

Aus dem Department für Diagnostische Labormedizin der
Universität Tübingen
Institut für Pathologie und Neuropathologie
Abteilung Allgemeine Pathologie und Pathologische
Anatomie

**Die Expressionsprofile des Epithels von odontogenen
Zysten unter besonderer Berücksichtigung des
keratozystischen odontogenen Tumors und des
epithelialen Zelladhäsionsmoleküls EpCAM bei
Nachweis mittels Antikörperklon Ber-EP4**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
der Eberhardt Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Straub, Dorothea

2016

Dekan:	Professor Dr. I. B. Authenrieth
1.Berichterstatter:	Professor Dr. F. Fend
2.Berichterstatter:	Professor Dr. Dr. M. Grimm
Tag der Disputation:	25.11.2016

Meiner Familie

Inhalt

Abkürzungsverzeichnis:	IV
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	X
KAPITEL 1 EINLEITUNG.....	1
1.1 Kieferzysten	1
1.1.1 Einteilung und Überblick	1
1.1.2 Grundlagen der Zahnentwicklung	3
1.1.3 Allgemeine Definition, Ätiologie und Epidemiologie.....	5
1.1.4 Der keratozystische odontogene Tumor (KZOT)	7
1.1.5 Die radikuläre Zyste	17
1.1.6 Die follikuläre Zyste.....	21
1.1.7 Das Ameloblastom.....	24
1.2 Die immunhistochemischen Expressionsprofile zur Differenzierung von odontogenen Zysten und dem Ameloblastom.....	29
1.2.1 Immunhistologische Marker – Antikörper, Definition, Einsatz, Ziel	29
1.2.1.1 Zytokeratine	29
1.2.1.2 Perlecan.....	33
1.2.1.3 Lectine	34
1.2.1.4 Nachweis proliferierender Epithelzellen	35
1.3 Das Gorlin-Goltz Syndrom.....	38
1.3.1 Genetischer Hintergrund des Gorlin- Goltz-Syndroms und möglicher Zusammenhang mit nicht-Syndrom assoziierten (sporadischen) KZOTs	39
1.4 Das Basalzellkarzinom (Basaliom)	40
1.4.1 Definition, Epidemiologie und Ätiologie	40
1.4.2 Klinische Diagnostik.....	40
1.4.3 Histologische Kriterien	41
1.4.4 Immunhistologische Merkmale.....	42
1.4.5 Molekulare Merkmale.....	43
1.4.6 Prognose und Therapie.....	45
1.5 Fragestellung und Zielsetzung.....	46
KAPITEL 2 MATERIAL UND METHODE.....	47
2.1 Material	47
2.1.1 Materialgewinnung.....	47

2.1.2 Standardfärbung, Antikörper, Reagenzien	48
2.2 Methoden	53
2.2.1 HE- Nachbegutachtung.....	53
2.2.2 Herstellung der Tissue Microarrays (TMAs, Multiblöcke).....	53
2.2.3 Durchführung der immunhistologischen Färbungen	55
2.2.3.1 Iview Detection Kit	55
2.2.3.2 UltraView Detection Kit	58
2.2.4 Auswertungsmethode	62
2.2.5 Kontrollgewebe	63
KAPITEL 3 ERGEBNISSE	64
3.1 Die Korrelation der klinischen/radiologischen und der histologischen Diagnostik	64
3.2 Die Ber-EP4 Färbung	65
3.2.1 Keratozystischer odontogener Tumor (KZOT).....	68
3.2.2 Keratozystische odontogene Tumoren bei Gorlin-Goltz Syndrom	70
3.2.3 Vergleich von keratozystischen odontogenen Tumoren mit Entzündung und ohne Entzündung.....	71
3.2.4 Die follikuläre Zyste.....	73
3.2.5 Die radikuläre Zyste	75
3.2.6 Das Ameloblastom.....	75
3.2.7 Das Basaliom.....	77
3.2.8 Unklare Fälle.....	77
3.3 Die KRT 6B-Färbung	79
3.3.1 Der keratozystische odontogene Tumor.....	81
3.3.2 Die follikuläre Zyste.....	81
3.3.3 Die radikuläre Zyste	81
3.3.4 Das Ameloblastom.....	82
3.3.5 Das Basaliom.....	82
3.3.6 Unklare Fälle.....	82
3.4 Die Zytokeratin-17-Färbung.....	82
3.4.1 Der keratozystische odontogene Tumor.....	84
3.4.2 Die follikuläre Zyste.....	86
3.4.3 Die radikuläre Zyste	88
3.4.4 Das Ameloblastom.....	90
3.4.5 Das Basaliom.....	92

3.4.6 Unklare Fälle.....	92
3.5 Die Zytokeratin-19-Färbung.....	94
3.5.1 Der keratozystische odontogene Tumor.....	96
3.5.2 Die follikuläre Zyste.....	98
3.5.3 Die radikuläre Zyste	100
3.5.4 Das Ameloblastom.....	101
3.5.5 Das Basaliom.....	103
3.5.6 Unklare Fälle.....	103
3.6 Vergleich der Zytokeratin-17 und Zytokeratin-19 Färbung	105
3.6.1 Vergleich der Zytokeratin-17- und Zytokeratin-19-Färbung bei keratozystischen odontogenen Tumoren	110
3.6.2 Vergleich der Zytokeratin-17- und Zytokeratin-19-Färbung bei Gorlin-Goltz- Syndrom	112
3.7 Das immunhistologische Expressionsmuster der Zysten und des Ameloblastoms als differentialdiagnostisches Hilfsmittel für die histopathologische Routinediagnostik.....	113
3.7.1 Der keratozystische odontogene Tumor.....	113
3.7.2 Die follikuläre Zyste.....	122
3.7.3 Die radikuläre Zyste	129
3.7.4 Das Ameloblastom.....	137
3.7.5 Das Basaliom.....	144
3.8 Die Färbung mit GLI, Perlecan und Ulex	149
KAPITEL 4 DISKUSSION	150
KAPITEL 5 ZUSAMMENFASSUNG.....	167
Literaturverzeichnis.....	172
Erklärung zum Eigenanteil	182
Danksagung	183
Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.

Abkürzungsverzeichnis:

AK	Antikörper
CK17	Zytokeratin-17
CK19	Zytokeratin-19
cm	Zentimeter
CT	Computertomogramm
FHIT	fragiles Histidin Trias Protein
HE	Hämatoxylin-Eosin
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
kDA	Kilodalton
KZOT	keratozystischer odontogener Tumor
MCC	Tumorsuppressorgen: Mutant Colorectal Cancer Gen
MRT	Magnetresonanztomographie
µm	Mikrometer
neg	negativ
OPG	Orthopantomogramm
PTCH	Patched Gen
pos	positiv
p53	Protein p53
SSH	Sonic Hedgehog
TMA	Tissue Mikroarray (Multiblock)
TSL1	Untereinheit des Trehalose-Synthase Komplex
WHO	World Health Organization

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Glockenstadium der Zahnentwicklung mit beginnender Bildung der Zahnkrone	5
Abbildung 2: Orthopantomogramm eines keratozystischen odontogenen Tumors im Unterkiefer Regio 34-43.....	10
Abbildung 3: Keratozystischer odontogener Tumor, Parakeratose und im Lumen reichlich Orthokeratose.....	12
Abbildung 4: Keratozystischer odontogener Tumor, parakeratinisierte Form	13
Abbildung 5: Schematische Darstellung der Sonic Hedgehog Signalkette (aus The Cancer Stem Cell Hypothesis, Caliguri 2008)	15
Abbildung 6: Orthopantomogramm mit multiplen radikulären Zysten im rechten und linken Oberkiefer ausgehend von einer Entzündung der Zahnpulpa durch Karies und weitgehender Zerstörung der Zahnkrone	19
Abbildung 7: Radikuläre Zyste, HE 10x.....	20
Abbildung 8: Radikuläre Zyste, HE 10x.....	20
Abbildung 9: Orthopantomogramm einer follikuläre Zyste ausgehend von Zahn 48 und 49	22
Abbildung 10: Follikuläre Zyste, HE 20x.....	23
Abbildung 11: Entzündete follikuläre Zyste, HE 20x.....	23
Abbildung 12: Orthopantomogramm eines Ameloblastomes im Unterkiefer links.....	26
Abbildung 13: Follikuläres multizystisches Ameloblastom, 10fache Vergrößerung.....	27
Abbildung 14: Basalzellkarzinom, 5-fache Vergrößerung.....	42
Abbildung 15: Ber-EP4-Färbung bei allen Zysten, den Ameloblastomen und Basaliomen.....	66
Abbildung 16: Färbemuster von Ber-EP4 bei allen Zysten, Ameloblastomen und Basaliomen.....	67
Abbildung 17: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der keratozystischen odontogenen Tumoren	68
Abbildung 18: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der keratozystischen odontogenen Tumoren bei Gorlin-Goltz Syndrom.....	70
Abbildung 19: Vergleich des Färbemusters von entzündlich alterierten keratozystischen odontogenen Tumoren und KZOTs ohne Entzündungszeichen	72
Abbildung 20: KZOT Ber- EP4-Färbung: Fokale Entzündung ohne Ber-EP4-Nachweis, 40-fache Vergrößerung.....	73
Abbildung 21: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der follikulären Zysten.....	74
Abbildung 22: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der Ameloblastome	76
Abbildung 23: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der unklaren Fälle	78
Abbildung 24: KRT 6B-Färbung aller Zysten, der Ameloblastome und der Basaliome	79
Abbildung 25: Färbemuster der KRT 6B-Färbung aller Zysten.....	80
Abbildung 26: Zytokeratin-17-Färbung aller Zysten, des Ameloblastoms und des Basalioms	83

Abbildung 27: Färbemusterverteilung der Zytokeratin-17-Färbung.....	84
Abbildung 28: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der keratozystischen odontogenen Tumoren	85
Abbildung 29: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der follikulären Zysten.....	87
Abbildung 30: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der radikulären Zysten.....	89
Abbildung 31: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der Ameloblastome	91
Abbildung 32: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der unklaren Fälle	93
Abbildung 33: Zytokeratin-19-Färbung aller Zysten, der Ameloblastome und der Basaliome.....	95
Abbildung 34: Färbemusterverteilung der Zytokeratin-19.....	96
Abbildung 35: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der keratozystischen odontogenen Tumoren bei der Zytokeratin-19-Färbung.....	97
Abbildung 36: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der follikulären Zysten der Zytokeratin-19-Färbung.....	98
Abbildung 37: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der radikulären Zysten bei der Zytokeratin-19-Färbung	100
Abbildung 38 Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der Ameloblastome der Zytokeratin- 19- Färbung	102
Abbildung 39: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der unklaren Fälle der Zytokeratin-19-Färbung	104
Abbildung 40: Vergleich der Färbemuster von Zytokeratin-19 mit Zytokeratin-17.....	105
Abbildung 41: Vergleich der Färbemuster der Zytokeratin-17-Färbung mit der Zytokeratin-19-Färbung	106
Abbildung 42: Vergleich der Färbemuster von Zytokeratin-17 und Zytokeratin-19	110
Abbildung 43: Vergleich der Färbemuster der Zytokeratin-17-Färbung mit der Zytokeratin-19-Färbung von KZOTs bei Gorlin-Goltz-Syndrom.....	112
Abbildung 44: Expressionsprofil des keratozystischen odontogenen Tumors hinsichtlich der Antikörper Ber-EP4, KRT 6B, CK17 und CK19	113
Abbildung 45: KZOT, Ber- EP- Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	115
Abbildung 46: KZOT, Ber- EP4-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	115
Abbildung 47: KZOT, Ber- EP4-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	116
Abbildung 48: KZOT, Ber- EP4-Färbemuster 3 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	116
Abbildung 49: KZOT, Ber-EP4-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	116
Abbildung 50: KZOT, KRT 6B-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	117
Abbildung 51: KZOT, KRT 6B-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	117

Abbildung 52: KZOT, KRT 6B-Färbemuster 3 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	117
Abbildung 53: KZOT, CK17-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	118
Abbildung 54: KZOT, CK17-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	118
Abbildung 55: KZOT, CK17-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	118
Abbildung 56: KZOT, CK17-Färbemuster 5 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	119
Abbildung 57: KZOT, CK17-Färbemuster 6 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	119
Abbildung 58: KZOT, CK17-Färbemuster 7 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	119
Abbildung 59: KZOT, CK19-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	120
Abbildung 60: KZOT, CK19-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	120
Abbildung 61: KZOT, CK19-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	120
Abbildung 62: KZOT, CK19-Färbemuster 6 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	121
Abbildung 63: Expressionsprofil der follikulären Zyste hinsichtlich der Antikörper Ber-EP4, KRT 6B, CK17 und CK19	122
Abbildung 64: Follikuläre Zyste, Ber-EP4-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	124
Abbildung 65: Follikuläre Zyste, Ber-EP4-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	124
Abbildung 66: Follikuläre Zyste, Ber-EP4-Färbemuster 5 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	125
Abbildung 67: Follikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	125
Abbildung 68: Follikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 3 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	125
Abbildung 69: Follikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	126
Abbildung 70: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	126
Abbildung 71: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	126
Abbildung 72: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	127
Abbildung 73: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 3 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	127
Abbildung 74: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	127

Abbildung 75: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 5 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	128
Abbildung 76: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 1,3 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	128
Abbildung 77: Expressionsprofile der radikulären Zyste hinsichtlich der Antikörper Ber-EP4, KRT 6B, CK17 und CK 19	129
Abbildung 78: Radikuläre Zyste, Ber- EP4- Färbung, 2,5-fache, 20-fache, 40-fache Vergrößerung	131
Abbildung 79: Radikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 1, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	131
Abbildung 80: Radikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 2, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	131
Abbildung 81: Radikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 3, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	132
Abbildung 82: Radikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 4, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	132
Abbildung 83: Radikuläre Zyste CK-17-Färbemuster 0, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	132
Abbildung 84: Radikuläre Zyste, CK-17-Färbemuster 1, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	133
Abbildung 85: Radikuläre Zyste, CK-17-Färbemuster 2, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	133
Abbildung 86: Radikuläre Zyste, CK-17-Färbemuster 3, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	133
Abbildung 87: Radikuläre Zyste, CK-17-Färbemuster 4, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	134
Abbildung 88: Radikuläre Zyste, CK-17-Färbemuster 1,3, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	134
Abbildung 89: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 0, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	134
Abbildung 90: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 1, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	135
Abbildung 91: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 2, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	135
Abbildung 92: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 3, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	135
Abbildung 93: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 4, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	136
Abbildung 94: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 5, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	136
Abbildung 95: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 1,3, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung.....	136
Abbildung 96: Expressionsprofil der Ameloblastome hinsichtlich der Antikörper Ber-EP4, KRT 6B, CK17 und CK19.....	137
Abbildung 97: Ameloblastom, Ber- EP4-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	139

Abbildung 98: Ameloblastom, Ber- EP4-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	139
Abbildung 99: Ameloblastom, Ber- EP4-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	139
Abbildung 100: Ameloblastom, KRT 6B-Färbemuster 5 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	140
Abbildung 101: Ameloblastom, CK17-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	140
Abbildung 102: Ameloblastom, CK17-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	140
Abbildung 103: Ameloblastom, CK17-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	141
Abbildung 104: Ameloblastom, CK17-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	141
Abbildung 105: Ameloblastom, CK19-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	141
Abbildung 106: Ameloblastom, CK19-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	142
Abbildung 107: Ameloblastom, CK19-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	142
Abbildung 108: Ameloblastom, CK19-Färbemuster 3 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	142
Abbildung 109: Ameloblastom, CK19-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	143
Abbildung 110: Ameloblastom, CK19-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	143
Abbildung 111: Expressionsprofil der Basaliome hinsichtlich der Antikörper Ber-EP4, KRT 6B, CK17 und CK 19	144
Abbildung 112: Basaliom, Ber- EP4-Färbemuster 6 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	145
Abbildung 113: Basaliom, KRT 6B-Färbemuster 5 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung.....	147
Abbildung 114: Basaliom, CK17-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	147
Abbildung 115: Basaliom, CK17-Färbemuster 5 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	147
Abbildung 116: Basaliom, CK17-Färbemuster 6 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	148
Abbildung 117: Basaliom, CK19-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	148
Abbildung 118: Basaliom, CK19-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung	148
Abbildung 119 Basaliom, KRT 6B- Färbung, 20fache Vergrößerung.....	159
Abbildung 120 KZOT, KRT 6B Färbemuster 1, 20fache Vergrößerung	159
Abbildung 121 KZOT mit fokaler Entzündung:	161
Abbildung 122 SHH-Signalkette Hemmung und Entthemung der Signalkette	165

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Epitheliale Kieferzysten, WHO Einteilung der odontogenen Tumore 1992....	2
Tabelle 2: Klinische Merkmale des Gorlin-Goltz-Syndroms.....	39
Tabelle 3: Antikörper.....	50
Tabelle 4: Reagenzien.....	52
Tabelle 5: Vergleich: klinische Diagnose mit pathologischer Diagnose	65
Tabelle 6: Vergleichende Fallzahlen der Zytokeratin-19-Färbung und Zytokeratin-17-Färbung	107
Tabelle 7: Übersicht nach Riede und Wehner ergänzt.....	149
Tabelle 8 Immunochemische Expression von Zytokeratinen und anderen Epithelzellmarkern im KZOT verglichen mit der folliculären und radikulären Zyste....	154

KAPITEL 1 EINLEITUNG

1.1 Kieferzysten

1.1.1 Einteilung und Überblick

Zu den Kieferzysten zählen alle pathologischen Hohlräume des knöchernen Ober- und Unterkiefers und der angrenzender intraoralen Weichgewebe. Man unterscheidet epitheliale von nicht-epithelialen Kieferzysten (*Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde : Lehrbuch zur Aus- und Fortbildung. Band 3: Zahnärztliche Chirurgie* 2000). Zu den nicht-epithelialen Kieferzysten (auch Pseudozysten genannt) gehören die solitäre Knochenzyste und die aneurysmatische Knochenzyste. Beide Zystentypen sind histologisch eindeutig zu identifizieren, weshalb sie in der folgenden Arbeit nicht mehr erwähnt werden (Weiss et al. 2011).

Die epithelialen Zysten werden in odontogene und dysgenetische Kieferzysten eingeteilt. Dysgenetische Zysten, auch dysodontogene oder fissurale Zysten genannt, entstehen durch Epithelrelikte in embryonalen Gesichtsfurchen, die dort in die Tiefe proliferieren und zur Zystenbildung führen. Man unterscheidet je nach Furche, in der die Zysten auftreten, drei verschiedene Arten dysgenetischer Zysten: die Ductus nasopalatinus Zyste, die globulomaxilläre Zyste und die nasolabiale Zyste. Die klinische und röntgenologische Diagnostik der dysodontogenen Zysten ist meist eindeutig. Histologisch weisen alle drei Zysten Flimmerepithel und Plattenepithel auf, weshalb sie differentialdiagnostisch nicht relevant sind für die odontogene Zystentypisierung und daher im Folgenden nicht mehr besprochen werden (*Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde : Lehrbuch zur Aus- und Fortbildung. Band 3: Zahnärztliche Chirurgie* 2000).

