid JM, Williams JL, Johnstone D, Russell RG. Expression of bone morphogenetic proteins in human prostatic adenocarcinoma and benign prostatic hyperplasia. *Br J Cancer.* 1992;66(6):1159–63.
221. Lubbe SJ, Pittman AM, Matijssen C, Twiss P, Olver B, Lloyd A, Qureshi M, Brown N, Nye E, Stamp G, Blagg J, Houlston RS. Evaluation of germline BMP4 mutation as a cause of colorectal cancer. *Hum Mutat.* 2011;32(1):E1928–38.
222. Ampuja M, Alarmo EL, Owens P, Havunen R, Gorska AE, Moses HL, Kallioniemi A. The impact of bone morphogenetic protein 4 (BMP4) on breast cancer metastasis in a mouse xenograft model. *Cancer Lett.* 2016;375(2):238–244.
223. Shirai Y, Ehata S, Yashiro M, Yanagihara K, Hirakawa K, Miyazono K. Bone Morphogenetic Protein-2 and -4 Play Tumor Suppressive Roles in Human Diffuse-Type Gastric Carcinoma. *Am J Pathol.* 2011;179(6):2920–30.

224. Bao Z, Zhang C, Yan W, Liu Y, Li M, Zhang W. BMP, Jiang Tao. BMP4, a strong better prognosis predictor, has a subtype preference and cell development association in gliomas. *J Transl Med.* 2013;11(1):100.
225. Nelsen SM, Christian JL. Site-specific cleavage of BMP4 by furin, PC6, and PC7. *J Biol Chem.* 2009;284(40):27157–66.
226. Gazzero E, Canalis E. Bone morphogenetic proteins and their antagonists. *Rev Endocr Metab Disord.* 2006;7(1):51–65.
227. Larrain J, Bachiller D, Lu B, Agius E, Piccolo S, Robertis EMD. BMP-binding modules in chordin: a model for signalling regulation in the extracellular space. *Development.* 2000;127(4):821–30.
228. Gazzero E, Gangji V, Canalis E. Bone morphogenetic proteins induce the expression of noggin, which limits their activity in cultured rat osteoblasts. *J Clin Invest.* 1998 Dec 15;102(12):2106–14.
229. Yadin D, Knaus P, Mueller TD. Structural insights into BMP receptors: Specificity, activation and inhibition. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2016;27:13–34.
230. Hassel S, Eichner A, Yakymovych M, Hellman U, Knaus P, Souchelnytskyi S. Proteins associated with type II bone morphogenetic protein receptor (BMPR-II) and identified by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *PROTEOMICS.* 2004;4(5):1346–58.
231. Zhang YE. Non-Smad Signaling Pathways of the TGF- β Family. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9(2):a022129.
232. Miyazono K, Maeda S, Imamura T. BMP receptor signaling: Transcriptional targets, regulation of signals, and signaling cross-talk. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2005;16(3):251–63.
233. Guo X, Wang X-F. Signaling cross-talk between TGF- β /BMP and other pathways. *Cell Res.* 2009;19(1):71–88.
234. Aubin J, Davy A, Soriano P. In vivo convergence of BMP and MAPK signaling pathways: impact of differential Smad1 phosphorylation on development and homeostasis. *Genes Dev.* 2004;18(12):1482–94.
235. Nakashima K, Yanagisawa M, Arakawa H, Kimura N, Hisatsune T, Kawabata M, Miyazono K, Taga T. Synergistic signaling in fetal brain by STAT3-Smad1 complex bridged by p300. *Science.* 1999;284(5413):479–82.
236. Jin E-J, Lee S-Y, Choi Y-A, Jung J-C, Bang O-S, Kang S-S. BMP-2-Enhanced Chondrogenesis Involves p38 MAPK-mediated Down-Regulation of Wnt-7a Pathway. *Mol Cells.* 22(3):353–9.
237. Kim JS, Crooks H, Dracheva T, Nishanian TG, Singh B, Jen J, Waldman T. Oncogenic beta-catenin is required for bone morphogenetic protein 4 expression in human cancer cells. *Cancer Res.* 2002;62(10):2744–8.
238. Dai J, Hall CL, Escara-Wilke J, Mizokami A, Keller JM, Keller ET. Prostate Cancer Induces Bone Metastasis through Wnt-Induced Bone Morphogenetic Protein-Dependent and Independent Mechanisms. *Cancer Res.* 2008;68(14):5785–94.