Die odontogenen Zysten zählen laut der zweiten revidierten Einteilung der World Health Organization von 1992 unter Punkt drei zu den odontogenen Tumoren (siehe Tabelle 1). Neben der Unterscheidung zwischen gutartigen und bösartigen Tumoren spielt bei der Klassifikation der Zysten auch die

morphologische Ähnlichkeit zu der physiologischen Zahnentwicklung eine entscheidende Rolle.

Sie werden in entwicklungsbedingte und entzündlich bedingte odontogene Kieferzysten eingeteilt (Kramer, Pindborg, & Shear 1992).

Punkt 3 der WHO Einteilung odontogene Tumoren: Epitheliale Kieferzysten

<i>3.1 Entwicklungsbedingte Zysten</i>	<i>3.2 Entzündliche Zysten</i>
<i>3.1.1 Odontogene Zysten</i>	<i>3.2.1 Radikuläre Zyste</i>
<i>3.1.1.1 Gingivale Zyste des Kindesalters</i>	<i>3.2.1.2 Residualzyste</i>
<i>3.1.1.2 Keratozystischer odontogener Tumor</i>	<i>3.2.2 Parodontale Zyste</i>
<i>3.1.1.3 Follikuläre Zyste</i>	
<i>3.1.1.4 Eruptionszyste</i>	
<i>3.1.1.5 Laterale Parodontalzyste</i>	
<i>3.1.1.6 Gingivazyste des Erwachsenenalters</i>	
<i>3.1.1.7 Glandulärodontogene Zysten, siaolodontogene Zysten</i>	
<i>3.1.2 Nicht odontogene Zysten</i>	
<i>3.1.2.1 Nasopalatinale Zyste</i>	
<i>3.1.2.2 Nasolabiale und nasoalveoläre Zyste</i>	
<i>3.1.2.3 Globulomaxilläre Zyste</i>	

Tabelle 1: Epitheliale Kieferzysten, WHO Einteilung der odontogenen Tumore 1992

Da die Diagnose der paradentalen Zyste, der Residualzyste, der Eruptionzyste, der lateralen Parodontalzyste und der Gingivazyste des Kindesalters sowie des Erwachsenenalters meist nach Erhebung des klinischen und radiologischen Befundes gestellt wird, werden diese Zysten in der nachfolgenden Arbeit nicht mehr erwähnt.

Für die Entstehung der entwicklungsbedingten odontogenen Zysten, insbesondere der des keratozystischen odontogenen Tumors und der folliculäre Zyste, sowie der entzündlich bedingten radikulären Zyste, ist die Zahnentwicklung ausschlaggebend (Kramer, Pindborg, & Shear 1992).

1.1.2 Grundlagen der Zahnentwicklung

Die Unterteilung der Kieferzysten ist in der Zahnentwicklung begründet. Die entwicklungsbiologischen Vorgänge beginnen in der fünften Embryonalwoche und finden erst mit der zweiten Lebensdekade nach vollendeter Entwicklung der Weisheitszahnkrone ein Ende. Die Entwicklung odontogener Gewebe ist ein induktives Zusammenspiel von Zellen, die teils dem Ektoderm (Epithel) und teils dem Mesoderm (Ektomesenchym) entstammen (Schroeder 1987). Beginn der Zahnentwicklung ist die Einsprossung des Mundhöhlenepithels (Zahnleiste) in das Ektomesenchym (Abkömmling der Neuralleiste) (Donath 1982). Das Ektoderm entwickelt sich zum Zahnschmelz und zu Mundhöhlenepithel, das Kopfmesenenchym zu Pulpagewebe, Desmodont, Alveolarknochen und Dentin. In der siebten Embryonalwoche verzweigt sich das eingesprossete Epithel in eine Zahnleiste und eine Vestibularleiste. Die Vestibularleiste bildet Mundvorhof und Lippen. Die Zahnleiste entwickelt sich bis zur 17. Woche nach der Befruchtung. Die epithelialen Zellhaufen differenzieren sich über verschiedene Zwischenstadien zu den funktionstüchtigen Zahnkeimen (Schroeder 1987). Zunächst bilden sich Schmelzknospen aus, wobei jede Knospe einer Zahnanlage entspricht. Die Bildung der Zahnkrone entwickelt sich dann weiter über das Kappenstadium und endet mit dem Glockenstadium (Donath K. 1982). Bei der Schmelzglocke unterscheidet man ein inneres und äußeres Schmelzepithel, welches die Pulpa, ein lockeres und gefäßreiches

Bindegewebe, umfasst. Im dritten und vierten Embryonalmonat differenziert sich vom inneren Schmelzepithel ein einreihiger Adamantoblastenzellsaum, dem dann ein von bindegewebigem Geflecht ausgehender Odontoblastensaum angelagert wird. Aus ersterem entsteht später der Zahnschmelz, aus dem Odontoblastensaum bildet sich das Dentin. Genau in dieser Phase teilt sich zudem die Zahnleiste und bildet eine Ersatzzahnleiste, die für die zweite Dentition wichtig ist (Lehmann & Hellwig 2005).

Um die Zahnwurzel zu bilden, verlängern sich das innere und äußere Schmelzepithel in einer Zellschicht, die in Richtung apikal wächst und dort die Hertwig'sche Epithelscheide bildet. Mit Bildung der Hertwig'schen Epithelscheide wird die Wurzelbildung eingeleitet. Nach Ablagerung des Wurzeldentins wird die Hertwig'sche Epithelscheide aufgelöst. Überreste der Hertwig'schen Epithelscheide, die nach Beendigung der Zahnentwicklung im Desmodont verbleiben, werden als Mallassez'sche Epithelreste bezeichnet, (Pschyrembel 2010, Schroeder 1976) und sind nicht selten die Ursache für die Entstehung von odontogenen Zysten. Weitere Epithelstrukturen, die nach Beendigung der Zahnentwicklung im Kiefergewebe verbleiben können, sind die Serres Epithelreste, Abkömmlinge der Zahnleiste (Cardesa, Mentzel, Rudolph 2008).

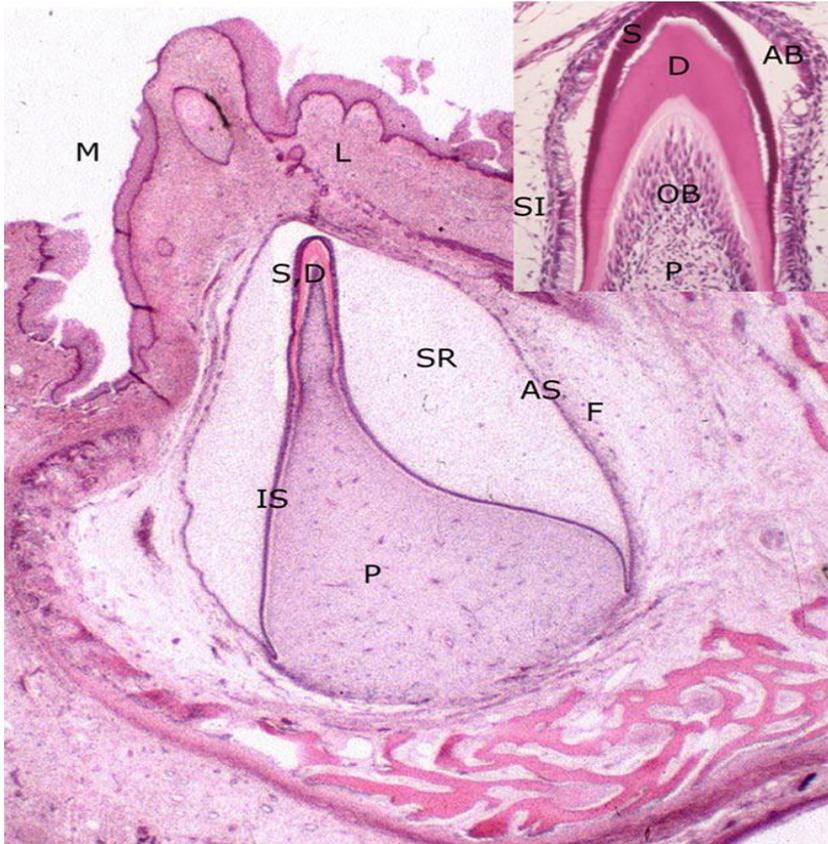


Abbildung 1: Glockenstadium der Zahnentwicklung mit beginnender Bildung der Zahnkrone

(M=Mundschleimhaut, L=Zahnleiste, S=Schmelz, D=Dentin, SR=Stratum reticulare, AS= äußeres Schmelzepithel, F=Zahnfollikel, IS= Inneres Schmelzepithel, P=Pulpa, AB= Ameloblastensaum, SI= Stratum intermedium, OB= Odontoblastensaum; Glockenstadium der Zahnentwicklung mit beginnender Bildung der Zahnkrone (M=Mundschleimhaut, L=Zahnleiste, S=Schmelz, D=Dentin, SR=Stratum reticulare, AS= Äußeres Schmelzepithel, F=Zahnfollikel, IS= Inneres Schmelzepithel, P=Pulpa, AB= Ameloblastensaum, SI= Stratum intermedium, OB= Odontoblastensaum) (aus Pathologie 2008 • 29:172–174, DOI 10.1007/s00292-008-0994-2, Online publiziert: 15. März 2008, © Springer Medizin Verlag 2008, G.Jundt)

1.1.3 Allgemeine Definition, Ätiologie und Epidemiologie

Als Zysten bezeichnet man pathologische Hohlräume im Kieferknochen oder in Weichgeweben, die einkammrig oder mehrkammrig sein können und deren Lumina von Epithel ausgekleidet sind und flüssigen bis breiigen Inhalt aufweisen. Fehlt die epitheliale Auskleidung des Hohlraums spricht man von einer Pseudozyste.

Die Mehrzahl der im Kiefer auftretenden Zysten entsteht aus Geweben des Zahnsystems, weshalb man sie auch als odontogene Zysten bezeichnet. Hier von abzugrenzen sind die nicht odontogenen Zysten, die eine Auskleidung mit Flimmerepithel aufweisen.

Im Kopf-Hals-Bereich zählen Zysten zu den häufigsten Erkrankungen, wobei die radikulären Zysten zu 52,3%, die follikulären Zysten zu 16,6% und die keratozystischen odontogenen Tumoren zu 11,2% vorkommen. Sie treten zwischen dem 20. und 50. Lebensjahr auf, wobei Männer mit 58% häufiger betroffen sind als Frauen (42%).

Grundlage der Entstehung von Zysten ist ein Epithelkeim am Entstehungsort. Dieser Epithelkeim liegt bei odontogenen Zysten in der Zahnanlage wie zum Beispiel in Resten der Zahnleiste oder in Mallassez'schen Epithelnestern (siehe auch 1.1.2 Grundlagen der Zahnentwicklung).

Entzündlich bedingte Kieferzysten entwickeln sich aufgrund eines Entzündungsreizes ebenfalls aus Mallassez'schen Epithelnestern, die nach der Beendigung der Zahnentwicklung im Gewebe verblieben sind.

Die Faktoren des Zystenwachstums sind noch nicht hinreichend geklärt. Die Hypothesen beschreiben zum einen die mangelnde Drainage durch den Lymphabfluss, zum anderen den stetig steigenden hydrostatischen Druck in der Zyste durch Sekretion der Epithelzellen und durch Osmose. Das Wachstum von Zysten ist expansiv und hat zur Folge, dass benachbarte Zähne verdrängt und gelockert werden können (Schwenzer et al. 2000).

1.1.4 Der keratozystische odontogene Tumor (KZOT)

1.1.4.1 Definition, Historie, Epidemiologie und Ätiologie

Der keratozystische odontogene Tumor (KZOT)¹ ist ein gutartiger odontogener Tumor der unizistisch und multizistisch auftreten kann. Er ist von mehrschichtigem parakeratinisiertem Plattenepithel ausgekleidet und mit vanillepuddingartigem Inhalt gefüllt. Der KZOT zeigt ein aggressives und infiltratives Verhalten auf benachbarte Strukturen.

Er kommt in der zehnten bis zur neunzigsten Lebensdekade vor, hat jedoch seinen Höhepunkt innerhalb des zwanzigsten Lebensjahres. Der KZOT tritt solitär oder multiple auf, letzterer jedoch eher im Zusammenhang mit dem Basalzellnävussyndrom (Gorlin-Goltz-Syndrom).

Vom Zystenepithel aus wachsen Epithelstränge in die Spongiosaräume oder in benachbartes Weichgewebe ein und bilden dort Tochterzysten. Der KZOT hat seine bevorzugte Lokalisation in der Molarenregion bis zum Kieferwinkel im Unterkiefer, sowie der Molarenregion im Oberkiefer. Der Unterkiefer ist in einem Verhältnis 3:1 häufiger von keratozystischen odontogenen Tumoren betroffen als der Oberkiefer, bei Männern kommt der KZOT häufiger vor als bei Frauen.

Die Entstehung des keratozystischen odontogenen Tumors ist wie im vorigen Kapitel schon erwähnt auf eine Entwicklungsstörung der Zahnleiste zurückzuführen (Shear 2003a, Toller 1972).

Sobald die Zahnanlagen ausgebildet sind, lösen sich die Zahnleisten des Oberkiefers und Unterkiefers auf (Stoelinga 2003). Durch verbleibende Reste der Zahnleiste in Form von Epithelnestern im Bindegewebe können diese aktiviert werden und das Epithel proliferiert. Die Ursachen in der Entstehung des keratozystischen odontogenen Tumors sind noch weitgehend ungeklärt, in vielen Publikationen konnte jedoch ein Zusammenhang mit dem PTCH Gen festgestellt werden (WHO, Classification of tumours, 2005).

¹ Seit 2005 wurde die Nomenklatur der Keratozyste in keratozystischer odontogener Tumor umbenannt. Der Einfachheit halber wird in dieser Dissertation an manchen Stellen der veraltete Begriff der Keratozyste oder die Abkürzung KZOT verwendet.

Eine andere Theorie geht davon aus, dass epitheliale Ausläufer der Basalzellschicht des Mundschleimhautepithels für die Entstehung keratozystischer odontogener Tumoren verantwortlich sind (Stoelinga 2003).

Da sowohl die Zahnleiste als auch die Mundschleimhaut ektodermalen Ursprungs sind und wie oben genannt von einer Triggerung durch eine Genmutation ausgegangen wird, die sich auf beide Gewebe auswirken kann, ist eine Vereinbarkeit der beiden Theorien und ein Zusammenhang gut möglich (Shear 2003b) (Altini, Lurie, & Shear 1976);(Shear&Altini 1976).

1.1.4.2 Klinische und radiologische Diagnostik

Klinische Beschwerden im Sinne von Zahnschmerzen oder Schmerzen im entsprechenden Kieferabschnitt treten erst dann auf, wenn es zu einer Entzündung des keratozystischen odontogenen Tumors kommt. Weitere wichtige Symptome, die erste klinische Hinweise auf einen keratozystischen odontogenen Tumor liefern, sind Zahnlockerungen und Zahnkippen, sowie die erhöhte Pulpasensibilität der Zähne, die in die Zysten hineinragen. In manchen Fällen lässt sich auch eine Knochenauffreibung tasten, die je nach Stadium komplett hart sind oder zu einem pergamentartigen Knistern bei Palpation führen (*Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde : Lehrbuch zur Aus- und Fortbildung. Band 3: Zahnärztliche Chirurgie* 2000).

Viele Patienten klagen zusätzlich über Schwellungen, Missempfindungen und chronische Sinusitiden (Madras & Lapointe 2008).

Im Röntgenbild ist der keratozystische odontogene Tumor meist als mehrkammrige, scharf begrenzte runde oder ovale Läsion mit girlandenförmigem Randverlauf zu erkennen, welche durch die lokale Osteolyse bedingt ist. Die Grenzlinie zwischen Knochen und Zyste entsteht durch Knochenappositionen am Übergang von Knochen zur Zyste, auch Kortikalisierung oder sklerotischer Randsaum genannt. In vielen Fällen ist röntgenologisch eine Tochterzystenbildung zu erkennen.

Die Panoramaschichtaufnahme dient der orientierenden Beurteilung der Zyste sowie der Beurteilung der Lagebeziehung zwischen Zyste und Nachbarstrukturen. Je nach Lokalisation dient eine Zahnfilm- oder eine Aufbissaufnahme der jeweiligen Region der Bildgebung in zweiter Ebene.

Vor allem im Oberkiefer sollte aber wegen eventueller Nähe zur Schädelbasis ein CT angefertigt werden (*Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde : Lehrbuch zur Aus- und Fortbildung. Band 3: Zahnärztliche Chirurgie 2000*).

Alle odontogenen Läsionen ohne Mineralisierung wie Ameloblastome, keratozystische odontogene Tumoren und follikuläre Zysten erscheinen im Röntgenbild als gut definierte, abgrenzbare, unilokuläre transluzente Läsionen mit kortikalem Randsaum (Scholl, Kellett, Neumann, & Lurie 1999). Deshalb ist beispielsweise die klinische Beurteilung der Nachbarzähne wichtig, der KZOT verdrängt zum Beispiel die Wurzeln der benachbarten Zähne, was sich klinisch oft in Zahnkippen äußert.

Die Differenzierung der Kieferzysten kann deshalb nicht rein röntgenologisch getroffen werden, jedoch gibt es vereinzelte auf dem Röntgenbild sichtbare Kennzeichen, die Rückschlüsse auf den Zystentyp zulassen. Je nach Größe und Lokalisation der Zyste wird zur weiteren Diagnostik ein CT oder MRT angefertigt, um die Ausdehnung in Richtung Kieferhöhle und Mandibularkanal festzustellen (*Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde : Lehrbuch zur Aus- und Fortbildung. Band 3: Zahnärztliche Chirurgie 2000*).

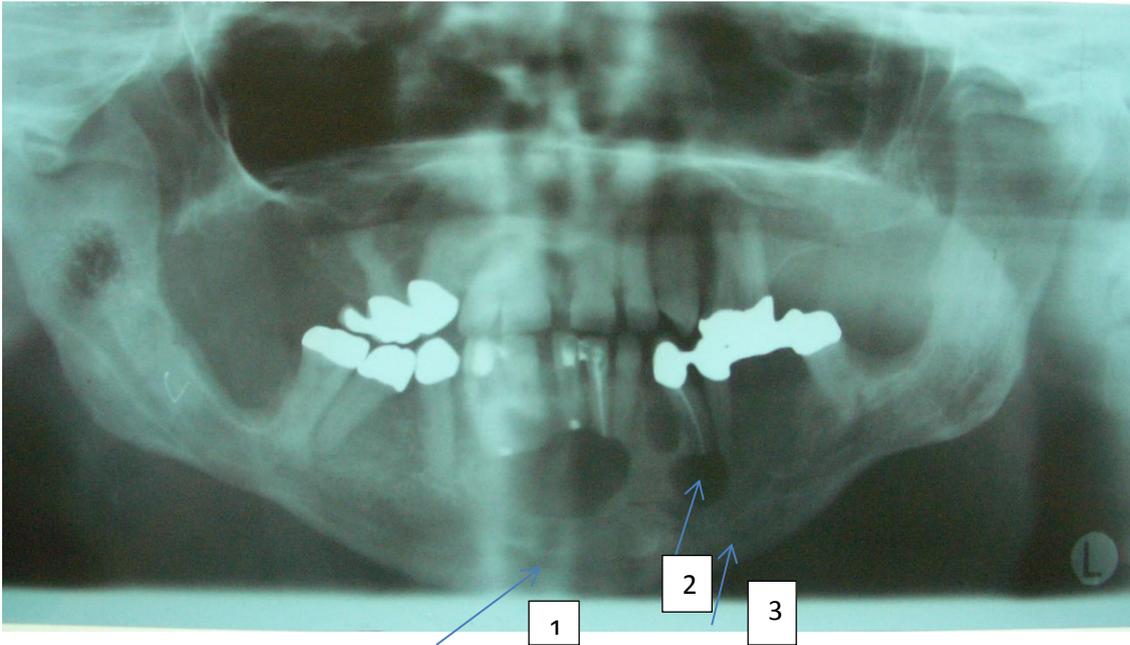


Abbildung 2: Orthopantomogramm eines keratozystischen odontogenen Tumors im Unterkiefer Regio 34-43

Mit Tochterzystenbildung, Zahnkipfung Regio 33/34, kein Einzelzahnbezug erkennbar (1:KZOT, die Zähne 43,42,31,32 sind betroffen. Es wurde versucht die Zyste durch eine Wurzelbehandlung an 31 und Wurzelspitzenresektionen an 41 und 43 auszuheilen.2: Tochterzystenbildung Regio 34 wurzelkanalbehandelter Zahn, Differentialdiagnostisch könnte es sich jedoch auch um einen laterale Paradentalzyste handeln, 3: Tochterzystenbildung Regio 34 apikal, Differentialdiagnostisch könnte es sich jedoch auch um eine radikuläre Zyste handeln.

1.1.4.3 Histologische Kriterien

Die histologischen Kriterien sind in der Literatur unterschiedlich dargestellt und beschrieben.

Der KZOT kommt mit 80% weitaus häufiger vor als die orthokeratinisierte Zyste (Brannon1977);(Crowley, Kaugars, & Gunsolley 1992, Haring & Van Dis 1988). Überschneidungen der Zystenarten in Form von gemischt orthoparakeratinisierten Formen treten jedoch auf.

Das Epithel des KZOT ist ein mehrschichtiges Plattenepithel mit ungefähr 10 Zellschichten und Parakeratose. Die Basalzellen sind von der Form her meist

gemischt säulenartig, kubisch und palisadenartig angeordnet. Sie besitzen einen ausgeprägt polarisierten Zellkern, der sich bei den säulenförmigen Basalzellen weg von der Basalmembran orientiert und bei den kubischen nahezu auf der Basalmembran aufsitzt. Der Zellkern erscheint in der HE Färbung stark basophil (Brannon 1977). Diese Anordnung und Polarisation ist wichtig, um keratozystische odontogene Tumoren von orthokeratinisierten Kieferzysten zu unterscheiden (WHO 2005) und erinnert zuweilen an die Zellanordnung beim Ameloblastom (Brannon 1977). Die Parakeratinschicht ist dünn und gewellt (Brannon 1977).

Im Zystenlumen sind bei der histologischen Begutachtung oft zellkernhaltige Hornlamellen sichtbar, deren Anzahl variiert; Erythrozyten sind manchmal vorhanden und bei einigen Fällen kann man noch Bakterien und Entzündungszellen erkennen. Vielfach erscheint das Lumen jedoch leer, was daran liegt, dass die Hornlamellen bei der chirurgischen Entfernung der Zyste verloren gehen (Brannon 1977).

Das Epithel ist mit dem Bindegewebe flach verbunden, da in den meisten Fällen die Reteleisten nur sehr schwach und fein ausgeprägt sind oder ganz fehlen (Jordan 2003).

Im subepithelialen Bindegewebe findet man in ungefähr 30% der Fälle Tochterzysten sowie odontogene Epithelinseln (Brannon 1977); (Ahlfors, Larsson, & Sjogren 1984); (Woolgar, Rippin, & Browne 1987), welche bei Patienten mit Gorlin-Goltz-Syndrom signifikant erhöht auftreten.

In den suprabasalen Zellschichten ist oft eine mitotische Aktivität oder vereinzelt eine Dysplasie nachweisbar; eine Transformation in ein Plattenepithelkarzinom ist jedoch äußerst selten (Philippsen, WHO 2005).

Bei der orthokeratinisierten Zyste ist die Orthokeratinschicht sehr stark ausgeprägt und mehrere Millimeter breit. Die zellkernlosen Hornlamellen sammeln sich im Zystenlumen (Brannon 1977). Das Stratum granulosum ist deutlich ausgeprägt und lichtmikroskopisch zu erkennen, da die Zellen dichtstehende Keratohyalin granula aufweisen (Jordan 2003). Bei der

orthokeratinsierten Zyste sind die Basalzellen eher kubisch oder flach angeordnet und nicht polarisiert. Laut der World Health Organization zählen Kieferzysten mit einer Orthokeratinschicht wie oben bereits erwähnt nicht zu den keratozystischen odontogen Tumoren (WHO 2005).

Histologische Entzündungszeichen sind vor allem bei keratozystischen odontogenen Tumoren zu finden, die klinische Symptome hervorgerufen haben (Stoelinga 2003). Das entzündliche Infiltrat führt zu einer Veränderung des ursprünglichen Zystenepithels, wodurch in den späteren histologischen Befunden die oben genannten Kriterien nur noch unzureichend erfüllt und erkennbar sind. In diesen Fällen ist die Differentialdiagnose gegenüber anderen Kieferzysten erheblich erschwert (Jordan 2003).

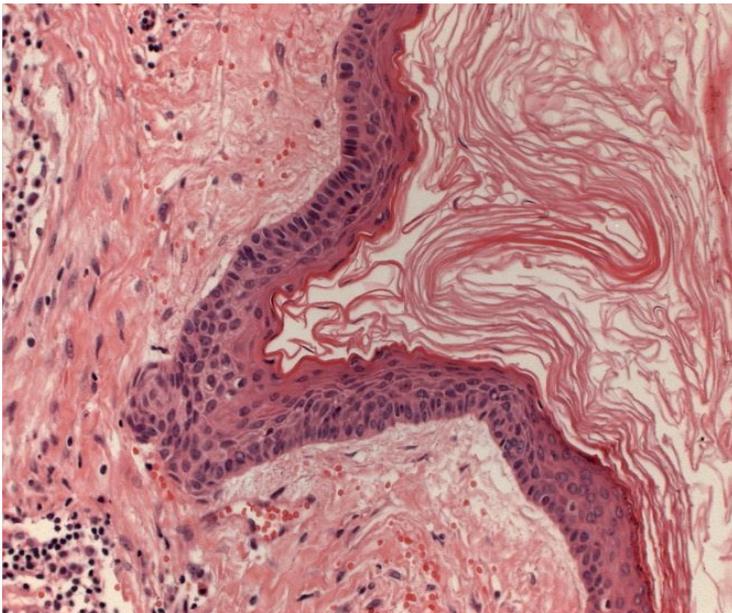


Abbildung 3: Keratozystischer odontogener Tumor, Parakeratose und im Lumen reichlich Orthokeratose.

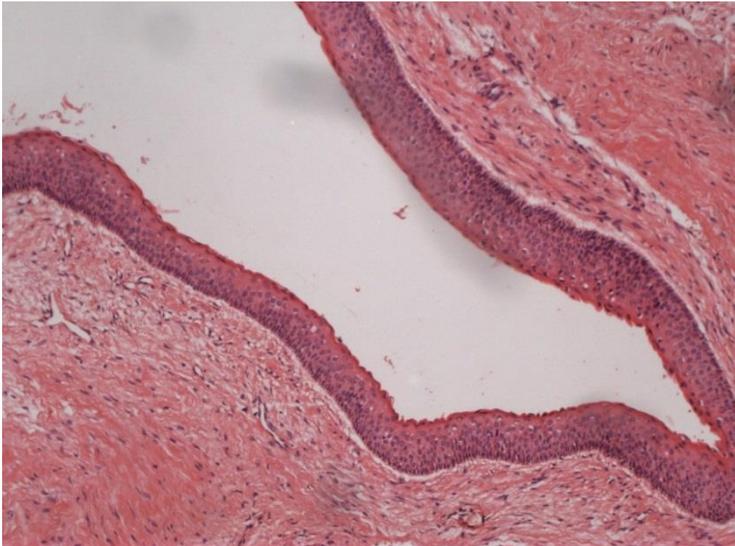


Abbildung 4: Keratozystischer odontogener Tumor, parakeratinisierte Form

1.1.4.4 Molekulare Merkmale des keratozystischen odontogenen Tumors

In genetischen Studien zur Unterstützung der Aussage, dass der keratozystische odontogene Tumor eine Neoplasie sei, wurde immer wieder festgestellt, dass es in einigen Tumorsuppressorgenen wie p53, PTCH, MCC, TSL1 und FHIT zu einem Verlust der Heterozygotie (Gomes, Diniz, & Gomez 2009).

Mutationen im PTCH-Gen (ausgesprochen: patched) auf Chromosom 9q22.3 führen zur Entstehung von odontogenen keratozystischen Tumoren sowie zur Ausbildung des Nevoid-Basalzell-Syndroms. Patched reguliert den Hedgehog Signalweg, welcher eine wichtige Rolle in der Embryonalentwicklung spielt. Üblicherweise wird das PTCH-Gen als Tumorsuppressorgen angesehen. Die Mutation wurde zunächst beim Gorlin-Goltz Syndrom festgestellt, aber auch sporadisch auftretende keratozystische odontogene Tumoren weisen eine Veränderung des PTCH auf (Eberhardt & Reichart 2009).

Weitere Alterationen auf den Chromosomen 17p13 (betroffenes Gen: TP53), 9p21 (betroffenes Gen: p16), 11q23, 13q12,1 und 3p14 (betroffenes Gen: FHIT) sind ebenfalls bekannt (Eberhardt & Reichart 2009).

Das PTCH-Gen fungiert im Zusammenhang mit dem Protoonkogen SMO (ausgesprochen: smoothed) als Vermittler der Sonic-Hedgehog Signalkette und dadurch als Tumorsuppressor. SMO ist aktiviert, wenn der Hedgehog an PTCH bindet.

Mutationen, die das PTCH-Gen inaktivieren oder das SMO-Gen aktivieren, führen zu einer Aktivierung der Hedgehog-Signalkette. Dadurch kann es zu einer Expression des Anti-apoptischen Gens bcl-2 in Keratinozyten kommen und ferner zu einer vermehrten Stimulation des Zellwachstums.

Beim Basalzellnävussyndrom geht man von einem 2-Hit-Model aus. Die Mutation in einem Allel des PTCH-Gens wäre damit die erste Stufe. Die Veränderung des Wild-Typ-Allels, also die zweite Stufe, ist jedoch nötig, damit es zu einer Tumorbildung kommt. Hierbei spielen Umwelteinflüsse wie zum Beispiel UV-Strahlung eine entscheidende Rolle.

Vermutlich ist für die Entstehung des keratozystischen odontogenen Tumors jedoch kein „second-Hit“ erforderlich (Barreto, Gomez, Bale, Boson, & De Marco 2000, Song et al. 2006).

Durch PCR und Array-Comparative genomische Hybridisierung² entstand 2007 der Verdacht, dass Gene, die auf dem Chromosom 12 liegen, bei keratozystischen odontogenen Tumoren einer Veränderung unterliegen und es zu einer Überexpression oder Unterexpression kommt. Vermehrt exprimiert werden KRT 6B, ERBB-3 und cadherin5; unterexprimiert hingegen LRP1 und ITGA7. Insgesamt unterliegen 106 Gene beim KZOT einer anderen Expression, als es im Zahnfollikel der Fall ist (Heikinheimo et al. 2007).

Dabei ist eine vermehrte Expression von Zytokeratin 6B als mögliche Antwort auf eine steigende Epithelproliferation zu sehen (Barreto et al. 2000, Song et al. 2006).

² Mikroarray basierte komparative genomische Hybridisierung: Nachweis von Verlusten und Gewinnen an der genomischen DNA. Gegen ein Raster von immobilisierten DNA-Fragmenten (Matrix oder DNA-Chip) wird eine vergleichende genomische Hybridisierung durchgeführt und das Verhältnis der Fluoreszenzsignale der Patienten- und Referenz-DNA bestimmt.

Epidermal growth factor 3 (ERBB3) und Glioma associated oncogene homologue 1 (GLI) sind Bestandteile der humanen Signalweiterleitung und meistens überexprimiert in malignen Neoplasmen. Das GLI-Gen wird durch die Sonic-Hedgehog und PTCH Signalkette reguliert, worin man einen Zusammenhang zur oben beschriebenen Mutation sehen kann. Nach Heikinheimo et al 2007 lässt sich spekulieren, ob eine fehlende Integration und Überkreuzbeeinflussung von Sonic Hedgehog und dem epidermalen Wachstumsfaktor ERBB3 zur Pathogenese des keratozystischen odontogenen Tumors beitragen (Heikinheimo et al. 2007).

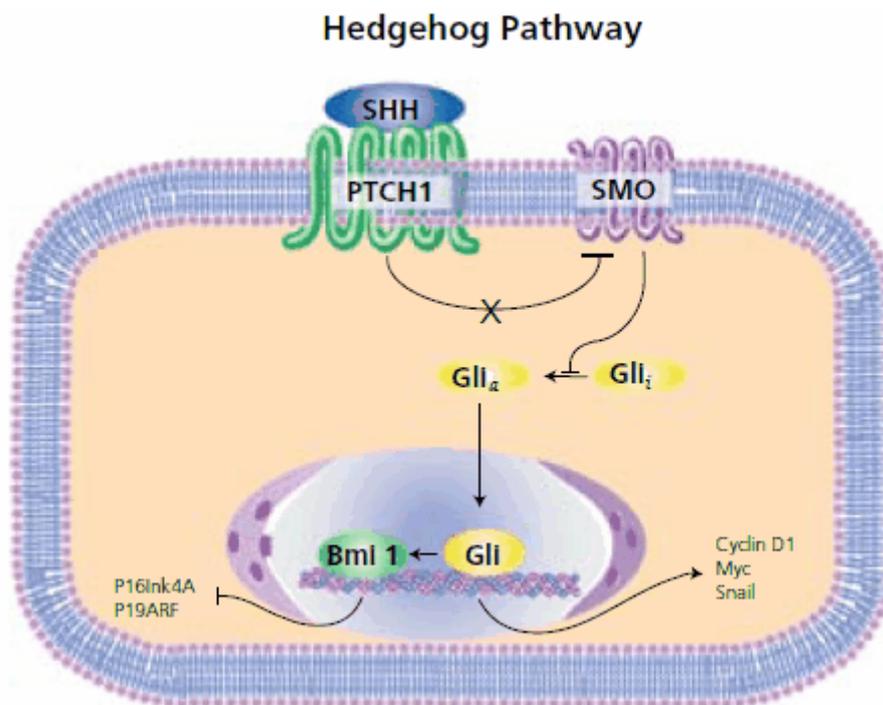


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Sonic Hedgehog Signalkette (aus *The Cancer Stem Cell Hypothesis*, Caliguri 2008)

Levanat et al beschrieben in einer Studie eine Inaktivierung des PTCH-Gens in follikulären Zysten; dies bedeutet, dass das Gen auch in diesen Zysten eine verantwortliche Rolle in der Genese übernimmt. Einen entscheidenden Hinweis darauf liefert auch die klinische Erfahrung, die besagt dass im Verhältnis sehr

wenig follikuläre Zysten bei Individuen auftreten, obwohl es viele retinierte Zähne in der Bevölkerung gibt (Levanat, Pavelic, Crnic, Oreskovic, & Manojlovic 2000). Ähnlich verhält es sich mit den radikulären Zysten, die im Vergleich zur Zahl der pulpatoten Zähne mit apikalem Granulom relativ selten diagnostiziert werden.

1.1.4.5 Prognose und Therapie von keratozystischen odontogenen Tumoren

Da der keratozystische odontogene Tumor Mikrozysten ausbildet und in die Spongiosaräume infiltriert, neigt er zu Rezidiven. Je nach Behandlungsart liegt die Rezidivrate bei 2 - 63%, wobei die niedrigste nach Radikaloperationen und die höchste nach Zystostomie nachgewiesen wurden (*Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde : Lehrbuch zur Aus- und Fortbildung. Band 3: Zahnärztliche Chirurgie* 2000).

Auch die histologische Differenzierung sowie molekularbiologische Kriterien spielen eine Rolle bei der Ausbildung von Rezidiven. So treten bei Patienten mit Gorlin-Goltz-Syndrom häufiger Rezidive auf als bei Patienten mit solitären keratozystischen odontogenen Tumoren.

Da das Rezidiv meistens 5 bis 7 Jahre nach der Behandlung auftritt, ist eine langfristige Verlaufskontrolle über mindestens 10 Jahre nötig (Madras & Lapointe 2008).

Die chirurgische Behandlung des keratozystischen odontogenen Tumors erfolgt nach 2 unterschiedlichen Methoden.

Die konservative Behandlung erfolgt zystenorientiert. Die Zyste wird vollständig entfernt und es erfolgt in den meisten Fällen eine Kürettage oder Marsupialisation. Der Vorteil dieser Methode liegt vor allem bei jungen Patienten in der Schonung von Nachbarstrukturen und Zähnen.

Die radikale Entfernung der Zyste erfolgt unter dem Hintergrund, dass es sich um eine Neoplasie handelt. Dabei wird nicht nur die Zyste entfernt, sondern zusätzlich der periphere Knochen ostektomiert und das Gewebe abgetragen.

Die Kürettage des Knochens erfolgt nach Penetration mit Karnoy'scher³ Lösung oder als Block-Resektion.

Die radikale Zystektomie findet häufig Anwendung bei Patienten mit großen Zysten, Rezidiven oder bei Patienten mit Gorlin-Goltz-Syndrom.

Die Entfernung der den keratozystischen odontogenen Tumor bedeckenden Mundschleimhaut ist im Hinblick auf die Rezidivgefahr in den Fällen wichtig, in denen der keratozystische odontogene Tumor Kontakt zum umliegenden Weichgewebe hat, vor allem wenn man bedenkt, dass eine histologische Entstehungshypothese von versprengten Basalzellen der Mundschleimhaut ausgeht (Stoelinga 2001, 2003).

Studien der letzten Jahre lassen hoffen, dass es in Zukunft eine Methode geben wird, mit der man die KZOTs ohne große resektive Operation behandeln kann. Zhang et al berufen sich darauf, dass Antagonisten des unter 1.1.4.4 beschriebenen SHH in der Lage sind, KZOTs zu heilen. Ihre Strategie beruht auf einem Wiedereinführen einer Wild-Typ-Form des PTCH-Gens und einer Hemmung des SMO-Moleküls durch synthetisch hergestellte Antagonisten, wodurch die nachgeschalteten Transkriptionsfaktoren des SHH unterdrückt werden. Die mögliche Behandlungsoption, einen SMO-Protein-Antagonisten intrazystisch zu injizieren, hat somit das größte Potenzial, in Zukunft die radikale Zystektomie zu ersetzen (Zhang et al. 2006).