239. Shaw A, Gipp J, Bushman W. Exploration of Shh and BMP paracrine signaling in a prostate cancer xenograft. *Differentiation*. 2010;79(1):41–7.
240. Zhao M, Qiao M, Harris SE, Chen D, Oyajobi BO, Mundy GR. The Zinc Finger Transcription Factor Gli2 Mediates Bone Morphogenetic Protein 2 Expression in Osteoblasts in Response to Hedgehog Signaling. *Mol Cell Biol*. 2006;26(16):6197–208.
241. Shen, S., Wang, S., He, Y., Hu, H., Yao, B., Zhang, Y., 2020. Regulation of bone morphogenetic protein 4 on epithelial tissue. *J Cell Commun Signal* 2020; 14(3): 283–292.
242. Miyazaki Y, Oshima K, Fogo A, Ichikawa I. Evidence that bone morphogenetic protein 4 has multiple biological functions during kidney and urinary tract development. *Kidney Int*. 2003;63(3):835–44.
243. Abe E, Yamamoto M, Taguchi Y, Lecka-Czernik B, O'Brien CA, Economides AN, Stahl N, Jilka RL, Manolagas SC. 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):663–73.
244. Suzuki Y, Montagne K, Nishihara A, Watabe T, Miyazono K. BMPs promote proliferation and migration of endothelial cells via stimulation of VEGF-A/VEGFR2 and angiopoietin-1/Tie2 signalling. *J Biochem (Tokyo)*. 2008;143(2):199–206.
245. Panopoulou GD, Clark MD, Holland LZ, Lehrach H, Holland ND. AmphibMP2/4, an amphioxus bone morphogenetic protein closely related to *Drosophila* decapentaplegic and vertebrate BMP2 and BMP4: Insights into evolution of dorsoventral axis specification. *Dev Dyn*. 1998;213(1):130–9.
246. Furuta Y, Hogan BLM. BMP4 is essential for lens induction in the mouse embryo. *Genes Dev*. 1998;12(23):3764–75.
247. Hall AK, Miller RH. Emerging roles for bone morphogenetic proteins in central nervous system glial biology. *J Neurosci Res*. 2004;76(1):1–8.
248. Otsuka F. Multiple Endocrine Regulation by Bone Morphogenetic Protein System. *Endocr J*. 2010;57(1):3–14.
249. Shimasaki S, Moore RK, Erickson GF, Otsuka F. The role of bone morphogenetic proteins in ovarian function. *Reproduction* 2003 61:suppl323-337
250. Hu J, Chen YX, Wang D, Qi X, Li TG, Hao J, Mishina Y, Garbers DL, Zhao GQ. Developmental expression and function of Bmp4 in spermatogenesis and in maintaining epididymal integrity. *Dev Biol*. 2004;276(1):158–71.
251. Liu W, Selever J, Murali D, Sun X, Brugger SM, Ma L, Schwartz RJ, Maxson R, Furuta Y, Martin JF. Threshold-specific requirements for Bmp4 in mandibular development. *Dev Biol*. 2005;283(2):282–93.
252. Nie X, Luukko K, Kettunen P. BMP signalling in craniofacial development. *Int J Dev Biol*. 2004;50(6):511–21.
253. Suzuki A, Ueno N, Hemmati-Brivanlou A. *Xenopus* *msx1* mediates epidermal induction and neural inhibition by BMP4. *Development*. 1997;124(16):3037–44.
254. Zhu XJ, Liu Y, Dai ZM, Zhang X, Yang X, Li Y, Qiu M, Fu J, Hsu W, Chen Y, Zhang Z. BMP-FGF signaling axis mediates Wnt-induced epidermal stratification in developing mammalian skin. *PLoS Genet*. 2014;10(10):e1004687.

255. Robinson GW. Cooperation of signalling pathways in embryonic mammary gland development. *Nat Rev Genet* 8:963–972
256. Hoffman MP, Kidder BL, Steinberg ZL, Lakhani S, Ho S, Kleinman HK, Larsen M. Gene expression profiles of mouse submandibular gland development: FGFR1 regulates branching morphogenesis in vitro through BMP- and FGF-dependent mechanisms. *Development*. 2002;129(24):5767-78.
257. Botchkarev VA, Sharov AA. BMP signaling in the control of skin development and hair follicle growth. *Differentiation*. 2004;72(9–10):512–26.
258. Maas R, Bei M. The genetic control of early tooth development. *Crit Rev Oral Biol Med Off Publ Am Assoc Oral Biol*. 1997;8(1):4–39.
259. St Amand TR, Zhang Y, Semina EV, Zhao X, Hu Y, Nguyen L, Murray JC, Chen Y. Antagonistic signals between BMP4 and FGF8 define the expression of Pitx1 and Pitx2 in mouse tooth-forming anlage. *Dev Biol*. 2000;217(2):323-32.
260. Plikus MV, Zeichner-David M, Mayer JA, Reyna J, Bringas P, Thewissen JG, Snead ML, Chai Y, Chuong CM. Morphoregulation of teeth: modulating the number, size, shape and differentiation by tuning Bmp activity. *Evol Dev*. 2005;7(5):440-57.
261. Jia S, Kwon H-JE, Lan Y, Zhou J, Liu H, Jiang R. Bmp4-Msx1 signaling and Osr2 control tooth organogenesis through antagonistic regulation of secreted Wnt antagonists. *Dev Biol*. 2016;420(1):110–9.
262. Ramanathan A, Srijaya TC, Sukumaran P, Zain RB, Abu Kasim NH. Homeobox genes and tooth development: Understanding the biological pathways and applications in regenerative dental science. *Arch Oral Biol*. 2018;85:23–39.
263. Wang Y, Li L, Zheng Y, Yuan G, Yang G, He F, Chen Y. 2012. BMP activity is required for tooth development from the lamina to bud stage. *J Dent Res* 91: 690 –695
264. Tucker AS, Sharpe PT. Molecular Genetics of Tooth Morphogenesis and Patterning: The Right Shape in the Right Place. *J Dent Res*. 1999;78(4):826–34.
265. Zhang Y, Zhao X, Hu Y, St Amand T, Zhang M, Ramamurthy R, Qiu M, Chen Y. Msx1 is required for the induction of Patched by Sonic hedgehog in the mammalian tooth germ. *Dev Dyn*. 1999;215(1):45-53..
266. Zhang Y, Zhang Z, Zhao X, Yu X, Hu Y, Geronimo B, Fromm SH, Chen YP. A new function of BMP4: dual role for BMP4 in regulation of Sonic hedgehog expression in the mouse tooth germ. *Development*. 2000;127(7):1431-43.
267. Vaahtokari A, Åberg T, Jernvall J, Keränen S, Thesleff I. The enamel knot as a signaling center in the developing mouse tooth. *Mech Dev*. 1996;54(1):39–43.
268. Laurikkala J, Kassai Y, Pakkasjärvi L, Thesleff I, Itoh N. Identification of a secreted BMP antagonist, ectodin, integrating BMP, FGF, and SHH signals from the tooth enamel knot. *Dev Biol*. 2003;264(1):91–105.
269. Lin D, Huang Y, He F, Gu S, Zhang G, Chen Y, Zhang Y. Expression survey of genes critical for tooth development in the human embryonic tooth germ. *Dev Dyn*. 2007;236(5):1307-12.
270. Huang X-F, Chai Y. Molecular regulatory mechanism of tooth root development. *Int J Oral Sci*. 2012;4(4):177–81.