1.1.5 Die radikuläre Zyste

1.1.5.1 Definition, Ätiologie, Epidemiologie

Die radikuläre Zyste ist die häufigste Kieferzyste und entsteht am Apex des pulpatoten Zahns auf dem Boden eines apikalen Granuloms, einer chronischen symptomlosen Entzündung des Periapex als Folge einer entzündlichen Erkrankung der Pulpa und deren nekrotischem Zerfall (*Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde : Lehrbuch zur Aus- und Fortbildung. Band 3: Zahnärztliche Chirurgie*

³ Karnoy-Lösung: Inhalt: 1g Eisen-III-chlorid in 24ml Ethanol, 12ml Chloroform, 4ml Eisessig.

2000). Eine radikuläre Zyste kann von jedem Zahn ausgehen, die höchste Wahrscheinlichkeit besteht jedoch für die Frontzähne im Oberkiefer aufgrund eines zugrunde liegenden Traumas. Radikuläre Zysten kommen häufiger bei Männern als bei Frauen vor; die höchste Inzidenz liegt hier zwischen dem 30. und 40. Lebensjahr. Durch Entzündungsmediatoren werden Malassez'sche Epithelreste innerhalb des apikalen Granuloms aktiviert, beginnen daraufhin zu proliferieren und bilden die zystische Kavität (Ebhardt & Reichart 2009). Zusätzlich wird das epitheliale Wachstum durch Osmose, den umliegenden Fibroblasten, Zytokinen aus der Zystenwand und durch die Osteoklastenaktivität stimuliert.

1.1.5.2 Klinische und radiologische Merkmale

Typischerweise treten bei radikulären Zysten keine Schmerzen auf. Die Zyste wächst symptomlos. Es kann zu Zahnlockerungen und Zahnverschiebungen kommen. Klinisch fällt eine radikuläre Zyste entweder durch starke Schmerzen auf, wenn sich die Zyste infiziert hat, oder sie wird routinemäßig bei der Vitalitätsprobe oder radiologisch erkannt (Ebhardt & Reichart 2009).

Röntgenologisch kann man periapikale Granulome von Zysten nicht unterscheiden. Man erkennt eine scharf begrenzte, runde Radioluzenz mit einer Verbindung der Wurzelspitze des kariösen oder weitreichend restaurierten Zahns zum Zystenlumen. Auch der Parodontalspalt ist bei radikulären Zysten nicht mehr klar abgrenzbar (Scholl et al. 1999) und nicht selten kommt es zu Wurzelresorptionen. Ab einer Größe von 0,5 cm (Neville 2009) kann man davon ausgehen, dass es sich um eine radikuläre Zyste handelt.

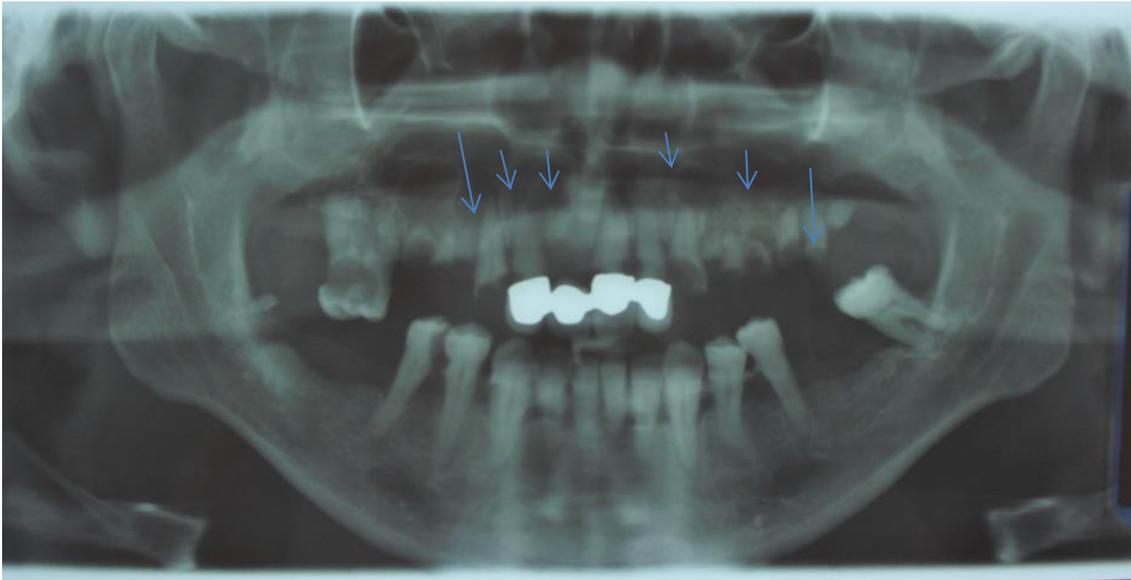


Abbildung 6: Orthopantomogramm mit multiplen radikulären Zysten im rechten und linken Oberkiefer ausgehend von einer Entzündung der Zahnpulpa durch Karies und weitgehender Zerstörung der Zahnkronen

1.1.5.3 Histologische Merkmale

Die radikuläre Zyste besitzt typischerweise ein nicht verhorntes Plattenepithel mit, bei starker entzündlicher Infiltration auftretenden, Reteleisten. Bei Fehlen von entzündlichen Reizen kann das Epithel jedoch auch flach und ohne Reteleisten vorkommen (Neville 2009). Die subepitheliale Zone ist zumeist stark entzündlich infiltriert, juxta-epitheliale Hyalinisierungen können auftreten. Die Variabilität des Epithels beruht auf der Reaktion des Epithels auf die Entzündung. Das bedeutet, dass auch oft zilienträgende oder schleimproduzierende Zellen zu finden sind. In einigen Fällen werden kalzifizierende Hyalinkörper beobachtet. Die Zystenkapselform ist kollagenfaserreich, relativ dick und zeigt meist Ablagerungen von Cholesterinkristallen (Neville 2009).

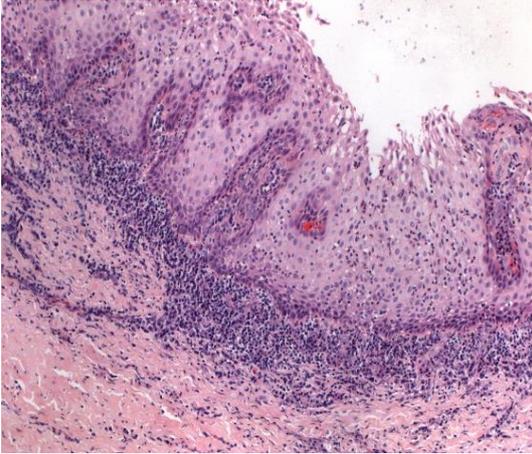


Abbildung 7: Radikuläre Zyste, HE 10x

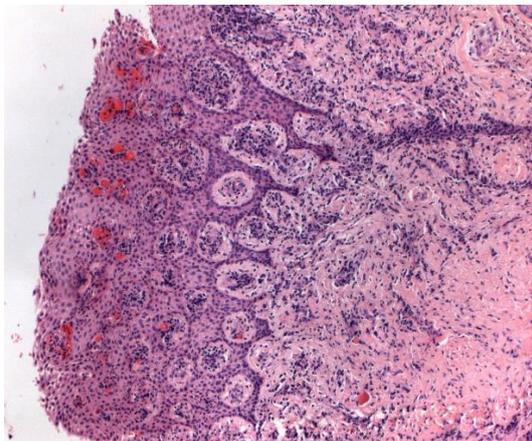


Abbildung 8: Radikuläre Zyste, HE 10x

1.1.5.4 Prognose und Therapie

Je nach Durchmesser der Zyste reicht entweder eine Wurzelkanalbehandlung zur Heilung aus ($d < 10\text{mm}$) oder aber die Zyste muss mittels Zystektomie chirurgisch entfernt werden. Der verursachende Zahn muss jedoch in jedem Fall extrahiert oder einer Wurzelkanalbehandlung unterzogen werden. In vielen Fällen erfolgt dann auch die Resektion der Wurzelspitze (*Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde : Lehrbuch zur Aus- und Fortbildung. Band 3: Zahnärztliche Chirurgie 2000*).

1.1.6 Die folliculäre Zyste

1.1.6.1 Definition, Ätiologie und Epidemiologie

Die folliculäre Zyste ist die am häufigsten vorkommende, nicht entzündliche Kieferzyste und meistens der Grund für eine radiologisch transluzente Region um einen impaktierten oder noch nicht durchgebrochenen Zahn (Scholl et al. 1999). Die folliculären Zysten kommen meist in Beziehung zu den Weisheitszähnen des Unterkiefers, verlagerten oberen Eckzähnen oder Oberkiefer-Weisheitszähnen vor. Teilweise ist sogar der zweite untere Prämolare betroffen. Diese Zystenart betrifft alle Altersgruppen, am häufigsten kommt sie jedoch zwischen dem zwanzigsten und vierzigsten Lebensjahr vor; sie betrifft häufiger Männer als Frauen (Ebhardt & Reichart 2009).

Folliculäre Zysten entstehen aus einer Flüssigkeitszunahme zwischen Zahnkrone und Schmelzepithel oder zwischen den einzelnen Schmelzepithelschichten. Ab einer Spaltgröße zwischen Zahnkrone und Zystenwand von mehr als 3mm handelt es sich nicht mehr um den physiologischen Zahnfollikel, sondern mit großer Wahrscheinlichkeit um eine folliculäre Zyste. Die folliculäre Zyste hat eine starke Tendenz zur Expansion und zur Resorption von Knochen und Zahn (*Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde : Lehrbuch zur Aus- und Fortbildung. Band 3: Zahnärztliche Chirurgie* 2000).

1.1.6.2 Klinische und Radiologische Diagnostik

Die folliculäre Zyste wächst schmerzlos und asymptomatisch. Erst sehr große folliculäre Zysten können durch eine Kieferasymmetrie oder Vorwölbung auffällig werden. Sie werden meist in der routinediagnostischen Röntgenaufnahme erkannt (Neville 2009) und fallen zudem dadurch auf, dass Zähne der zweiten Dentition nicht durchbrechen. In vielen Fällen werden folliculäre Zysten durch Infektion und damit einhergehenden Schmerzen und Eiterbildung erkannt (Ebhardt & Reichart 2009).

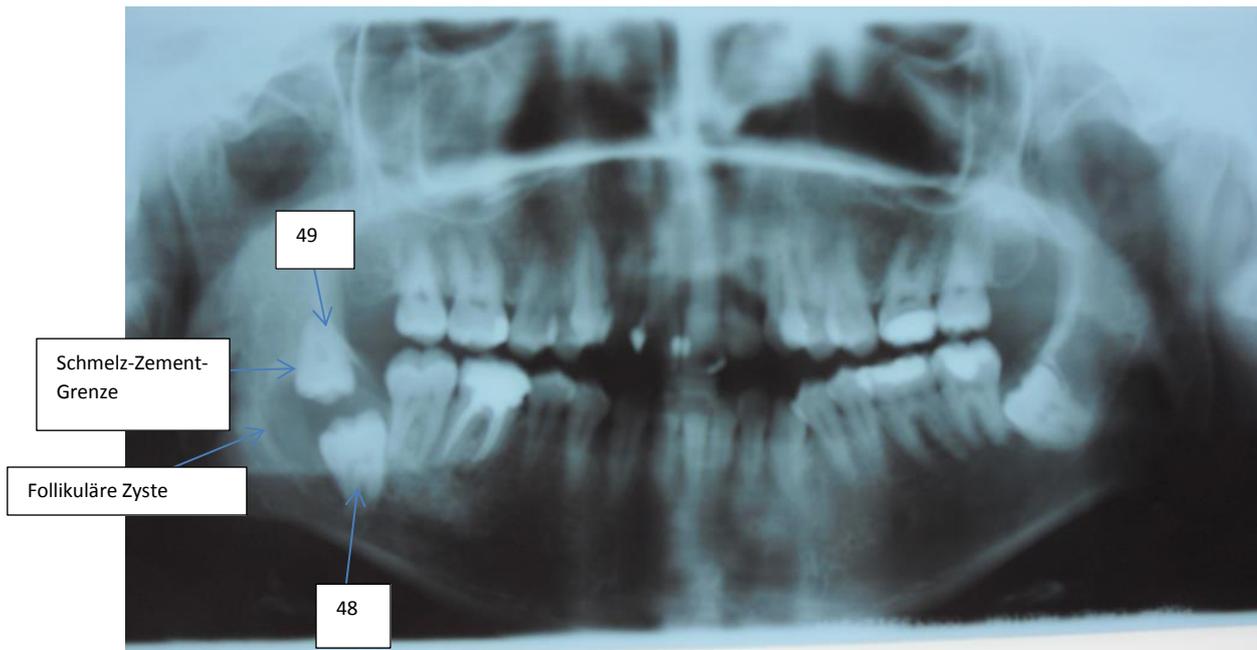


Abbildung 9: Orthopantomogramm einer follikuläre Zyste ausgehend von Zahn 48 und 49

Man erkennt die Zyste ausgehend von der jeweiligen Zahnkrone auf Höhe der Schmelz-Zement-Grenze. Die Zahnwurzeln stehen in keinem Bezug zum Zystenlumen.

Die follikuläre Zyste stellt sich als eine gut umschriebene Radioluzenz dar, die meistens mit der Krone eines nicht durchgebrochenen Zahns in Verbindung steht, wobei die Zahnwurzel keinerlei Bezug zum Zystenlumen hat (Scholl et al,1999). Teilweise kann es auch vorkommen, dass die Transluzenz nur auf einer Seite des Zahns liegt (Ebhardt & Reichart 2009). Die rein klinisch-radiologische Abgrenzung zum keratozystischen odontogenen Tumor und Ameloblastom ist fast nicht möglich weder bei kleinen noch bei größeren follikulären Zysten (Neville 2009).

1.1.6.3 Histologische Merkmale

Das Epithel von follikulären Zysten besteht zu 90% aus einem 2-5 schichtigen, nicht-keratinisierten Plattenepithel und einem sehr flachen bindegewebigen Zystenbalg (Ebhardt & Reichart 2009). Diese Morphologie entspricht dem reduzierten Schmelzepithel (Neville 2009). Die Basalzellschicht weist keine

Verzweigungen im Sinne von Reteleisten auf. Eine Variabilität im Epithel von folliculären Zysten über parakeratinisiertes oder orthokeratinisiertes Epithel bis hin zu schleimproduzierendem zilentragendem Epithel ist in seltenen Fällen möglich (Kramer et al. 1992). Zudem können Entzündungsprozesse die Epithelstruktur generell oder lokal verändern. Das Epithel von entzündeten folliculären Zysten bildet stellenweise Reteleisten aus oder wird hyperplastisch. Oft sind im Lumen von folliculären Zysten Cholesterinkristalle zu finden (Yeo, Rosnah, Ti, Zhao, & Ngeow 2007). Im benachbarten Bindegewebe liegen häufig kleine Inseln von inaktivem odontogenem Epithel vor.

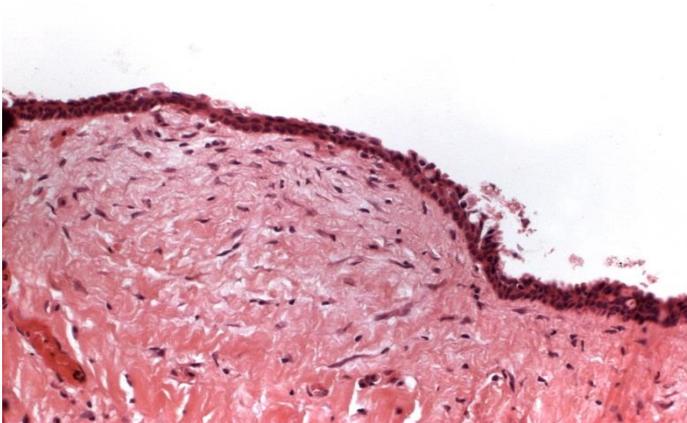


Abbildung 10: Follikuläre Zyste, HE 20x

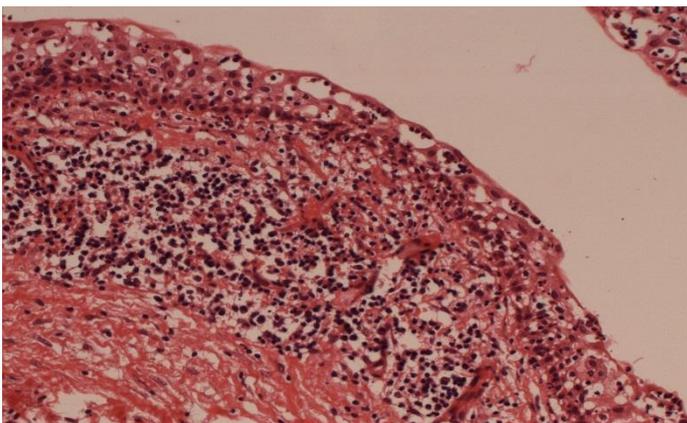


Abbildung 11: Entzündete folliculäre Zyste, HE 20x

1.1.6.4 Prognose und Therapie

Je nach Größe der Zyste wird eine Zystektomie oder Zystostomie durchgeführt. Im Erwachsenenalter und bei von retinierten Weisheitszähnen ausgehenden Zysten wird nicht nur die Zyste, sondern auch der beteiligte Zahn entfernt. Vor allem bei retinierten Eckzähnen im Kindes- und Jugendalter ist der Erhalt des Zahns und die kieferorthopädischen Eingliederung wichtig, wozu die Zystostomie als Therapie der Wahl gilt. Die Prognose der meisten follikulären Zysten ist sehr gut, wenn sie komplett entfernt wurden. Die Rezidivrate ist sehr gering (Eberhardt & Reichart 2009). In seltenen Fällen kann auf dem Boden von unbehandelten follikulären Zysten ein Ameloblastom entstehen (*Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde : Lehrbuch zur Aus- und Fortbildung. Band 3: Zahnärztliche Chirurgie* 2000); noch seltener sind Transformationen zum Plattenepithelkarzinom oder Mucoepidermoidkarzinom (Neville 2009).

1.1.7 Das Ameloblastom

1.1.7.1 Definition, Ätiologie und Epidemiologie

Das Ameloblastom ist der häufigste benigne odontogene Tumor. Seine Entstehung beruht auf Zellen des Schmelzorgans (Ameloblasten), die sich nicht zu Schmelzbildnern weiter entwickelt oder zurückgebildet haben und im Gewebestroma verweilen. Ameloblastome treten meistens auf Höhe der Prämolaren und Molarenregion im Unterkieferknochen auf. Man unterscheidet 4 Formen von Ameloblastomen. Das unizystische Ameloblastom, das multizystische Ameloblastom, das desmoplastische Ameloblastom und das periphere Ameloblastom. 86% aller Ameloblastome sind multizystisch. (Chauhan & Guruprasad 2011). Es gibt nur wenige Fälle von peripheren (extraossären) Ameloblastomen, die im extraossären Gewebe auftreten und gingivale oder zahnweichgewebsbildende Zellen enthalten (Yamada et al. 2005). Gelegentlich kann das Ameloblastom auf dem Boden einer follikulären Zyste entstehen (Scholl et al. 1999).

1.1.7.2 Klinische und Radiologische Diagnostik

Radiologisch erscheinen das unizystische sowie multizystische Ameloblastom als uni-oder multilokuläre Radioluzenz mit Bienenwabenstruktur und Septierungen und sind daher klinisch teilweise schwer von einem keratozystischen odontogenen Tumor oder einer folliculären Zyste zu unterscheiden.⁴ Es zeigt ein teils verdrängendes, teils infiltrierendes Wachstum in Nachbarstrukturen (Chauhan & Guruprasad 2011). Die Begrenzung ist nicht immer eindeutig, da sich das Ameloblastom in den Markräumen der Spongiosa ausbreitet.

Das periphere Ameloblastom besitzt ein anderes radiologisches Erscheinungsbild als das multizystische oder unizystische Ameloblastom und ist differentialdiagnostisch nicht mit den Zysten zu verwechseln, da es röntgenologisch als eine Knochenerosion im Sinne einer peripheren, wannenförmigen Osteolyse des Kiefers erscheint.

Auch das desmoplastische Ameloblastom hat ein anderes radiologisches Erscheinungsbild. Es erscheint gemischt osteolytisch und sklerotisch und ist unscharf begrenzt.

Klinisch erscheint das Ameloblastom meistens asymptomatisch, da es ein sehr langsames Wachstum aufweist. Teilweise treten durch das Größenwachstum Symptome wie Schwellungen, Malokklusion und Parästhesien im betroffenen Bereich auf. In sehr seltenen Fällen treten Metastasierungen auf, wobei am häufigsten die Lunge betroffen ist, gefolgt von Lymphknoten, Leber und Glandula parotis (Kilara et al, 2007).

⁴ Der Begriff unizystisches bzw. multizystisches Ameloblastom bezieht sich auf die histologische Diagnose und nicht auf das radiologische Erscheinungsbild. Unizystische Ameloblastome können radiologisch sowohl unilokulär und multilokulär auftreten, ebenso multizystische Ameloblastome (Gardner et al 2005).

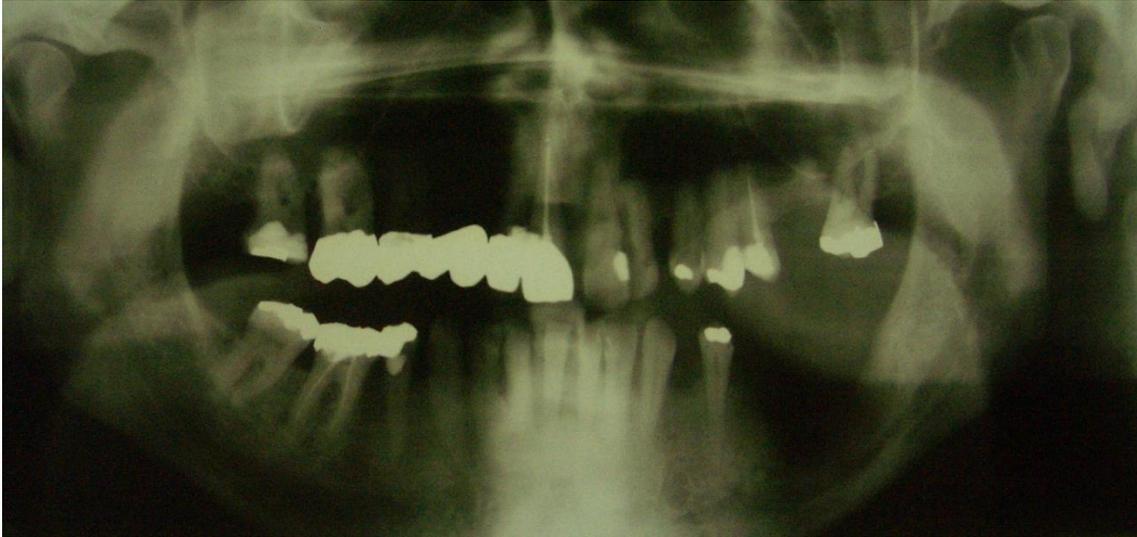


Abbildung 12: Orthopantomogramm eines Ameloblastomes im Unterkiefer links

1.1.7.3 Histologische Merkmale

Das multizystische Ameloblastom

Beim multizystischen Ameloblastom bestehen 2 Grundmuster, das des plexiformen und das des follikulären Wachstumstyps. Bei beiden Typen besteht ein reifes Bindegewebsstroma.

Der follikuläre Typ besteht aus Inseln polyhedrischer Zellen, die in ein „sternförmiges Retikulum“ (sternförmige Erscheinung) eingebettet sind, welches dem Schmelzorgan ähnelt. Die peripheren Zellen sind palisadenförmig aufgereiht, hochprismatisch und hyperchromatisch. Teilweise kommt es zu einer Hohlraumbildung („Zyste“) durch Degeneration (Ebhardt & Reichart 2009). Durch die hochzylindrische Zellform sind sie von palisadenförmigen Strukturen im Epithel eines keratozystischen odontogenen Tumors eindeutig zu unterscheiden (Austermann 2002).

Der plexiforme Typ enthält Basalzellen, die in Strängen angeordnet sind. Das Retikulum ist weniger sternförmig und die Zellen eher kubisch (Ebhardt & Reichart 2009).

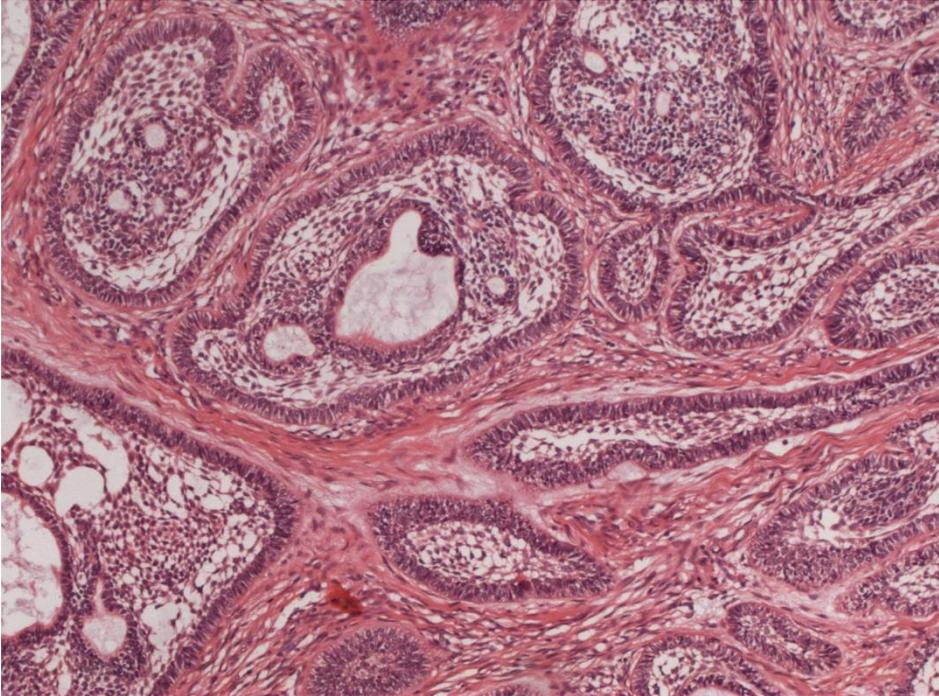


Abbildung 13: Follikuläres multizystisches Ameloblastom, 10fache Vergrößerung

Unizystisches Ameloblastom

Beim unizystischen Ameloblastom unterscheidet man 4 verschiedene Wachstumsformen. Die einfache luminale Variante ähnelt hierbei am meisten den odontogenen Zysten, da sie aus einfachem Zystenepithel entstanden ist, welches dann als ameloblastöses Epithel bezeichnet wird. Hier findet man eine periphere palisadenartige Anordnung der Zellen mit subnukleären Vakuolen (Ebhardt & Reichart 2009). Bei der intraluminalen Variante proliferieren die Zellen lumenwärts und es entsteht papillomatöses Tumorgewebe, welches dem plexiformen Typ entspricht.

Eine weitere Variante ist die Ameloblastenproliferation in der Zystenwand in Richtung umgebenden Knochen (intramurale Form). Diese Form hat eine exophytische Wachstumstendenz und neigt daher öfter zu Rezidiven.

Das periphere Ameloblastom:

Das periphere Ameloblastom besteht aus odontogenem Epithel und weist die gleichen morphologischen Zelltypen wie das multizystische Ameloblastom auf. Dieser Tumor ist meist in das Bindegewebe der Gingiva eingebettet und zeigt Verbindung zu gingivalen Reteleisten (Neville 2009).

Das desmoplastische Ameloblastom

Die epithelialen Tumorinseln sind sehr unregelmäßig und bizarr angeordnet, der Stromaanteil überwiegt. In den Epithelzellen sind hyperchromatische Zellkerne zu erkennen. Hauptkriterium ist die ausgeprägte Desmoplasie mit dicken Kollagenfasern, welche die Tumorinseln und das odontogene Epithel zusammendrücken. Oft kommt es zur Umwandlung des umgebenden Knochens (Eberhardt & Reichart 2009) im Sinne einer Ausbildung von metaplastischen Knochenbälkchen mit einer Umrandung aktiver Osteoblasten (Savithri, Janardhanan, Suresh, & Kumar 2013).

Im Folgenden werden der Einfachheit halber das periphere Ameloblastom, das multizystische Ameloblastom, das desmoplastische Ameloblastom und das unizystische Ameloblastom unter dem Begriff „Ameloblastom“ zusammengefasst. Dabei sei nochmals zu erwähnen, dass die histologische Diagnose eines Ameloblastom meist deutlicher zu stellen ist als die einer Zyste, das unizystische Ameloblastom jedoch als Differentialdiagnose der Kieferzysten große Bedeutung besitzt.

1.1.7.4 Prognose und Therapie

Aufgrund der ausgeprägten lokalen Destruktion bei allen Ameloblastomtypen ist ein radikales chirurgisches Vorgehen die Therapie der Wahl. Operativ ist keine genaue Grenze erkennbar, da Tumorausläufer die Spongiosaräume infiltrieren. Meistens wird mit einem Resektionsrand von >0,5cm operiert, was oft zu einer Unterkieferhemisektion führt, um die Rezidivrate möglichst gering zu halten (Gumgum & Hosgoren 2005). Ärztliche Kontrollen sollten sich auf einen

Zeitraum von 10 Jahren erstrecken, da die Rezidivrate nach operativer Entfernung sehr hoch ist.

1.2 Die immunhistochemischen Expressionsprofile zur Differenzierung von odontogenen Zysten und dem Ameloblastom

1.2.1 Immunhistologische Marker – Antikörper, Definition, Einsatz, Ziel

In der Immunhistologie gelingt der Nachweis zell- und gewebespezifischer Antigene im Gewebeschnitt durch Markierung mit spezifischen Antikörpern, welche sich über einen Sekundärantikörper und einer enzymatischen Färbereaktion mikroskopisch darstellen lassen. Ziel ist es dabei, unterschiedliche oder unbekannte Gewebe zu spezifizieren, zu klassifizieren, zu analysieren und gegebenenfalls gegen ähnliche oder auch neoplastische Gewebe mit Hilfe der richtigen Antikörper-Kombination differentialdiagnostisch abzugrenzen oder aufgrund einer Gleichheit als solche zu diagnostizieren (Altmeyer & Paech 2010).

In den letzten Jahren wurde in verschiedenen Studien versucht, mittels verschiedener Antikörper ein spezifisches immunhistochemisches Expressionsprofil für die Zysten zu erstellen. Dabei wurden Antikörper aus den unten genannten Antikörpergruppen verwendet.

1.2.1.1 Zytokeratine

Zytokeratine sind Intermediärfilamente in Epithelzellen und haben eine herausragende Bedeutung in der Bestimmung der Tumorigenese. Es sind ungefähr 20 verschiedene Zytokeratine bekannt, die sich in eine saure Gruppe (Typ A) oder eine basische Gruppe (Typ B) einteilen lassen. Außerdem unterscheidet man anhand des Molekulargewichts hochmolekulare von niedrigmolekulare Zytokeratine. Jedes Epithel exprimiert immer mindestens 2 Zytokeratine, da im Zytoskelett ein Typ A Zytokeratinpeptid immer einen Komplex mit einem Typ B Zytokeratinpeptid bildet. Es handelt sich demnach um

ein Heteropolymer (Ishida-Yamamoto, Takahashi, & Iizuka 2002). Die Zytokeratine sind relevant für den Strukturhalt der Epithelzelle, deren Schutz gegen mechanisches Trauma, für die Zellkommunikation- und Adhäsion. Im Grunde sind Zytokeratine sehr stabil, weshalb man durch ihre Veränderung entzündungs- oder neoplastische Prozesse erkennen kann (Jacques, Pereira, Maia, Cuzzi, & Ramos-e-Silva 2009).

Zum Nachweis von Zytokeratinen gibt es eine Reihe von Antikörpern, die entweder gegen einzelne Zytokeratine oder gegen Zytokeratingruppen gerichtet sind. Der Antikörpernachweis hilft, die Histogenese eines Gewebes abzuklären und spielt dadurch bei der Diagnose von Tumoren eine wichtige Rolle (Altmeyer & Paech 2010).

Die Verteilung der Zytokeratine ist sehr komplex und weist in der Epidermis und der Mundschleimhaut/Gingiva ein unterschiedliches Muster auf, was dadurch bedingt ist, dass andere Zellschichten mit diesen Antikörpern reagieren (Hormia, Ylipaavalniemi, Nagle, & Virtanen 1987).

In Kieferzysten wurde auf immunhistochemischer Ebene nachgewiesen, dass Unterschiede in den Expressionsprofilen des Epithels von keratozystischen odontogenen Tumoren und nicht-keratinisierten odontogenen Zysten vorliegen, die hilfreich sind, das aggressive Verhalten des keratozystischen odontogenen Tumors zu erklären. Die Expression von Zytokeratinen ist jedoch eher verbunden mit dem Differenzierungsgrad des Epithels, als dass sie einen Hinweis liefert, welcher Zystentyp vorliegt. So könnte man vermuten, dass zum Beispiel die Zytokeratine 13 und 19 als Marker für odontogenes Epithel dienen, da sie auch in Ameloblastomen vorkommen. Ebenso könnten die Zytokeratine 10 und 11 eher in KZOT exprimiert werden, da diese Zytokeratine in strukturierten/geordneten Epithelien vorkommen. Die Histogenese des Zysten bleibt jedoch durch die alleinige Markierung mit Zytokeratin-Antikörpern weitgehend ungeklärt (Matthews, Mason, & Browne 1988). Bisherige Studien zeigen gegensätzliche Expressionsprofile insbesondere bei Betrachtung der

Zytokeratine 10 und 11 (Hormia et al. 1987, Moll, Franke, Schiller, Geiger, & Krepler 1982, Morgan, Shirlaw, Johnson, Leigh & Lane 1987).⁵

Zytokeratin 10 ist ein Marker für die endgültige und vollständige Differenzierung des mehrschichtigen Epithels, denn dort weist die Markierung mit Zytokeratin 10 ein suprabasales Muster auf, während es in nicht-keratinisierten Epithelien zu keiner Expression kommt. Es wird vermutet, dass durch die Sekretion von Zytokinen aus T-Lymphozyten bei Entzündungsprozessen die Expression von CK 10 hervorgerufen wird, wodurch dieser Marker dann auch in anderen Epithelien exprimiert werden kann und eine Keratinisierung bewirkt (Jacques et al. 2009).

Mutationen im Zytokeratin 10 führen zu verschiedenen Arten von Hauterkrankungen, die meistens mit Hyperkeratose, Akanthose und einer Vergrößerung des Zytoplasmas der Zellen im Stratum spinosum und granulosum einhergehen. Diese Verklumpung des Zytokeratin 10 behindert die Zellintegrität und führt zu einer mechanischen Schwäche (Ishida-Yamamoto et al. 2002).

Zytokeratin 10 wird aufgrund des keratinisierten Plattenepithels in allen Keratozysten in der suprabasalen Zellschicht exprimiert, kommt jedoch auch in vielen follikulären und einigen radikulären Zysten vor und kann daher nur in Kombination mit anderen Marken zur Differenzierung der verschiedenen Zystentypen herangezogen werden (Matthews et al. 1988).

Zytokeratin 13 ist eine der Hauptkomponenten des mehrschichtigen, nicht verhornten Plattenepithels, weshalb es vor allem in diesem als homogenes

⁵ Anmerkung: Laut Hormia (1987) war das Hauptresultat seiner Studie, dass im Epithel keratozystisch odontogener Tumoren keine Zytokeratine nachweisbar sind, die typisch für keratinisiertes Epithel wären, wie zum Beispiel CK 1,CK 9,CK 10,CK11, und dass deren Fehlen ein Hinweis dafür liefert, dass keine wirkliche Keratinisierung stattfindet. Aus diesem Grund sind die meisten keratozystischen odontogenen Tumore auch parakeratinisiert und nicht orthokeratinisiert.

Anmerkung: Laut Tsuneki (2010) ist CK10 spezifisch für das Epithel von keratozystischen odontogenen Tumoren und follikulären Zysten; jedoch weist der Marker in den beiden Epithelien komplett unterschiedliche Muster auf. In keratozystischen odontogenen Tumoren wird CK10 kräftig in der Suprabasalschicht exprimiert, in follikulären Zysten kommt er nur sporadisch vor und in radikulären Zysten fehlt der Nachweis. Daher ist CK 10 in Kombination mit anderen immunhistologischen Marker wichtig für die differentialdiagnostische Abwägung.

Muster in der suprabasalen Zellschicht exprimiert wird und in keratinisiertem Epithel eher nicht vorkommt. Da Zytokeratin 13 in jedem nicht verhorntem Plattenepithel, aber auch in keratozystischen odontogenen Tumoren exprimiert wird, ist es für die differentialdiagnostische Unterscheidung der verschiedenen Zystentypen in der Pathohistologie nicht hilfreich (Tsuneki et al. 2010).

Zytokeratin 17 ist ein Marker für die Differenzierung der Epithelzellen, Zellen der Haarwurzelscheide und der ekkrinen Schweißdrüsen. Schon Moll vermutete 1982, dass Zytokeratin 17 wichtig für die Unterscheidung zwischen odontogenen und nicht odontogenen Zysten und Tumoren sein könnte, da er CK17 auch in soliden Adamantinomen und in Basalzellkarzinomen nachgewiesen hat (Moll, Franke, Schiller, et al. 1982, Moll, Franke, Volc-Platzer, & Krepler 1982).

CK 17 spielt heute eine wichtige Rolle in der Diagnostik und Therapie der Psoriasis (de Jong et al. 1991), Pachyonychia congenita (Genodermatose) (Oh, Kim, Lee, & Kim 2006), virusinduzierten Warzen (Proby et al. 1993) und verschiedenen Karzinomen.

Die Anwesenheit von CK 17 beschleunigt vermutlich die Hyperplasie des Epithels, das Wachstum von Basalzellkarzinomen und die Ausbreitung und Intensität von chronischen Entzündungen (jedoch nicht von lokalen Entzündungen) da es die Immunantwort moduliert und in die Sonic-Hedgehog Signalkette eingreift (Depianto, Kerns, Dlugosz, & Coulombe 2010).