271. Gu K, Smoke RH, Rutherford RB. Expression of genes for bone morphogenetic proteins and receptors in human dental pulp. *Arch Oral Biol.* 1996;41(10):919–23.
272. Liu L, Liu Y-F, Zhang J, Duan Y-Z, Jin Y. Ameloblasts serum-free conditioned medium: bone morphogenic protein 4-induced odontogenic differentiation of mouse induced pluripotent stem cells. *J Tissue Eng Regen Med.* 2016;10(6):466–74.
273. Huang D, Ren J, Li R, Guan C, Feng Z, Bao B, Wang W, Zhou C. Tooth Regeneration: Insights from Tooth Development and Spatial-Temporal Control of Bioactive Drug Release. *Stem Cell Rev Rep.* 2020;16(1):41-55.
274. Li Y-H, Yang J, Zhang J-L, Liu J-Q, Zheng Z, Hu D-H. BMP4 rs17563 polymorphism and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: a meta-analysis. *Medicine (Baltim.)*, 96 (31) (2017), Article e7676
275. Bakrania P, Efthymiou M, Klein JC, Salt A, Bunyan DJ, Wyatt A, Ponting CP, Martin A, Williams S, Lindley V, Gilmore J, Restori M, Robson AG, Neveu MM, Holder GE, Collin JR, Robinson DO, Farndon P, Johansen-Berg H, Gerrelli D, Ragge NK. Mutations in BMP4 cause eye, brain, and digit developmental anomalies: overlap between the BMP4 and hedgehog signaling pathways. *Am J Hum Genet.* 2008;82(2):304-19.
276. Kaplan FS. Dysregulation of the BMP-4 Signaling Pathway in Fibrodysplasia Ossificans Progressiva. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1068(1):54–65.
277. Anderson L, Lowery JW, Frank DB, Novitskaya T, Jones M, Mortlock DP, Chandler RL, de Caestecker MP. Bmp2 and Bmp4 exert opposing effects in hypoxic pulmonary hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2010;298(3):R833-42.
278. Ealy M, Meyer NC, Corchado JC, Schrauwen I, Bress A, Pfister M, Van Camp G, Smith RJ. Rare variants in BMP2 and BMP4 found in otosclerosis patients reduce Smad signaling. *Otol Neurotol.* 2014;35(3):395-400.
279. Gilbane AJ, Derrett-Smith E, Trinder SL, Good RB, Pearce A, Denton CP, Holmes AM. Impaired bone morphogenetic protein receptor II signaling in a transforming growth factor- β -dependent mouse model of pulmonary hypertension and in systemic sclerosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;191(6):665-77.
280. Ramesh Babu L, Wilson SG, Dick IM, Islam FMA, Devine A, Prince RL. Bone mass effects of a BMP4 gene polymorphism in postmenopausal women. *Bone.* 2005;36(3):555–61.
281. Rothhammer T, Poser I, Soncin F, Bataille F, Moser M, Bosserhoff A-K. Bone Morphogenic Proteins Are Overexpressed in Malignant Melanoma and Promote Cell Invasion and Migration. *Cancer Res.* 2005 Jan 15;65(2):448–56.
282. Jin Y, Tipoe GL, Liong EC, Lau TY, Fung PC, Leung KM. Overexpression of BMP-2/4, -5 and BMPRI-IA associated with malignancy of oral epithelium. *Oral Oncol.* 2001;37(3):225–33.
283. Fang WT, Fan CC, Li SM, Jang TH, Lin HP, Shih NY, Chen CH, Wang TY, Huang SF, Lee AY, Liu YL, Tsai FY, Huang CT, Yang SJ, Yen LJ, Chuu CP, Chen CY, Hsiung CA, Chang JY, Wang LH, Chang IS, Jiang SS. Downregulation of a putative tumor suppressor BMP4 by SOX2 promotes growth of lung squamous cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2014 A;135(4):809-19.
284. Laatio L, Myllynen P, Serpi R, Rysä J, Ilves M, Lappi-Blanco E, Ruskoaho H, Vähäkangas K, Puustola U. BMP-4 expression has prognostic significance in advanced

- serous ovarian carcinoma and is affected by cisplatin in OVCAR-3 cells. *Tumour Biol.* 2011;32(5):985-95.
285. Zhao H, Ayrault O, Zindy F, Kim J-H, Roussel MF. Post-transcriptional down-regulation of *Atoh1/Math1* by bone morphogenic proteins suppresses medulloblastoma development. *Genes Dev.* 2008;22(6):722–7.
286. Kallioniemi A. Bone morphogenetic protein 4—a fascinating regulator of cancer cell behavior. *Cancer Genet.* 2012;205(6):267–77.
287. Malkoski SP, Wang X-J. Two sides of the story? *Smad4* loss in pancreatic cancer versus head-and-neck cancer. *FEBS Lett.* 2012;586(14):1984–92.
288. Hsu M-Y, Rovinsky S, Penmatcha S, Herlyn M, Muirhead D. Bone morphogenetic proteins in melanoma: angel or devil? *Cancer Metastasis Rev.* 2005;24(2):251–63.
289. Genthe JR, Min J, Farmer DM, Shelat AA, Grenet JA, Lin W, Finkelstein D, Vrijens K, Chen T, Guy RK, Clements WK, Roussel MF. Ventromorphins: A New Class of Small Molecule Activators of the Canonical BMP Signaling Pathway. *ACS Chem Biol.* 2017;12(9):2436-2447
290. Sanvitale CE, Kerr G, Chaikuad A, Ramel M-C, Mohedas AH, Reichert S, Wang Y, Triffitt JT, Cuny GD, Yu PB, Hill CS, Bullock AN. A new class of small molecule inhibitor of BMP signaling. *PLOS ONE.* 2013;8:e62721.
291. Kumamoto H, Ooya K. Expression of bone morphogenetic proteins and their associated molecules in ameloblastomas and adenomatoid odontogenic tumors. *Oral Dis.* 2006;12(2):163–70.
292. Nascimento MAB, Nonaka CFW, Barboza CAG, Freitas R de A, Pereira Pinto L, Souza LB de. Immunoexpression of BMP-2 and BMP-4 and their receptors, *BMPR-IA* and *BMPR-II*, in ameloblastomas and adenomatoid odontogenic tumors. *Arch Oral Biol.* 2017;73:223–9.
293. Takebe Y, Tsujigiwa H, Katase N, Siar CH, Takabatake K, Fujii M, Tamamura R, Nakano K, Nagatsuka H. Parenchyma-stromal interactions induce fibrosis by secreting *CCN2* and promote osteoclastogenesis by stimulating *RANKL* and *CD68* through activated *TGF-β/BMP4* in ameloblastoma. *J Oral Pathol Med.* 2017;46(1):67-75. doi: 10.1111/jop.12467.
294. Kim S-G, Yang B-E, Oh S-H, Min S-K, Hong S-P, Choi J-Y. The differential expression pattern of *BMP-4* between the dentigerous cyst and the odontogenic keratocyst. *J Oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol.* 2005;34(3):178–83.
295. Swarup N, Nayak MT, Chowdhary Z, Mehendiratta M, Khatana S, Choi SJ, Sagolsem C. Evaluation and Immunolocalization of *BMP4* and *FGF8* in Odontogenic Cyst and Tumors. *Anal Cell Pathol (Amst).* 2018;2018:1204549.
296. Gao Y, Yang G, Weng T, Du J, Wang X, Zhou J, Wang S, Yang X. Disruption of *Smad4* in odontoblasts causes multiple keratocystic odontogenic tumors and tooth malformation in mice. *Mol Cell Biol.* 2009;29(21):5941-51.
297. Jiang W, Yang G, Chen F, Yang X, Li T. Disruption of *Smad4* in odontoblasts and dental epithelial cells influences the phenotype of multiple keratocystic odontogenic tumors. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015;463(3):280–4.

298. Li J, Feng J, Liu Y, Ho TV, Grimes W, Ho HA, Park S, Wang S, Chai Y. BMP-SHH signaling network controls epithelial stem cell fate via regulation of its niche in the developing tooth. *Dev Cell*. 2015;33(2):125-35
299. Rahman M, Azari H, Deleyrolle L, Millette S, Zeng H, Reynolds BA. Controlling tumor invasion: bevacizumab and BMP4 for glioblastoma. *Future Oncol*. 2013;9(9):1389-96.
300. A Dose Escalation Phase I Study Of Human- Recombinant Bone Morphogenetic Protein 4 Administrated Via CED In GBM Patients - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cited 2020 Dec 9]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02869243>
301. Golson ML, Kaestner KH. Fox transcription factors: from development to disease. *Development*. 2016;143(24):4558-70.
302. Weigel D, Jürgens G, Küttner F, Seifert E, Jäckle H. The homeotic gene fork head encodes a nuclear protein and is expressed in the terminal regions of the *Drosophila* embryo. *Cell*. 1989;57(4):645-58.
303. Hännenhalli S, Kaestner KH. The evolution of Fox genes and their role in development and disease. *Nat Rev Genet*. 2009;10(4):233-40.
304. Weigel D, Jäckle H. The fork head domain: A novel DNA binding motif of eukaryotic transcription factors? *Cell*. 1990;63(3):455-6.
305. Katoh M, Katoh M. Human FOX gene family (Review). *Int J Oncol*. 2004;25(5):1495-50
306. Schorpp M, Hofmann M, Dear TN, Boehm T. Characterization of mouse and human nude genes. *Immunogenetics*. 1997;46(6):509-15.
307. Rodewald H-R. Thymus organogenesis. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:355-88.
308. Žuklys S, Handel A, Zhanybekova S, Govani F, Keller M, Maio S, Mayer CE, Teh HY, Hafen K, Gallone G, Barthlott T, Ponting CP, Holländer GA. Foxn1 regulates key target genes essential for T cell development in postnatal thymic epithelial cells. *Nat Immunol*. 2016;17(10):1206-1215.
309. Chen L, Xiao S, Manley NR. Foxn1 is required to maintain the postnatal thymic microenvironment in a dosage-sensitive manner. *Blood*. 2009; 113:567-74.
310. Palamaro L, Romano R, Fusco A, Giardino G, Gallo V, Pignata C. FOXN1 in Organ Development and Human Diseases. *Int Rev Immunol*. 2014;33(2):83-93.
311. Rota, I.A., Dhalla, F. FOXN1 deficient nude severe combined immunodeficiency. *Orphanet J Rare Dis* 2017;12;6.
312. Nehls M, Pfeifer D, Schorpp M, Hedrich H, Boehm T. New member of the winged-helix protein family disrupted in mouse and rat nude mutations. *Nature*. 1994;372(6501):103-7.
313. Su D, Navarre S, Oh W, Condie BG, Manley NR. A domain of Foxn1 required for crosstalk-dependent thymic epithelial cell differentiation. *Nat Immunol*. 2003;4(11):1128-35.
314. Clark KL, Halay ED, Lai E, Burley SK. Co-crystal structure of the HNF-3/fork head DNA-recognition motif resembles histone H5. *Nature*. 1993;364(6436):412-20.
315. Brissette JL, Li J, Kamimura J, Lee D, Dotto GP. The product of the mouse nude locus, *Whn*, regulates the balance between epithelial cell growth and differentiation. *Genes Dev*. 1996;10(17):2212-21.