Zytokeratin 17 ist ein repräsentativer Keratinsubtyp, der vor allem in entwicklungsbedingten odontogenen Läsionen wie unizytischen Ameloblastomen, keratozystischen odontogenen Tumoren und follikulären Zysten vorkommt. In entzündlich bedingten radikulären Zysten konnte CK17 bisher nicht nachgewiesen werden. Zudem wird CK17 zonal unterschiedlich exprimiert. Während der keratozystische odontogene Tumor in allen Schichten des Epithels CK17 exprimiert, wird in follikulären Zysten und in unizytischen Ameloblastomen nur die Hälfte des Epithels von suprabasal her markiert. In Kombination mit anderen Markern ist CK17 also in der Differentialdiagnostik der

Zysten zielführend (Tsuneki et al. 2010). Vor allem in der Kombination mit dem Zytokeratin 19, welches in keratozystischen odontogenen Tumoren nicht nachweisbar ist, kann der KZOT eindeutig histochemisch differenziert werden (Stoll, Stollenwerk, Riediger, Mittermayer, & Alfer 2005).

Zytokeratin 6 kommt als Paar mit Zytokeratin 16 häufig in hyperproliferativen Hautarealen vor und ist ein Hinweis auf eine hohe epidermale Keratinozytenfluktuation. Man bezeichnet sie daher auch als „Hyperproliferationsmarker“. Keratin 6 wurde in verhornender Mundschleimhaut nachgewiesen. Im Zusammenhang mit CK10 wird vermutet, dass die Keratinozyten wechselweise auch Keratin 6 co-exprimieren, was für die schnelle Erneuerung der keratinisierten Mundschleimhaut spricht, da normalerweise die Umsatzrate der Keratinozyten in den nicht-keratinisierten Epithelien schneller geht als in den keratinisierten (Morgan et al. 1987).

Keratin 6 hat mehrere Isoformen (6a-h) die auf unterschiedlichen Genloci lokalisiert sind und in 3 Gruppen eingeteilt werden; wobei Gruppe 2 ausschließlich aus K6b besteht (Rogers et al. 2005).

Das Keratin 6b wird hauptsächlich zusammen mit Keratin 17 in luminalen Zellen seborrhöischer Drüsen, in Haarfollikeln und im Nagelbett exprimiert. Gendefekte bei Keratin 6b führen zu einer Keratinozyteninstabilität und erscheinen klinisch in dem Krankheitsbild Pachyonychia congenita Typ2 (Sharma & Stein 2007).

Heikinheimo zeigte in ihrer Studie „Genetic changes in sporadic keratocysts“ eine vermehrte Expression des K6b-Gens in keratozystischen odontogenen Tumoren auf, welches hauptsächlich in der suprabasalen Zellschicht des Epithels vorkommt (Heikinheimo et al. 2007).

1.2.1.2 Perlecan

Perlecan, auch genannt „heparan sulfate proteoglycan 2“ ist das größte Genprodukt des menschlichen Körpers. Bei Perlecan handelt es sich um ein

Proteincore von 467kDa, welches jedoch durch seine Vielzahl von posttranslationalen Modifikationen eine Gesamtgröße von bis zu 850kDa erreichen kann. Perlecan kommt als Makromolekül in allen Basalmembranen vor und spielt eine große Rolle in der glomerulären Filtration. Weitere Aufgaben dieses Strukturproteins liegen im Lipidstoffwechsel, der Zellinteraktion und dem Zellwachstum (Murdoch, Dodge, Cohen, Tuan, & Iozzo 1992). In den letzten Jahren hat man jedoch festgestellt, dass Perlecan nicht nur in der Basalmembran vorkommt, sondern auch im Stroma von pathophysiologischen Gegebenheiten, was sich histologisch dort wiederum in einem myxoiden Stroma ausdrückt (Murdoch, Liu, Schwarting, Tuan, & Iozzo 1994).

Man nimmt an, dass die Häufung von Perlecan in myxoiden Geweben ein Hinweis auf eine erhöhte Zellproliferation liefert und zu einer Reduktion der Kohäsion von Zellen führt, die zum Beispiel in einem autonomen Wachstum der Epithelzellen enden kann.

Zudem kommt Perlecan in epithelialen Geweben wie Zahnkeimen und Ameloblastomen vor, in denen weite Interzellulärräume vorliegen (Iida-Yonemochi et al. 2002).

Perlecan dient daher als spezifischer Marker in keratozystischen odontogenen Tumoren und Ameloblastomen. Durch den Antikörper wird in beiden Tumoren das gesamte Epithel zytoplasmamembranständig angefärbt, in allen anderen Zysten konnte Perlecan nicht nachgewiesen werden (Tsuneki et al. 2010).

1.2.1.3 Lectine

Lectine repräsentieren eine Gruppe spezifischer Proteine, die an Kohlenhydratgruppen binden und daher als sensitives Mittel angewandt werden können um Glycosylierungsmuster im Epithel nachzuweisen, da sie eine mannigfaltige Struktur aufweisen (Neumann et al. 2008). In der Immunhistologie werden Lectine mit unterschiedlicher Kohlenhydratspezifität angewandt, da sie ein sensitives System zur Entdeckung von Glycosylierungen und Kohlenhydratexpressionen bieten, die während Wachstum, Entwicklung oder

Krankheit stattfinden. Auch in der Onkologie zeigen Lectine zytologische und histologische Veränderungen zwischen normalen und transformierten Geweben an. Qualitative und quantitative Veränderungen sind hierbei oft ein Hinweis für das Fortschreiten der Neoplasie (Sobral, Rego, Cavalacanti, Carvalho, & Beltrao 2010). Vor allem die Bindung von UEA (Ulex-europeus agglutinin) steigt im Plattenepithel bei bestimmten entzündlichen Veränderungen an (Neumann et al. 2008). In verschiedenen Studien wurde die Lectin-Bindung mittels strukturell unterschiedlicher Lectine in der Mundhöhle untersucht, um histologisch eine eindeutige Unterscheidung zwischen malignen und benignen Läsionen der oralen Schleimhaut zu finden - dies vor allem in Fällen von prämaligen Läsionen (Pillai et al. 1996).

1.2.1.4 Nachweis proliferierender Epithelzellen

1.2.1.4.1 PCNA

PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) kommt als Marker der Zellproliferation, Zellreplikation und Zellreparation in allen Zystenepithelien vor und wird durch Wachstumsfaktoren stimuliert. Die Anzahl und das Lokalisationsmuster der PCNA-positiven Zellen variiert stark. Die meisten PCNA-Zellen sind in keratozystischen odontogenen Tumoren nachweisbar, in welchen sie zu 95% in der suprabasalen Zellschicht vorkommen. Die Lokalisation und Anzahl variiert jedoch leicht, wenn es zu einer Entzündungsreaktion gekommen ist. Durch die Entzündung verringert sich die Anzahl der PCNA positiven Zellen, jedoch sind diese vorwiegend suprabasal lokalisiert. In radikulären Zysten und folliculären Zysten kommen die positiven PCNA-Zellen nur in der Basalzellschicht vor (Li, Browne, & Matthews 1994). Auch in Tumovorläufern der Mundschleimhaut konnte eine überwiegend suprabasale Expression von PCNA-positiven Zellen nachgewiesen werden, was dafür spricht, dass eine suprabasale PCNA-Lokalisation als Zwischenstufe zur Dysplasie gesehen werden kann (Präkanzerose) (Ogden, Chisholm, Kiddie, & Lane 1992, Tsuji et al. 1992).

1.2.1.4.2 Ki-67

Die Expression von Ki-67 ist ausschließlich mit der Zellteilung in Verbindung zu bringen. Das Protein wird zur Markierung von sich teilenden menschlichen Zellen angewendet, da es in allen Phasen der Mitose vorhanden ist, in der Ruhephase jedoch fehlt und sich damit die Wachstumsfraktion einer Zellpopulation bestimmen lässt (Scholzen & Gerdes 2000).

Ki-67 wurde in mehreren früheren Studien angewandt, um in Kombination mit anderen Antikörpern die Expression in Kieferzysten zu untersuchen. Vor allem in keratozystischen odontogenen Tumoren und Ameloblastomen ist die Expression des Ki-67 Antigens im Plattenepithel im Vergleich mit anderen Zystentypen sehr hoch, wobei es in keratozystischen odontogenen Tumoren noch häufiger exprimiert wird als in Ameloblastomen. Dies ist ein Beweis für das Wachstumspotential des Epithels von odontogenen Tumoren und signifikant für das klinische Verhalten (de Oliveira, Lauxen Ida, Chaves, Rados & Sant'Ana Filho 2011, Soluk Tekkesin, Mutlu, & Olgac 2012).

Das aggressive Wachstumsverhalten und die Rezidivneigung von keratozystischen odontogenen Tumoren wird durch die Expression von Ki-67 belegt, wobei auch entzündlich verändertes Zystenepithel der anderen Zystentypen eine Ki-67 Expression aufweist, was wiederum einen Hinweis auf das Wachstumspotential und die Gewebeverdrängungsmechanismen liefert (Ayoub, Baghdadi, & El-Kholy 2011).

1.2.1.4.3 bcl-2

Die bcl-2 Proteine spielen eine wesentliche Rolle bei der Regulation des programmierten Zelltods. Einige Proteine dieser Familie (bcl-2 Familie) fördern die Apoptose, andere hemmen sie (proapoptotische versus antiapoptotische). Diese Regulation erfolgt einerseits vermutlich über die Freisetzung von Cytochrom C aus Mitochondrien ins Zytosol und andererseits durch die Aktivierung von Procaspasen zur Spaltung von Peptidbindungen. Beide Wege haben den programmierten Zelltod zur Folge. Eine Mutation innerhalb der bcl-2

Familie kann durch inkorrekte Abfolge der Apoptose zu folgenschweren Schäden führen, weshalb die bcl-2 Familie auch zu den Protoonkogenen zählt. Eine Überaktivierung des bcl-2 Gens führt wiederum zu einer Proliferation des Gewebes und damit zu Tumoren (Chao & Korsmeyer 1998).

Die Expression des bcl-2 Gens wird in verschiedenen Tumoren zum Beispiel durch eine Interaktion mit dem p53 Gen verändert, welches normalerweise als Tumorsuppressorgen fungiert. Die unterschiedlichsten Protein-Protein-Interaktionen dieser Proteinfamilie von gegensätzlicher Wirkung machen sie interessant für pharmakologische Therapieansätze in der Tumorthapie (Reed et al. 1996).

Beim Vergleich der Expression des bcl-2 Gens in verschiedenen Zystentypen stellten Piattelli et al. 1998 fest, dass das bcl-2-Protein sehr stark in allen Epithelschichten des KZOT exprimiert wird, in radikulären und folliculären Zysten hingegen überhaupt nicht vorkommt, was ein weiterer Hinweis für das klinisch aggressive Verhalten dieser Zysten ist und folglich die Namensänderung in „keratozystischer odontogenen Tumor“ rechtfertigt (Piattelli, Fioroni, & Rubini 1998).

1.2.1.4.4 p53

Das p53-Gen wird in der Literatur als Wächter des Genoms bezeichnet, da es viele Signalwege zusammenfügt, die über Leben oder Tod der Zelle entscheiden. Das Tumorsuppressorgen p53 reguliert nach DNA-Schädigung die Transkription und die Apoptose und kontrolliert den Zellzyklus. In entarteten Zellen ist das p53-Gen in erhöhter Menge messbar, weil auch durch die onkogenetische Aktivität eine erhöhte DNA-Transkription und Zellapoptose ablaufen kann. Zusätzlich spielt es eine große Rolle in der Kontrolle der Zelldifferenzierung und der Proliferationshemmung von entarteten Zellen, um dadurch den Organismus „genetisch“ stabil zu halten (Stiewe 2007).

In ruhenden Zellen ist p53 überhaupt nicht nachweisbar, da es abseits von zellulärem Stress sofort durch Proteasen abgebaut wird (Bourdon, Laurenzi, Melino, & Lane 2003).

Auch in der Differenzierung der verschiedenen Zystentypen kann das p53-Gen angewandt werden. Gewebe, die p53 positiv sind, haben eine höhere Proliferationsrate als Gewebe, in denen kein p53 (also ruhende Zellen) nachgewiesen werden kann. So wird in keratozystischen odontogenen Tumoren im Vergleich zu radikulären und follikulären Zysten das p53-Gen vermehrt exprimiert (Ogden et al. 1992, Piattelli, Fioroni, Santinelli, & Rubini 2001).

1.3 Das Gorlin-Goltz Syndrom

Das Gorlin-Goltz-Syndrom, im internationalen Sprachgebrauch auch als Nevoid basal cell carcinoma syndrome bezeichnet (NBCCS), wird autosomal dominant vererbt und zeigt eine große Variabilität in seiner Expression. Zu seinen charakteristischen Merkmalen gehören unter anderem multiple Basaliome, Verkalkungen der Falx cerebri, skelettale Anomalien, Hypertelorismus und das Auftreten von verschiedenen benignen Tumorarten, wie KZOTs, Medullablastomen und Ovarialfibromen (Gorlin 1987). Männer und Frauen sind gleichermaßen häufig von dem Syndrom betroffen, vor allem wenn eine positive Familienanamnese bezüglich dieser Erkrankung vorliegt (Bale 1997). Die Prävalenz der Erkrankung liegt bei 1:56.000 (Song et al. 2006).

Klinische Merkmale des NBCCS
>50% auftretend
<ul style="list-style-type: none">• Multiple Basaliome• Keratozystische odontogene Tumoren• Kalzifizierung der Falx cerebri• Anomalien der Rippen• Hypertelorismus

<ul style="list-style-type: none">• Spina bifida• Palmare Flecken• Epidermale Zysten der Haut
15%-49% auftretend
<ul style="list-style-type: none">• Ovarialfibrome• Kurzer vierter Mittelhandknochen• Vertebrale Anomalien• Strabismus• Trichterbrust
<15% auftretend aber keine Ausnahmen
<ul style="list-style-type: none">• Medullablastome• Meningiome• Lippen-Kiefer-Gaumenspalte• Hypogonadismus• Mentale Retardierung• Cardiales Fibrom• Lymphomesenchymale Zysten• Kindliches Rhabdomyom

Tabelle 2: Klinische Merkmale des Gorlin-Goltz-Syndroms

1.3.1 Genetischer Hintergrund des Gorlin- Goltz-Syndroms und möglicher Zusammenhang mit nicht-Syndrom assoziierten (sporadischen) KZOTs

Genetische Grundlagen der Syndromentstehung ist eine Mutation des PTCH-Gens, welches auf Chromosom 9 lokalisiert ist und auch als Tumorsuppressorgen gilt. Durch das PTCH- Gen wird ein Transmembranprotein kodiert, welches als Antagonist zur Hedgehog Signalkette wirkt. Die Hedgehog Signalkette steuert die Zellidentität, die

Zellstrukturierung und das Zellwachstum in vielen Geweben inklusive dem Zahn. Da durch das mutierte PTCH- Gen diese Kette nicht mehr reguliert wird, kommt es zu einer Überexpression von Genen und damit zu einer ungehemmten Zellaktivität vor allem in der Odontogenese. Da wie oben beschrieben die Zahnentwicklung einen komplexen Vorgang mit einem Wechselspiel von Ektoderm und Mesenchym darstellt, ist anzunehmen, dass eine Dysregulation von PTCH und damit der Sonic Hedgehog Signalkette die Entstehung eines KZOTs sowohl bei syndromalen (multiplen), als auch bei sporadischen (singulären) KZOTs induziert. (Barreto et al. 2000).

1.4 Das Basalzellkarzinom (Basaliom)

1.4.1 Definition, Epidemiologie und Ätiologie

Das Basalzellkarzinom ist der häufigste Hauttumor mit einer Inzidenz von ungefähr 1%. Zu 80% tritt der Tumor im Gesicht auf, was dadurch erklärbar ist, dass der Hauptrisikofaktor für die Entstehung eines Basalioms die Dauer der Strahleneinwirkung der Sonne und hier hauptsächlich der UV Strahlung auf die exponierten Stellen ist. Vorhergehende Sonnenbrände und Sommersprossen in der Kindheit lassen das Risiko, an einem Basalzellkarzinom zu erkranken, ansteigen. Der Tumor tritt nicht in unbehaarten Bereichen auf (*Allgemeine und spezielle Pathologie* 1986). Die Inzidenz, an einem Basalzellkarzinom zu erkranken, steigt mit dem Alter. Weitere Risikofaktoren sind immunsuppressive Therapien, ionisierende Strahlung und Arseneinnahme.

1.4.2 Klinische Diagnostik

Klinisch kann man verschiedene Formen des Basalzellkarzinoms unterscheiden, die unterschiedliche Primäreffloreszenzen aufweisen, welche jedoch auch innerhalb eines Tumors auftreten können: solides Basalzellkarzinom, zystisches Basalzellkarzinom, sklerodermiformes

Basalzellkarzinom, superfizielles Basalzellkarzinom, pigmentiertes Basalzellkarzinom und multizentrisches Basalzellkarzinom (Altmeyer 2003).

Es kann zu einer Destruktion und einer Infiltration des umliegenden Gewebes unter Einschluss von Knochen und Knorpel führen. Metastasen sollen jedoch – wenn überhaupt – sehr selten vorkommen.

1.4.3 Histologische Kriterien

Das Basalzellkarzinom hat seinen Ursprung in einer basalzellartigen Proliferationsknospe, die unter Auflösung der Hemidesmosomen des Stratum basale der Epidermis in das darunterliegende Bindegewebe wächst (*Allgemeine und spezielle Pathologie* 1986). Histologisch erkennt man daher basaloide Zellnester, deren äußere Zellschicht in charakteristischer Palisadenstellung angeordnet ist. Die Zellen im Inneren des Tumorknotens sind eher regellos angeordnet (*Allgemeine und spezielle Pathologie* 1986). Zudem kommt es meist zu einer Spaltbildung zwischen Tumorparenchym und Tumorstroma mit verworrenen Bindegewebsfasern (Altmeyer 2003). Abhängig vom klinischen Subtyp gibt es eine große Variabilität der histologischen Erscheinung: So kommen zum Beispiel im pigmentierten Basalzellkarzinom Melanozyten vor.

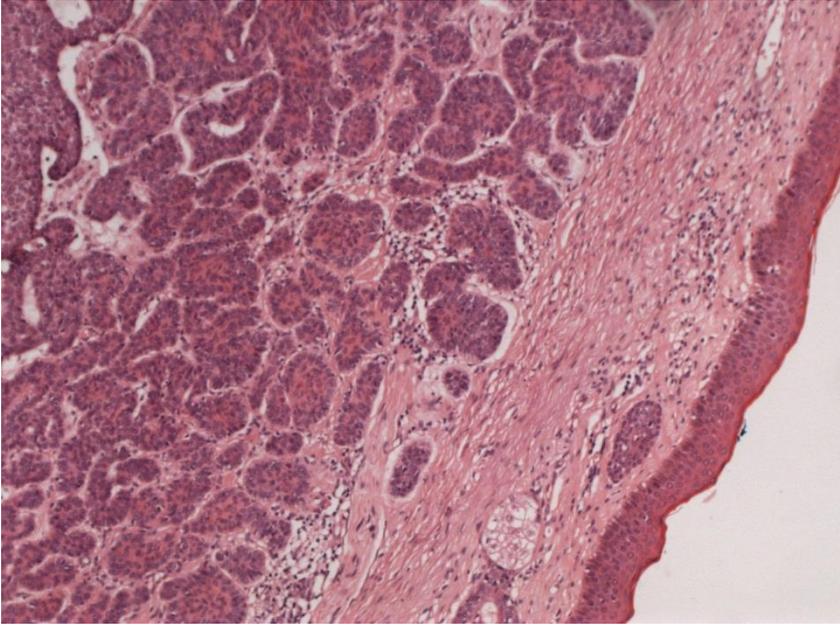


Abbildung 14: Basalzellkarzinom, 5-fache Vergrößerung

1.4.4 Immunhistologische Merkmale

Zur Unterscheidung, ob es sich um ein Plattenepithelkarzinom oder um ein Basalzellkarzinom handelt, wird in der Routinediagnostik der Antikörper Ber-EP4 eingesetzt.