316. Lee D, Prowse DM, Brissette JL. Association between Mouse nude Gene Expression and the Initiation of Epithelial Terminal Differentiation. *Dev Biol.* 1999;208(2):362–74.
317. Prowse D.M, Lee D, Weiner L., Jiang N, Magro C.M, Baden H.P, Brissette J.L. Ectopic Expression of the nude Gene Induces Hyperproliferation and Defects in Differentiation: Implications for the Self-Renewal of Cutaneous Epithelia. *Dev Biol.* 1999;212(1):54-67.
318. Baxter RM, Brissette JL. Role of the Nude Gene in Epithelial Terminal Differentiation. *J Invest Dermatol.* 2002;118(2):303–9.
319. Mecklenburg L, Paus R, Halata Z, Bechtold LS, Fleckman P, Sundberg JP. *FOXN1 Is Critical for Onycholemmal Terminal Differentiation in Nude (Foxn1nu) Mice.* *J Invest Dermatol.* 2004;123(6):1001–11.
320. Janes SM. Transient activation of FOXN1 in keratinocytes induces a transcriptional programme that promotes terminal differentiation: contrasting roles of FOXN1 and Akt. *J Cell Sci.* 2004;117(18):4157–68.
321. Bukowska J, Kopcewicz M, Walendzik K, Gawronska-Kozak B. *Foxn1 in Skin Development, Homeostasis and Wound Healing.* *Int J Mol Sci.* 2018;19(7):1956.
322. Coffey PJ, Burgering BMT. Forkhead-box transcription factors and their role in the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2004;4(11):889–99.
323. Swann JB, Krauth B, Happe C, Boehm T. Cooperative interaction of BMP signalling and Foxn1 gene dosage determines the size of the functionally active thymic epithelial compartment. *Sci Rep.* 2017;7(1):8492.
324. Bleul CC, Boehm T. *BMP Signaling Is Required for Normal Thymus Development.* *J Immunol.* 2005;175(8):5213–21.
325. Balciunaite G, Keller MP, Balciunaite E, Piali L, Zuklys S, Mathieu YD, Gill J, Boyd R, Sussman DJ, Holländer GA. *Wnt glycoproteins regulate the expression of FoxN1, the gene defective in nude mice.* *Nat Immunol.* 2002;3(11):1102-8.
326. Bain VE, Gordon J, O'Neil JD, Ramos I, Richie ER, Manley NR. Tissue-specific roles for sonic hedgehog signaling in establishing thymus and parathyroid organ fate. *Development.* 2016;143(21):4027–37.
327. Andl T. *Epithelial Bmpr1a regulates differentiation and proliferation in postnatal hair follicles and is essential for tooth development.* *Development.* 2004;131(10):2257–68.
328. Cai J, Lee J, Kopan R, Ma L. Genetic interplays between Msx2 and Foxn1 are required for Notch1 expression and hair shaft differentiation. *Dev Biol.* 2009;326:420–430
329. Cai J, Ma L. *Msx2 and Foxn1 regulate nail homeostasis. genesis.* 2011;49(6):449–59.
330. Kandyba E, Leung Y, Chen Y-B, Widelitz R, Chuong C-M, Kobiela K. Competitive balance of intrabulge BMP/Wnt signaling reveals a robust gene network ruling stem cell homeostasis and cyclic activation. *Proc Natl Acad Sci.* 2013;110(4):1351–6.
331. Kur-Piotrowska A, Kopcewicz M, Kozak LP, Sachadyn P, Grabowska A, Gawronska-Kozak B. Neotenic phenomenon in gene expression in the skin of Foxn1- deficient (nude) mice - a projection for regenerative skin wound healing. *BMC Genomics.* 2017;18(1):56.