Ber-EP4 ist ein monoklonaler Antikörper, der zwei 34kDa und 39kDa große Glycopolypeptide erkennt, die nicht kovalent gebunden sind und die bei den meisten menschlichen Epithelzellen und viele Karzinomen exprimiert werden (Ansai, Takayama, Kimura, & Kawana 2012).

Ber-EP4 wurde in einem breiten Spektrum von normalem Gewebe bis hin zu unterschiedlichsten neoplastischen Geweben untersucht. Karzinome unterschiedlicher Herkunft wie Brust, Speiseröhre, Leber, Pankreas, Magen, Darm, Milz, Schilddrüse, Ovar sowie nicht neoplastische Epithelzellen, ausgenommen Hepatozyten und Parietalzellen, exprimieren Ber-EP4 (Ozawa, Aiba, Kurosawa, & Tagami 2004).

In normaler Haut reagiert Ber-EP4 mit dem sekretorischen Teil der exokrinen Drüsen und mit follikulären germinativen Zellen am unteren Teil des Haarbalgs. Interessanterweise bindet Ber-EP4 nicht an Keratinozyten.

In der immunhistologischen Färbung zeigen Epithelzellen unterschiedlichen Ursprungs unterschiedliche Expressionslevel innerhalb des Epithels, wobei Epithelzellen eines Typs immer die gleiche homogene Expression von Ber-EP4 aufweisen. Das Ber-Ep4 Antigen ist an der Zellmembran und im Zytoplasma aller nicht-Plattenepithelzellen lokalisiert. Im Grunde ist also jedes Epithel, außer Plattenepithel positiv für Ber-EP4 und jede Zelle die keine Epithelzelle ist, negativ (Dasgeb, Mohammadi, & Mehregan 2013).

Ber-EP4 kann eingesetzt werden, um Epithelzellen von normalen, neoplastischen oder reaktiven Mesothelzellen zu unterscheiden, da Ber-EP4 nie mit Mesothelien reagiert und somit auch nicht in serösen Ergussflüssigkeiten nachweisbar ist. Weiterhin spielt Ber –EP4 eine wichtige Rolle als Tumormarker in Lymphknoten. Ber-EP4 wird in der Pathologie meistens eingesetzt, um zwischen Basalzellkarzinomen und Plattenepithelkarzinomen zu differenzieren, da Basalzellkarzinome im Gegensatz zu Plattenepithelkarzinomen positiv für Ber-EP 4 sind (Beer, Shepherd, & Theaker 2000, Latza, Niedobitek, Schwarting, Nekarda, & Stein 1990). Die positive Reaktion von Ber-EP4 mit Basalzellkarzinomen lässt sich in der Histopathogenese erklären. Das Basalzellkarzinom hat seinen zellulären Ursprung in der äußeren Haarwurzelscheide und nicht in der Epidermis (Tope, Nowfar-Rad, & Kist 2000).

1.4.5 Molekulare Merkmale

Die Dysregulierung der Sonic Hedgehog Signalkette ist ein entscheidendes Merkmal in der Entstehung von Basalzellkarzinomen. Mutationen, die das PTCH-Gen auf Chromosom 9q22 inaktivieren, wurden in Fällen von sporadisch auftretenden Basaliomen sowie bei multipel vorkommenden Basaliomen

festgestellt. Mutationen in anderen Genen dieser Signalkette wie zum Beispiel SMO wurden ebenfalls festgestellt.

Das PTCH-Gen, ein menschliches Homologe zum Drosophila patched Gen, kodiert für ungefähr 1500 Aminosäuren und ist Bestandteil der Sonic-Hedgehog Signalkette, welche an der embryonalen Gewebsentwicklung, aber auch an der Tumorgenese beteiligt ist. In vielen Neoplasien ist eine abweichende Aktivität der Sonic Hedgehog Signalkette nachgewiesen worden (Pan & Li 2009).

Die Bindung der Sonic Hedgehog Signalkette an ihren Transmembranrezeptor Patched führt zur Inaktivierung von Patched, damit zur Enthemmung und Aktivierung von Smoothend mit der Folge eines ungehinderten Zellwachstums bzw. einer Wachstumsfaktorstimulierung (Sun, Li, & Li 2008).

Genetische Veränderungen in dieser Signalkette führen zu erblich bedingten Erkrankungen (z.B. Gorlin-Goltz) sowie zu vereinzelt (sporadisch) auftretenden Krankheiten (Reifenberger et al. 1998).

SMO ist ein Transmembran Protein der SHH Signalkette, das mit dem PTCH-Gen im Sinne einer Inhibition gekoppelt ist. Seine Bedeutung in der Tumorentstehung ist noch nicht so gut untersucht wie die von SHH und PTCH. Es liegt jedoch die Vermutung nahe, dass eine Punktmutation im SMO-Gen ebenfalls an der Entstehung des Gorlin-Goltz-Syndroms, von Medullablastomen und Basaliomen beteiligt sein kann. Vermutlich führt die Mutation im SMO- Gen zu einer konstitutiven Veränderung des Proteins, woraufhin die Signalkette nicht wie gewohnt ablaufen kann. (Reifenberger et al. 1998) Der genaue Mechanismus, wie es zur SMO Aktivierung und damit zur Auslösung einer Neoplasie kommt, ist noch ungeklärt; vermutet wird eine Veränderung der Interaktion zwischen SMO und PTCH.

Mutationen im TP53- Gen wurden in mehr als 15% aller Basaliome gefunden und sind ein Hinweis auf Tumorentstehungen im höheren Lebensalter (Neville 2009).

1.4.6 Prognose und Therapie

Die Therapie des Basalzellkarzinoms erfolgt als chirurgische Exzision im Gesunden mit einigen Millimetern Sicherheitsabstand, weshalb ab einer bestimmten Größe meist eine Defektdeckung mit Plastik oder einem Hauttransplantat nötig wird. Eine Tumornachsorge ist vor allem dann wichtig, wenn das Basalzellkarzinom schon zu Gewebedestruktionen geführt hat und wenn es syndrom-assoziiert multipel auftritt (Austermann 2002).

Als Therapiealternativen sind die Kryotherapie, eine topische Chemotherapie und eine Strahlentherapie zu nennen.

Vor allem bei Patienten mit dem oben beschriebenen Gorlin-Goltz-Syndrom kann eine prophylaktische Gabe von Acitretin die weitere Bildung von Basalzellkarzinomen unterdrücken. Die Wirkung ist jedoch nicht eindeutig bewiesen (Altmeyer 2003).

Ein neuartiges Therapieprinzip zur Behandlung von Basalzellkarzinomen ist die Hemmung des Hedgehog Signalweges. Bei Basalzellkarzinomen besteht häufig eine abnorme Aktivierung des Hedgehog-Signalweges. Der erste therapeutisch verwendete Vertreter der neuen Wirkstoffklasse der Hedgehog-Signalweg-Inhibitoren ist Vismodegib („first-in-class“), experimentelle Wirkstoffe in der klinischen Erprobung sind beispielsweise Sonidegib und Saridegib. Sie hemmen selektiv den Transmembranrezeptor Smoothed (SMO) (Grabbe et al 2013).

1.5 Fragestellung und Zielsetzung

Die verschiedenen odontogenen Zysten sind – wie oben schon erwähnt – oftmals nicht allein auf histologischer Basis zu differenzieren, vor allem wenn sich das Zystenepithel durch Entzündung weitestgehend verändert hat.

Ziel dieser Studie ist die Erstellung von Expressionsprofilen des Epithels von odontogenen Zysten unter besonderer Berücksichtigung des keratozystischen odontogenen Tumors und des epithelialen Zelladhäsionsmoleküls Ber-EP4.

Mithilfe der Expressionsprofile soll die Frage geklärt werden, ob die verschiedenen Zystenformen anhand bestimmter Antigene unterschieden werden können.

Bisherige Ergebnisse aus Vorversuchen zu dieser Studie legen nahe, dass Ber-EP4 nur bei keratozystischen odontogenen Tumoren exprimiert wird und dadurch eine Abgrenzung zu den anderen Zystenformen möglich ist.

Ferner soll geklärt werden, ob die Expression von Ber-EP4 nur bei Patienten mit Gorlin-Goltz-Syndrom auftritt oder grundsätzlich bei keratozystischen odontogenen Tumoren zu finden ist.

KAPITEL 2 MATERIAL UND METHODE

2.1 Material

2.1.1 Materialgewinnung

Über die Suchmaschine des Institutes für Pathologie der Universität Tübingen (Nexus, PasNet Patientendatei) konnten mit Hilfe der Schlagwörter „Keratozyste“, „keratozystischer odontogener Tumor“, „follikuläre Zyste“, „radikuläre Zyste“, „Ameloblastom“ und „Basaliom“ alle im Institut befundenen keratozystischen odontogenen Tumore, follikulären Zysten, radikulären Zysten, Ameloblastome und Basalzellkarzinome herausgesucht werden, welche zwischen 1993 und 2010 im Institut befundet wurden.

Im Gegensatz zu den KZOTs, die alle in die Studie aufgenommen wurden, wurde die Zahl der radikulären und follikulären Zysten auf etwa 100 Fälle begrenzt.

Die Studie umfasst somit 147 follikuläre Zysten, 113 radikuläre Zysten sowie 128 KZOTs, 44 Basaliome, 29 Ameloblastome und 23 unklare Fälle. Bei 367 Fällen (Unklar: 15, KZOT: 103, follikuläre Zyste: 114, radikuläre Zyste: 76, Ameloblastom: 23 und Basalzellkarzinom: 36) handelt es sich um Gewebe aus der Mund-Kiefer- und Gesichtschirurgie und der Hautklinik der Universität Tübingen (klinikumsintern). Die weiteren 126 Fälle stammen aus externen städtischen und privaten Kliniken im Umkreis (unklar: 8, KZOT: 25, follikuläre Zyste: 32, radikuläre Zysten 47, Ameloblastome: 6 und Basalzellkarzinome: 8). Mit Ausnahme der KZOTs wurden alle Fälle per Zufall ausgewählt.

Studienrelevant war hierbei die histologische Fallnummer, um den jeweiligen Schnitt/Block aus dem Archiv holen zu können, das Eingangsdatum, um es mit möglichen Operationsunterlagen und Röntgenbildern des Zentrum für Zahn-Mund und Kieferheilkunde Tübingen zu vergleichen und der histologische Befund mit kritischer Stellungnahme.

Im Archiv der Pathologie Tübingen wurden anhand der Fallnummern die entsprechenden Schnitte und Blöcke herausgesucht. Alle Fälle, die aus den

Jahren 1993-2000 stammten, wurden mittels Mikrotom nachgeschnitten und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Die benötigten klinischen Daten, wie präoperative Diagnose und Röntgenbefund, konnten mit Hilfe des Patientennamens und des Geburtsdatums im Zentrum für Zahn-Mund- und Kieferheilkunde herausgesucht werden. Durch das Gewebeeingangsdatum des histologischen Falls, das mit dem Operationsdatum übereinstimmt, konnte der jeweils relevante Karteneintrag und Operationsbericht sowie Arztbrief erfasst werden, um die damals präoperative und/oder intraoperative und/oder postoperativ gestellte Diagnose zu ermitteln und gegebenenfalls klinische Befunde nachzuvollziehen.

Die Arztbriefe und Röntgenbilder wurden mithilfe eines Röntgenbildbelichters und einer Digitalkamera (Pentax, Optio RX 18) abfotografiert, um diese in digitaler Form zu erhalten.

Leider standen nur in insgesamt 123 Fällen klinische Unterlagen zur Verfügung.

2.1.2 Standardfärbung, Antikörper, Reagenzien

2.1.2.1 Hämatoxylin Eosin

Hämatoxylin–Eosin	Ventana HE 600
-------------------	----------------

2.1.2.2 Antikörper

Monoklonaler Antikörper	Bestellnummer	Antigen	Verdünnung	Hersteller
Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen, Clone Ber-EP 4	M0804	Epithelial Antigen	1:100 (in Antikörper Diluent, Zytomed)	Dako, Glostrup, Denmark
Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 17, Clone E3	M7046	Zytokeratin 17	1:50 (in Antikörper Diluent, Zytomed)	Dako, Glostrup, Denmark
Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 19, Clone RCK 108	M0888	Zytokeratin 19	1:200 (in Antikörper Diluent, Zytomed)	Dako, Glostrup, Denmark
Rabbit Anti-KRT 6B Polyclonal Antibody	17391-1AP	Zytokeratin 6 B	1:200 (in Antikörper Diluent, Zytomed)	Proteintech, USA
Rabbit polyclonal to Gli1	ab92611	Gli1	1:50 (in Antikörper Diluent, Zytomed)	Abcam, Cambridge, UK
Mouse Monoclonal to heparan	ab26265	Heparan Sulfate Proteoglycan	1:50 (in Antikörper Diluent,	Abcam, Cambridge, UK

Monoklonaler Antikörper	Bestellnummer	Antigen	Verdünnung	Hersteller
Sulfate Proteoglycan 2		2	Zytomed)	
Rabbit polyclonal to Ulex Europaeus Lectin 1	ab50683	UEA	1:500 (in Antikörper Diluent, Zytomed)	Abcam, Cambridge, UK

Tabelle 3: Antikörper

2.1.2.2.1 Spezifität der Antikörper

- Ber-EP 4: Epithelzellen, Unterscheidung zwischen Adenokarzinomen und malignen Mesotheliomen und zwischen Basalzellkarzinomen und Plattenepithelkarzinomen
- KRT 6B: Epitheliale Hyperproliferation und Differenzierung
- CK 17: Basalzellen und Myoepithelzellen vielschichtiger Epithelien sowie Übergangsepithelien
- CK 19: einschichtigem Epithel und in Basalzellen, nicht in verhorntem mehrschichtigem Plattenepithel
- Gli1: Gastrointestinaltrakt, Gehirngewebe

Heparan Sulfate Proteoglycan 2: glomeruläre Basalmenbran,
Basalmembran aller Epithelien

UEA: menschliche Endothelzellen, Colonepithel,
Schweißdrüsen, Haarfollikel, Plattenepithel
der Tonsillen

2.1.2.3 Reagenzien

	Firma	Herstellerhinweise	Verwendungszweck
Diluent	Zycomed	Ready to use, 500ml Pckg, AK nach Vorgabe des AK verdünnen	Antikörperverdünnung
Gill's Lösung	Pathologie Tübingen	7ml Hämatoxylin 10ml Eisessig 12ml destilliertes Wasser	Gegenfärbung
EZ –Prep	Ventana	Ready to use, 2l Flasche 10-fach konzentriert zum Verdünnen	Entparaffinisierung
LCS (liquid cover slip)	Ventana	Aliphatisches Öl geringer Dichte, 2l Flasche	Flüssiges Deckglas
SSC	Ventana	Natriumchlorid- Natriumcitrat, verbessert die Färbequalität	Waschpuffer
Universal TRIS Puffer	Ventana	Puffer, pH= 7,6, 10- fach konzentriert zur Verdünnung	Reaktionspufferlösung
CC	Ventana	Zellkonditionierung,	Wärmevorbehandlung
CC1	Ventana	Puffer, pH= 8,4,	Wärmevorbehandlung

	Firma	Herstellerhinweise	Verwendungszweck
		enthält Tris/Borate/EDTA	
CC2	Ventana	Citratpuffer pH 8	Wärmevorbehandlung
Iview biotinyliertes Ig	Ventana	Protein Block	
Iview Avidin	Ventana	Streptavidin- Meerrettichperoxidase	Streptavidin- Peroxidase
Iview H202	Ventana	Wasserstoffperoxid	Katalysator
Iview Chromogen	Ventana	Chromogen	Sichtbarmachen des Antikörpers
Iview Kupfer	Ventana	Kupfer	Metallischer Verstärker der Färbung
UV Inhibitor	Ventana	Wasserstoffperoxid	
Protease1	Ventana	Enzym	Spaltet Proteine, um Epitopbindungsstellen für die Antigene sichtbar zu machen
UV HRP UNIV Mult	Ventana	Meerrettich- Peroxidase	Peroxidase
UV DAB Chromogen	Ventana	Chromogen	AK wird sichtbar gemacht
UV Kupfer	Ventana	Kupfer	Metallischer Verstärker der Färbung

Tabelle 4: Reagenzien

2.2 Methoden

2.2.1 HE- Nachbegutachtung

Die Schnitte der Jahre 2000-2010 konnten im Original in der HE-Färbung aus dem Archiv geholt werden. Bei allen anderen Fällen wurden nur die Blöcke archiviert, sodass neue Schnitte angefertigt werden mussten. Die Blöcke wurden mit einem Mikrotom geschnitten, mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt und anschließend eingedeckelt.

Alle Schnitte der herausgesuchten odontogenen Zysten wurden am Mikroskop in einer Nachuntersuchung begutachtet und anhand der unter Punkt 1.2 beschriebenen Kriterien histologisch durch unsere Arbeitsgruppe befundet.

Jeder Schnitt wurde dabei zunächst in der Übersichtsvergrößerung (2,5-fach) angeschaut, um das Epithel auffindig zu machen, welches dann in den Vergrößerungen 5-fach, 10-fach und 40-fach ausgewertet wurde. Für die spätere Erstellung der Tissue Microarrays (TMAs) wurde ein histologisches Areal ausgewählt, welches die typischen Merkmale der Zyste enthielt (Siehe Kapitel 1 Einleitung) und ein weiteres, das entzündlich veränderte Epithelanteile zeigte oder nicht sicher diagnostizierbar war. Diese Stellen wurden mit einem wasserfesten Stift (Multimark 1525 permanent, Faber-Castell) auf dem Deckglas des Schnittpräparates markiert, um sie später repräsentativ für das gesamte Zystenepithel in die TMAs zu übertragen, damit eine schnelle und kostengünstige immunohistochemische Untersuchung mittels verschiedener Antikörper erfolgen konnte.

2.2.2 Herstellung der Tissue Microarrays (TMAs, Multiblöcke)

Die auf dem Objektträger markierten Stellen wurden mit einer 4mm und 6mm durchmessenden Hautbiopsiestanze aus dem auf 30°C vorgewärmten Paraffinblock entfernt, um diese repräsentative Stelle des Gewebeblockes in einen TMA zu überführen. Das Anwärmen des Paraffinblockes erfolgte auf einer Wärmplatte und sollte eine glatte und gleichmäßige Ausstanzung

gewährleisten. Das vorher betrachtete und markierte histologische Schnittpräparat wurde zum Auffinden der entsprechenden Stelle auf den Paraffinblock gelegt. Mit einer konventionellen Hohlzahn konnte das Stanzpräparat aufgenommen und auf ein vorher zurechtgeschnittenes doppelseitiges Klebeband gesetzt werden, welches auf der Rückseite durch eine Röntgenfolie⁶ als Träger des Klebebandes verstärkt war.