332. Li J, Baxter RM, Weiner L, Goetinck PF, Calautti E, Brissette JL. *Foxn1* promotes keratinocyte differentiation by regulating the activity of protein kinase C. *Differ Res Biol Divers.* 2007;75(8):694–701.
333. Nonaka D, Henley JD, Chiriboga L, Yee H. Diagnostic Utility of Thymic Epithelial Markers CD205 (DEC205) and *Foxn1* in Thymic Epithelial Neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2007;31(7):1038–1044.
334. Weissferdt A, Moran CA. *Thymic Carcinoma, Part 1A Clinicopathologic and Immunohistochemical Study of 65 Cases.* *Am J Clin Pathol.* 2012;138(1):103–14.
335. Mandinova A, Kolev V, Neel V, Hu B, Stonely W, Lieb J, Wu X, Colli C, Han R, Pazin MJ, Ostano P, Dummer R, Brissette JL, Dotto GP. A positive FGFR3/FOXN1 feedback loop underlies benign skin keratosis versus squamous cell carcinoma formation in humans. *J Clin Invest.* 2009 ;119(10):3127-37.
336. Neel VA, Todorova K, Wang J, Kwon E, Kang M, Liu Q, Gray N, Lee SW, Mandinova A. Sustained Akt Activity Is Required to Maintain Cell Viability in Seborrheic Keratosis, a Benign Epithelial Tumor. *J Invest Dermatol.* 2016;136(3):696-705.
337. Heidenreich B, Denisova E, Rachakonda S, Sanmartin O, Dereani T, Hosen I, Nagore E, Kumar R. Genetic alterations in seborrheic keratoses. *Oncotarget.* 2017;8(22):36639-36649.
338. Ishigami T, Hida Y, Matsudate Y, Murao K, Kubo Y. The involvement of fibroblast growth factor receptor signaling pathways in dermatofibroma and dermatofibrosarcoma protuberans. *J Med Invest.* 2013;60(1.2):106–13.
339. Ji X, Ji Y, Wang W, Xu X. Forkhead box N1 inhibits the progression of non-small cell lung cancer and serves as a tumor suppressor. *Oncol Lett.* 2018;15(5):7221–30.
340. Bredenkamp N, Nowell CS, Blackburn CC. Regeneration of the aged thymus by a single transcription factor. *Development.* 2014;141(8):1627–37.
341. Bredenkamp N, Ulyanchenko S, O'Neill KE, Manley NR, Vaidya HJ, Blackburn CC. An organized and functional thymus generated from FOXN1-reprogrammed fibroblasts. *Nat Cell Biol.* 2014;16(9):902–8.
342. Grabowska A.I., Wilanowski T. FOXN1 Transcription Factor in Epithelial Growth and Wound Healing. *Mol. Cell Boil.* 2017;37.
343. Canene-Adams K. Preparation of formalin-fixed paraffin-embedded tissue for immunohistochemistry. *Methods Enzymol* 2013;533:225-33
344. Alarmo EL, Huhtala H, Korhonen T, Pylkkänen L, Holli K, Kuukasjärvi T, Parkkila S, Kallioniemi A. Bone morphogenetic protein 4 expression in multiple normal and tumor tissues reveals its importance beyond development. *Mod Pathol.* 2013;26(1):10-21.
345. Yu YY, Lieu S, Lu C, Mielau T, Marcucio RS, Colnot C. Immunolocalization of BMPs, BMP antagonists, receptors, and effectors during fracture repair. *Bone* 2010;46:841–851
346. Santos HBP, Morais EF, Cavalcante RB, Nogueira RLM, Nonaka CFW, Souza LB, Freitas RA. Immunoexpression of DNA base excision repair and nucleotide excision repair proteins in ameloblastomas, syndromic and non-syndromic odontogenic keratocysts and dentigerous cysts. *Archives of oral biology* 2020;110:104627

347. Gao Z, Mackenzie IC, Williams DM, Cruchley AT, Leigh I, Lane EB. Patterns of keratin-expression in rests of Malassez and periapical lesions. *J Oral Pathol* 1988;17:178 – 85.
348. Meara JG, Pilch BZ, Shah SS, Cunningham MJ. Cytokeratin expression in the odontogenic keratocyst. *Journal of oral and maxillofacial surgery* 2000;58:862-865
349. Kulesa και Kandyba E, Leung Y, Chen YB, Widelitz R, Chuong CM, Kobiela K. 2013. Competitive balance of intrabulge BMP/Wnt signaling reveals a robust gene network ruling stem cell homeostasis and cyclic activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:1351–13
350. Rimm DL. What brown cannot do for you. *Nat Biotechnol* 2006; 24: 914-6.
351. Meyerholz DK, Beck AP. Principles and approaches for reproducible scoring of tissue stains in research. *Lab Invest.* 2018;98(7):844–855
352. Jahn, S.W.; Plass, M.; Moinfar, F. Digital Pathology: Advantages, Limitations and Emerging Perspectives. *J. Clin. Med.* 2020, 9, 3697.
353. Hanna MG, Reuter VE, Ardon O, Kim D, Sirintrapun SJ, Schüffler PJ, Busam KJ, Sauter JL, Brogi E, Tan LK, Xu B, Bale T, Agaram NP, Tang LH, Ellenson LH, Philip J, Corsale L, Stamelos E, Friedlander MA, Ntiamoah P, Labasin M, England C, Klimstra DS, Hameed M. Validation of a digital pathology system including remote review during the COVID-19 pandemic. *Mod Pathol.* 2020;33(11):2115-2127.
354. Grillo F, Bruzzone M, Pigozzi S, Prosapio S, Migliora P, Fiocca R, Mastracci L. Immunohistochemistry on old archival paraffin blocks: is there an expiry date? *J Clin Pathol.* 2017;70(11):988-993.
355. Mirlacher M, Kasper M, Storz M, Knecht Y, Durmuller U, Simon R, Mihatsch MJ, Sauter G. Influence of slide aging on results of translational research studies using immunohistochemistry. *Mod Pathol* 2004;17:1414–1420
356. Gurgel CA, Ramos EAG, Azevedo RA, Sarmiento VA, Da Silva Carvalho AM, Dos Santos JN Expression of Ki-67, p53 and p63 proteins in keratocyst odontogenic tumours: An immunohistochemical study. *J Mol Histol* 2008;39:311-316
357. Portes, J., Cunha, K. S. G., da Silva, L. E., da Silva, A. K. F., Conde, D. C., & Junior, A. S.. Computerized Evaluation of the Immunoeexpression of Ki-67 Protein in Odontogenic Keratocyst and Dentigerous Cyst. *Head and neck pathology*, 2020;14(3), 598-605.
358. Živković ND, Mihailović DS, Kostić MS, Cvetanović AS, Mijović ŽŽ, Milentijević MV, Denčić TV. Markers of proliferation and cytokeratins in the differential diagnosis of jaw cysts. *Ear Nose Throat J.* 2017 Sep;96(9):376-383.
359. Huda M. Hammad, Omar M. Nagrash, Rima A. Safadi. Maspin, Syndecan-1, and Ki-67 in the Odontogenic Keratocyst: An Immunohistochemical Analysis. *Int J Dent.* 2020;2020:7041520
360. Park S, Jung HS, Jung YS, Nam W, Cha JY, Jung HD. Changes in Cellular Regulatory Factors before and after Decompression of Odontogenic Keratocysts. *J. Clin. Med.* 2021, 10(1), 30;
361. Leonardi R, Matthews JB, Loreto C, Musumeci G, Campisi G, Lo Muzio L, dos Santos JN, Pastorino L, Bufo P, Pannone G. Beta-catenin and survivin expression in keratocystic odontogenic tumor (KCOT). A comparative immunohistochemical study in primary, recurrent

- and nevoid basal cell carcinoma syndrome (NBCCS)-associated lesions. *Histol Histopathol* 2013;28:1175-1184
362. Shimada Y, Katsube Ki, Kabasawa Y, Morita Ki, Omura K, Yamaguchi A, Sakamoto K. Integrated Genotypic Analysis of Hedgehog-Related Genes Identifies Subgroups of Keratocystic Odontogenic Tumor with Distinct Clinicopathological Features. *PLoS ONE* 2013;8:1-11
363. Kalogirou EM, Thermos G, Zogopoulos V, Foutadakis S, Michalopoulos I, Aggelopoulos M, Tosios KI. The immunohistochemical profile of Basal Cell Nevus Syndrome-associated and sporadic odontogenic keratocysts: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig.* 2021;25(6):3351-3367
364. Vassar M, Holzmann M. The retrospective chart review: important methodological considerations. *J Educ Eval Health Prof* 2013;10:12
365. Jain KS, Bodhankar K, Desai RS, Bansal S, Shirsat P, Prasad P, Shah A. Absence of BRAFV600E immunohistochemical expression in sporadic odontogenic keratocyst, syndromic odontogenic keratocyst and orthokeratinized odontogenic cyst. *J Oral Pathol Med.* 2020;49(10):1061-1067.
366. Juuri E, Isaksson S, Jussila M, Heikinheimo K, Thesleff I. Expression of the stem cell marker, SOX2, in ameloblastoma and dental epithelium. *Eur J Oral Sci* 2013;121:509–16
367. Woo WM, Zhen HH, Oro AE. Shh maintains dermal papilla identity and hair morphogenesis via a Noggin-Shh regulatory loop. *Genes and Development* 2012;26:1235–46
368. Zhang, Z., Song, Y., Zhang, X., Tang, J., Chen, J. and Chen, Y. (2003). *Msx1/Bmp4 genetic pathway regulates mammalian alveolar bone formation via induction of Dlx5 and Cbfa1.* *Mech. Dev.* 120, 1469-1479.
369. Sneddon, J.B., Zhen, H.H., Montgomery, K., van de Rijn, M., Tward, A.D., West, R., Gladstone, H., Chang, H.Y., Morganroth, G.S., Oro, A.E., Brown PO (2006). Bone morphogenetic protein antagonist gremlin 1 is widely expressed by cancer-associated stromal cells and can promote tumor cell proliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 14842–14847
370. Detmer, K., Steele, T. A., Shoop, M. A., and Dannawi, H. Lineage-restricted expression of bone morphogenetic protein genes in human hematopoietic cell lines. *Blood Cells Mol Dis* 25:310–323; 1999.
371. Soluk Tekkesin M, Mutlu S, Olgaç V. Expressions of bax, bcl-2 and ki-67 in odontogenic keratocysts (keratocystic odontogenic tumor) in comparison with ameloblastomas and radicular cysts. *Turk Patoloji Derg* 2012;28:49-55
372. Danbolt NC, Zhou Y, Furness DN, Holmseth S. Strategies for immunohistochemical protein localization using antibodies: What did we learn from le neurotransmitter transporters in glial cells and neurons. *Glia.* 2016;64:2045-2064.
373. Agamia, N. F., Abdallah, D. M., Sorour, O., Mourad, B., and Younan, D. N. (2016). Skin expression of mammalian target of rapamycin and forkhead box transcription factor O1, and serum insulin-like growth factor-1 in patients with acne vulgaris and their relationship with diet. *Br. J. Dermatol.* 174, 1299–1307.
374. Hui MK, Chan KW, Luk JM, Lee NP, Chung Y, Cheung LC, Srivastava G, Tsao SW, Tang JC, Law S. Cytoplasmic Forkhead box M1 (FoxM1) in esophageal squamous cell

- carcinoma significantly correlates with pathological disease stage. *World J Surg.* 2012;36(1):90-7.
375. Shimoda Y, Ubukata Y, Handa T, Yokobori T, Watanabe T, Gantumur D, Hagiwara K, Yamanaka T, Tsukagoshi M, Igarashi T, Watanabe A, Kubo N, Araki K, Harimoto N, Katayama A, Hikino T, Sano T, Ogata K, Kuwano H, Shirabe K, Oyama T. High expression of forkhead box protein C2 is associated with aggressive phenotypes and poor prognosis in clinical hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer.* 2018;18(1):597.
376. Komiyama K, Miki Y, Oda Y, Tachibana T, Okaue M, Tanaka H, Moro I. Uncommon dermoid cyst presented in the mandible possibly originating from embryonic epithelial remnants. *J Oral Pathol Med.* 2002;31:184-7
377. Bonder L, Woldenberg Y, Sion-Vardy N. Dermoid cyst of the maxilla. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34:453–5.
378. Firth, N., Alsarraf, A., Vujcich, N., & Kujan, O. Synchronous occurrence of odontogenic keratocyst and ameloblastoma: A case report and review of the literature. *Clin Pract,* 2020;10(2), 1205.
379. Ma L, Liu J, Wu T, Plikus M, Jiang TX, Bi Q, Liu YH, Müller-Röver S, Peters H, Sundberg JP, Maxson R, Maas RL, Chuong CM. 'Cyclic alopecia' in *Msx2* mutants: defects in hair cycling and hair shaft differentiation. *Development.* 2003;130(2):379-89.
380. So F, Daley TD, Jackson L, Wysocki GP. Immunohistochemical localization of fibroblast growth factors FGF-1 and FGF-2, and receptors FGFR2 and FGFR3 in the epithelium of human odontogenic cysts and tumors. *J Oral Pathol Med.* 2001;30(7):428-33
381. Hakim SG, Kosmehl H, Sieg P, Trenkle T, Jacobsen HC, Benedek GA, Ribbat J, Driemel O. Altered expression of cell-cell adhesion molecules beta-catenin/E-cadherin and related Wnt-signaling pathway in sporadic and syndromal keratocystic odontogenic tumors. *Clin Oral Investig* 2011;15:321-328
382. Honda MJ, Imaizumi M, Tsuchiya S, Morszeck C. Dental follicle stem cells and tissue engineering. *J Oral Sci.* 2010;52(4):541-52.
383. Saito K, Michon F, Yamada A, Inuzuka H, Yamaguchi S, Fukumoto E, Yoshizaki K, Nakamura T, Arakaki M, Chiba Y, Ishikawa M, Okano H, Thesleff I, Fukumoto S. *Sox21* Regulates *Anapc10* Expression and Determines the Fate of Ectodermal Organ. *iScience.* 2020;23(7):101329
384. Yoshizaki K, Fukumoto S, Bikle DD, Oda Y. Transcriptional Regulation of Dental Epithelial Cell Fate. *Int J Mol Sci.* 2020;21(23):8952.
385. Grinnell KL, Bickenbach JR. Skin keratinocytes pre-treated with embryonic stem cell-conditioned medium or BMP4 can be directed to an alternative cell lineage. *Cell Prolif.* 2007;40(5):685-705
386. Marrelli M., Paduano F., Tatullo M. Cells isolated from human periapical cysts express mesenchymal stem cell-like properties. *Int. J. Biol. Sci.* 2013;9:1070–1078

IX. ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ACVR2A= *Activin receptor type 2A*

ACVR2B= *Activin receptor type 2B*

ADAM12= *Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 12*

AE1/AE3= *Keratin cocktail that detects CK1 - 8, 10, 14 - 16 and 19*

AKT (PKB)= *AKT serine/threonine kinase (protein kinase B)*

ALK1 (ACVRL1)= *Activin receptor-like kinase 1 (Activin receptor type L1)*

ALK2 (ACVR1)= *Activin receptor-like kinase 2 (Activin receptor type 1)*

ALK3(BMPR-IA)= *Activin receptor-like kinase 3 (BMP receptor IA)*

ALK4 (ACVR1B)= *Activin receptor-like kinase 4 (Activin receptor type 1B)*

ALK6 (BMPR-IB)= *Activin receptor-like kinase 6 (BMP receptor 1B)*

αSMA=*alpha-Smooth muscle actin*

BAX= *Bcl-2-associated X*

BCL2=*B-cell lymphoma 2*

BCL2L11 (Bim)=*Bcl-2-like protein*

BMPR= *Bone morphogenetic protein receptor*

BRAF= *v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B*

BRAFv600e= *BRAF mutated (valine (V) substituted by glutamic acid (E) at amino acid 600)*

CD1a=*Cluster of differentiation 1a*

CD56= *Cluster of differentiation 56*

CDON= *Cell adhesion molecule-related/down-regulated by oncogenes*

CEA= *Carcinoembryonic antigen*

CK=*Cytokeratin*

DNA=*Deoxyribonucleic acid*

EGFR= *Epidermal growth factor receptor*

EMA=*Epithelial membrane antigen*

ERK= *Extracellular signal-regulated kinases*

EpCAM= *Epithelial cell adhesion molecule*

FAK= *Focal adhesion Kinase*

FGF=*Fibroblast growth factor*

FHIT= fragile histidine triad
GLI1= *GLI* family zinc finger 1
GLI2= *GLI* family zinc finger 2
GLUT-1= Glucose transporter 1
Hb-EGF= Heparin-binding EGF-like growth factor
HIF1a= Hypoxia-inducible factor 1a
JAK= Janus kinase
JNK= c-Jun N-terminal kinase
KL-1= Cytokeratin antibody KL-1 (Broad spectrum keratin antibody for CK1-4, 10-11 or CK1, 2, 5-8, 11, 14, 16-18)
LINE1= Long interspersed nuclear elements class 1
LATS2= Large tumor suppressor kinase 2
MAPK= Mitogen-activated protein kinase
MCC= Mutated in colorectal cancers
MLL= Myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia homolog
MMPs= Matrix metalloproteinases
MSX1&2= Msh homeobox 1 & 2
mTOR= Mammalian target of rapamycin
PAX3= Paired box gene 3
PCR= Polymerase chain reaction
PI3K= Phosphoinositide 3-kinase
PKC= Protein kinase C
PTCH1= Patched homolog 1
PTCH2= Patched homolog 2
RANKL= Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (*RANKL*)
Rho-A= Ras homolog family member A
RNA= Ribonucleic acid
R-SMAD= receptor regulated SMAD
RT-PCR= Reverse transcriptase PCR
SHH= Sonic Hedgehog
SMO= Smoothed
SMAD= Mothers against decapentaplegic homolog
i-SMAD= inhibitory SMAD

co-SMAD= complex SMAD

SOX2= SRY (sex determining region Y)-box 2

STAT= Signal transducer and activator of transcription

SUFU=Suppressor of fused

TBX1= Testis-specific T-box transcription factor

TCF/LEF= T-cell factor /Lymphoid enhancer-binding factor complex

TGF α = Transforming growth factor alpha

TGF β =Transforming growth factor beta

TK= Polyclonal keratin antibody (detecting 41 to 65 kDa keratins)

TNFRSF25= Tumor necrosis factor receptor superfamily member 25

TP53= Tumor protein 53

TRAIL= TNF-related apoptosis-inducing ligand

TSLC1=Tumor suppressor in lung cancer 1

VEGF=Vascular endothelial growth factor