Die mit doppelseitigem Klebeband präparierte Röntgenfolie (circa 32mm x 20mm) diente zum Übertragen der 32 (d = 4mm) beziehungsweise 15 (d = 6mm) paraffineingebetteten Ausstanzungen in das Ausgießförmchen zum Erstellen eines TMA. Die Ausgießförmchen wurden mit 80°C heißem Paraffin ausgegossen und dann so lange auf eine Wärmeplatte (62°C) gelegt, bis die paraffineingebetteten Stanzzyylinder mit dem zugeführten heißen Paraffin verschmolzen waren und das aufgeklebte Klebeband und das Gewebe im flüssigen Paraffin sichtbar wurden. Die TMAs wurden zunächst 20 min bei Raumtemperatur abgekühlt und danach für circa 24h bei 7°C im Kühlschrank gelagert. Durch das Abkühlen zog sich das Paraffin des TMA zusammen, so dass der TMA aus der Ausgießform entnommen werden konnte. Danach wurde die Röntgenfolie samt Klebeband vom TMA abgezogen. Nach diesem Verfahren wurden aus allen Fällen insgesamt 35 TMAs hergestellt, wobei sich in 22 TMAs 32 Gewebestanzzyylinder befinden, in 11 TMAs 15, in einem TMA 13 und in wiederum in einem TMA 26 Gewebestanzzyylinder.

In jedem TMA befindet sich neben dem studienrelevanten Material (Zysten, Basaliome, Ameloblastome, unklare Fälle) immer rechts oben der Markierungsstanzzyylinder der Leberzirrhose, der gleichzeitig auch als Kontrollgewebe fungierte. Je nachdem, wie viel repräsentatives oder diagnostisch unklares Epithel in dem ursprünglichen HE-Schnitt markiert wurde, wurden pro Fall auch mehrere Gewebestanzzyylinder entnommen.

Die einzelnen TMAs wurden weitgehend mit Gewebe einer Diagnose bestückt, um dann alle keratozystischen odontogenen Tumoren, follikulären Zysten,

⁶ Röntgenfolie wurde als Unterlage verwendet, da sie knickstabil und schmelzfest ist und am festgewordenen Paraffinblock im Ganzen entfernt werden kann.

radikulären Zysten, Ameloblastome, Basaliome und alle unklaren Fälle im Überblick auf einem TMA betrachten und auswerten zu können.

2.2.3 Durchführung der immunhistologischen Färbungen

Von den hergestellten TMAs wurden mit dem Rotationsmikrotom 2µm dicke Gewebeschnitte angefertigt. Die Aufnahme der angefertigte Schnitte erfolgte auf einen Objektträger (R. Langenbrink 76x26mm). Die Schnitte wurden getrocknet und 4 Minuten bei 75°C getrocknet. Anschließend wurden die Schnitte mittel EZ Prep (Firma Ventana) entparaffinisiert. Am Ende des Färbvorgangs wurden die Schnitte mittels eines Automaten mit einem Deckglas und dem Kunstharz Pertex eingedeckelt.

Die Vorbehandlung der histologischen Schnittpräparate für die immunhistochemische Färbung sowie die Antikörperfärbung erfolgte vollautomatisch im Färbeautomat BenchMark XT (IHC/ISH Färbemodul) mittels des Iview Detection Kits (indirekte Streptavidin Biotin Methode) und des UltraView Detection Kits (biotinfreie Methode).

2.2.3.1 Iview Detection Kit

Das IView Detection Kit der Firma Ventana nutzt die indirekte Streptavidin Biotin Methode, um Antigen-Antikörper-Reaktionen sichtbar zu machen.

2.2.3.1.1 Spezielle Vorbehandlung der Schnitte

Je nachdem, welcher Antikörper verwendet wird, müssen die Schnitte entsprechend vorbehandelt werden. Die Vorbehandlung ist abhängig von der Einbettung des Gewebes, von der Art der Darstellung, von der Art des Antikörpers und vom Hersteller.

2.2.3.1.1.1 Antigen-Demaskierung mittels Protease

Die Protease Vorbehandlung erfolgte für die Färbung mit Cytokeratin 19 und Ber-EP4.

1. Waschung mit SSC Natriumchlorid-Natriumcitrat, um die spätere Färbequalität zu verbessern. Der Objektträger wurde auf 37°C erwärmt und für 4 Minuten inkubiert.
2. Auftragen des I-View Inhibitors zur Hemmung der endogene Peroxidase (Ventana) mit einer folgenden Inkubationszeit von 4 Minuten.
3. Auftragen der Protease 1 (0,5 U/ml paraffineingebettetes, formalinfixiertes Gewebe, Ventana) und von LCS (Ventana) zur Verhinderung der Verdunstung der Reagenzien. Inkubation für 4 Minuten.
4. Mehrmaliges Spülen mit TRIS-Puffer pH 7,6 (Ventana/Roche)
5. Der Objektträger wurde auf 37°C erwärmt und für 4 Minuten inkubiert.

Zwischen allen 3 Schritten erfolgte eine Spülung mit TRIS-Puffer pH 7,6 und das Auftragen des „Liquid Coverslips“ (LCS) zum Schutz der Reagenzien vor Verdunstung.

2.2.2.1.1.2 Antigen-Demaskierung mittels Wärmeverbehandlung

Die Wärmeverbehandlung erfolgte für die Antikörper KRT 6B und Cytokeratin 17.

1. CC1 langsam auftragen
2. Abgabe von CC und LCS (Ventana)
3. Waschung mit SSC Natriumchlorid-Natriumcitrat, um die spätere Färbequalität zu verbessern.
4. Aufheizen des Objektträgers bis 95°C und Inkubation für 8 Minuten.
5. Auftragen des CC1 pH 8,4 (enthält TRIS/Borate und EDTA (Cell-Conditioner Nr.1, Ventana)).

6. Auftragen von CC und LCS (Ventana/Roche)
7. Aufheizen des Objekträgers bis 100°C und Inkubation für 4 Minuten.
8. Es erfolgt 5 x im Wechsel der Auftrag von CC1 und CC/LCS
9. Zellkonditionierung für 60 Minuten
10. Es erfolgt 7x im Wechsel das Auftragen von CC1 und CC/LCS.
11. Abschaltung der Heizung und Inkubation für 8 Minuten.
12. Spülung mit TRIS Puffer pH 7,6
13. Aufheizen des Objekträgers auf 37°C für 4 Minuten Inkubationszeit
14. Auftragen des I-View Inhibitors zur Hemmung der endogenen Peroxidase (Ventana) mit einer folgenden Inkubationszeit von 4 Minuten.
15. Mehrmaliges Spülen mit TRIS-Puffer pH 7,6 (Ventana/Roche).

Die Gewebeschnitte wurden mit Hilfe einer indirekten Streptavidin-Biotin Methode gefärbt, wobei als Enzym Peroxidase eingesetzt wurde.

2.2.3.1.2 Die Streptavidin-Biotin-Methode mit Peroxidase als Enzym

Die Antikörper Ber-EP4, CK 17, CK 19 und KRT 6B wurden anhand dieser Methode eingesetzt und waren zum Gebrauch im Ventana Benchmark XT bestimmt. Es wurde dabei das Iview DAB v3 Detektionskit (Ventana/Roche) verwendet. Die Applikation der Reagenzien lief folgendermaßen ab.

1. Auftragen des Primärantikörpers (Monoclonal Mouse Antihuman Cytokeratin 17, Monoclonal Mouse Antihuman Cytokeratin 19, Monoclonal Mouse Antihuman Epithelial Antigen, Dako Cytomation Glostrup Denmark, Polyclonal Rabbit Anti KRT 6B, Proteintech, USA. Die Inkubationszeit des Primärantikörpers betrug 32 Minuten bei Raumtemperatur.
2. Biotinylierter Zweitantikörper (Iview biotinyliertes Ig, Ziege anti-Maus IgG, Ziege anti-Maus IgM, Ziege anti-Kaninchen IgG, Ventana Medical Inc. Systems) wurde aufgetragen und für 8 Minuten bei 37°C inkubiert.

3. Vorgefertigter Streptavidin-Biotin-Enzymkomplex (iView Avidin HRPO, Ventana Medical Inc. Systems) wurde aufgetragen und 8 Minuten inkubiert. Meerrettich-Peroxidase diente hierbei als Enzym.
4. Auftragen des IView DAB Chromogens (Ventana), des IView H₂O₂ (Ventana) als Katalysator und des LCS zum Verhindern von Verdunstungen der Reagenzien (Ventana) für eine Inkubationszeit von 8 Minuten.
5. Als metallischer Verstärker des Chromogens wurde IView Cooper (Ventana) verwendet, wodurch das DAB rötlich-bräunlich gefärbt wird. Die Inkubationszeit betrug 4 Minuten.

Zwischen jedem Schritt wurde mit TRIS-Puffer pH 7,6 gespült. Zum Schluss erfolgte die Gegenfärbung mit Gill's Lösung. Nach dem Bläuen unter fließendem Wasser wurde eingedeckelt.

2.2.3.2 UltraView Detection Kit

Das IView Detection Kit der Firma Ventana nutzt eine biotinfreie Methode, um Antigen-Antikörper-Reaktionen sichtbar zu machen.

2.2.3.2.1 Spezielle Vorbehandlung der Schnitte

Je nachdem, welcher Antikörper verwendet wird, müssen die Schnitte entsprechend vorbehandelt werden. Die Vorbehandlung ist abhängig von der Einbettung des Gewebes, von der Art des Antikörpers und vom Hersteller.

2.2.3.2.1.1 Antigen-Demaskierung mittels Protease

Die Protease Vorbehandlung erfolgte für die Färbung mit Perlecan und Ulex.

1. Waschung mit SSC Natriumchlorid-Natriumcitrat, um die spätere Färbequalität zu verbessern. Der Objektträger wurde auf 37°C erwärmt und für 4 Minuten inkubiert.
2. Auftragen des UV-View Inhibitors zur Hemmung der endogenen Peroxidase (Ventana) mit einer folgenden Inkubationszeit von 8 Minuten.
3. Auftragen der Protease 1 (0,5 U/ml paraffiniertes, formalinfixiertes Gewebe, Ventana) und LCS (Ventana) zur Verhinderung der Verdunstung der Reagenzien. Inkubation für 4 Minuten.
4. Mehrmaliges Spülen mit TRIS-Puffer pH 7,6 (Ventana/Roche)
5. Der Objektträger wurde auf 37°C erwärmt und für 4 Minuten inkubiert.

Zwischen allen 3 Schritten erfolgte eine Spülung mit TRIS-Puffer pH 7,6 und das Auftragen eines „Liquid Coverslips“ (LCS) zum Schutz der Reagenzien vor Verdunstung.

2.2.3.2.1.2 Antigen Demaskierung mittels Wärmeverbehandlung

Die Wärmeverbehandlung mit CC1 KIT (Ventana) erfolgte für die Antikörper GLI und Perlecan.

1. CC langsam auftragen.
2. Abgabe von CC und LCS (Ventana).
3. Waschung mit SSC Natriumchlorid-Natriumcitrat, um die spätere Färbequalität zu verbessern.
4. Aufheizen des Objektträgers bis 95°C und Inkubation für 8 Minuten.
5. Auftragen des CC1 pH 8,4 (enthält TRIS/Borate und EDTA (Cell-Conditioner Nr.1, Ventana)).
6. Auftragen von CC1 und LCS (Ventana/Roche).
7. Aufheizen des Objektträgers bis 100°C und Inkubation für 4 Minuten.
8. Es erfolgt 5 x im Wechsel der Auftrag von CC1 und CC/LCS.

9. Zellkonditionierung für 60 Minuten.
10. Es erfolgt 7x im Wechsel das Auftragen von CC1 und CC/LCS.
11. Abschaltung der Heizung und Inkubation für 8 Minuten.
12. Spülung mit TRIS Puffer pH 7,6.
13. Aufheizen des Objektträgers auf 37°C für 4 Minuten Inkubationszeit.
14. Auftragen des UV-Inhibitors zur Hemmung der endogenen Peroxidase (Ventana) mit einer folgenden Inkubationszeit von 4 Minuten.
15. Mehrmaliges Spülen mit TRIS-Puffer pH 7,6. (Ventana/Roche).

Die Wärmeverbehandlung mit CC2 KIT (Ventana) erfolgte für den Antikörper GLI.

1. CC langsam auftragen.
2. Abgabe von CC und LCS (Ventana).
3. Waschung mit SSC Natriumchlorid-Natriumcitrat, um die spätere Färbequalität zu verbessern.
4. Aufheizen des Objektträgers bis 94°C und Inkubation für 8 Minuten.
5. Auftragen des CC2 pH 8,4 (enthält TRIS/Borate und EDTA (Cell-Conditioner Nr.1, Ventana)).
6. Auftragen von CC2 und LCS (Ventana/Roche).
7. Aufheizen des Objektträgers bis 95°C und Inkubation für 4 Minuten.
8. Es erfolgt 7 x im Wechsel der Auftrag von CC2 und CC/LCS.
9. Zellkonditionierung für 60 Minuten.
10. Es erfolgt 5x im Wechsel das Auftragen von CC1 und CC/LCS.
11. Abschaltung der Heizung und Inkubation für 8 Minuten.
12. Spülung mit TRIS Puffer pH 7,6.
13. Aufheizen des Objektträgers auf 37°C für 4 Minuten Inkubationszeit.
14. Auftragen des UV-Inhibitors zur Hemmung der endogenen Peroxidase (Ventana) mit einer folgenden Inkubationszeit von 4 Minuten.
15. Mehrmaliges Spülen mit TRIS-Puffer pH 7,6 (Ventana/Roche).

Die erweiterte Wärmeverbehandlung mit CC2 KIT (Ventana) erfolgte für den Antikörper Ulex.

1. CC langsam auftragen.
2. Abgabe von CC und LCS (Ventana).
3. Waschung mit SSC Natriumchlorid-Natriumcitrat, um die spätere Färbequalität zu verbessern.
4. Aufheizen des Objektträgers bis 94°C und Inkubation für 8 Minuten.
5. Auftragen des CC2 pH 8,4 (enthält TRIS/Borate und EDTA (Cell-Conditioner Nr.1, Ventana)).
6. Auftragen von CC2 und LCS (Ventana/Roche).
7. Aufheizen des Objektträgers bis 95°C und Inkubation für 4 Minuten.
8. Es erfolgt 7 x im Wechsel der Auftrag von CC2 und CC/LCS.
9. Zellkonditionierung für 60 Minuten.
10. Es erfolgt 5x im Wechsel das Auftragen von CC1 und CC/LCS.
11. Zellkonditionierung für 84 Minuten.
12. Es erfolgt 5x im Wechsel das Auftragen von CC1 und CC/LCS.
13. Abschaltung der Heizung und Inkubation für 8 Minuten.
14. Spülung mit TRIS Puffer pH 7,6.
15. Aufheizen des Objektträgers auf 37°C für 4 Minuten Inkubationszeit.
16. Auftragen des UV-Inhibitors zur Hemmung der endogenen Peroxidase(Ventana) mit einer folgenden Inkubationszeit von 4 Minuten.
17. Mehrmaliges Spülen mit TRIS-Puffer pH 7,6 (Ventana/Roche).

Die Gewebeschnitte wurden mit Hilfe einer biotinfreien Methode gefärbt, wobei als Enzym Peroxidase eingesetzt wurde.

2.2.3.2.2 Biotinfreie-Methode mit Peroxidase als Enzym, Peroxidase-Antiperoxidase Technik

Die Antikörper Gli, Perlecan und Ulex wurden anhand dieser Methode eingesetzt und waren zum Gebrauch im Ventana Benchmark XT bestimmt. Es wurde dabei das UV DAB v3 Detektionskit (Ventana/Roche) verwendet. Die Applikation der Reagenzien lief folgendermaßen ab.

1. Auftragen des Primärantikörpers (Rabbit polyclonal Antibody to Gli1, Mouse Monoclonal Antibody to heparan Sulfate proteoglycan 2, Rabbit polyclonal Antibody to Ulex Europaeus Lectin 1).
2. Die Inkubationszeit des Primärantikörpers betrug 32 Minuten bei Raumtemperatur.
3. Auftrag der Meerrettichperoxidase (UV HRP universales Multimer) und für 8 Minuten bei 37°C inkubiert.
4. Auftragen des UVDAB Chromogens (Ventana) ,des UV H₂O₂ (Ventana) als Katalysator und des LCS zur Verhinderung der Verdunstung der Reagenzien (Ventana) für eine Inkubationszeit von 8 Minuten.
5. Als metallischer Verstärker des Chromogens wurde UV Cooper (Ventana) verwendet, wodurch das DAB rötlich-bräunlich gefärbt wird. Die Inkubationszeit betrug 4 Minuten.

Zwischen jedem Schritt wurde mit TRIS-Puffer pH 7,6 gespült. Zum Schluss erfolgte die Gegenfärbung mit Gill's Lösung und nach dem Bläuen unter fließendem Wasser wurde eingedeckelt.

2.2.4 Auswertungsmethode

Die Auswertung der immunhistologischen Färbungen erfolgte für alle 7 Antikörper unter dem Zeiss Mikroskop, wobei mittels der unterschiedlichen Vergrößerungen die Lage der Färbung im Epithel, die Bindungsstelle des Antikörpers, die Intensität der Färbung und die ungefähre prozentuale Anzahl

der gefärbten Zellen erfolgte. Die Auswertung erfolgte somit qualitativ und semi-quantitativ.

2.2.5 Kontrollgewebe

Als Kontrolle für die Färbespezifität der Antikörper diente in jedem TMA der Stanzzyylinder der Leber.

KAPITEL 3 ERGEBNISSE

3.1 Die Korrelation der klinischen/radiologischen und der histologischen Diagnostik

In insgesamt 131 Fällen war es möglich, mittels präoperativer Röntgenbilder und Arztbriefen eine „klinische Diagnose“ herauszufinden.

In 24 Fällen war entweder keine klinische Diagnose vorhanden oder es fand keine Zystentypisierung statt. Von diesen 24 Fällen waren nach histologischer Begutachtung 41,6% (10 Fälle) folliculäre Zysten, 29,2% (7) keratozystisch odontogene Tumoren, 20,8% (5) radikuläre Zysten und je 4,2% (jeweils 1 Fall) Ameloblastome und unklare Fälle.

In insgesamt 39,3% (42) stimmten die klinische und die histologische Diagnose nicht überein.

Von 75 keratozystischen odontogenen Tumoren, von denen Unterlagen aus dem ZZMK Tübingen vorlagen und die klinisch als keratozystische odontogene Tumoren befundet wurden, waren 76% (57) auch histologisch keratozystische odontogene Tumore; 21,3% (16) wurden histologisch als folliculäre Zysten diagnostiziert und jeweils 1,3% (1) als radikuläre Zyste oder als unklarer Fall.

Von 21 folliculären Zysten, von denen Unterlagen aus dem ZZMK Tübingen vorlagen und die klinisch als folliculäre Zyste befundet wurden, waren 47,6% (10) der Fälle auch folliculäre Zysten, 10%(4) keratozystische odontogene Tumoren, 9,5% (2) radikuläre Zysten, 4,7% (1) Ameloblastome und 19% (4) unklare Fälle.

13 Zysten wurden klinisch als radikuläre Zyste befundet. Davon waren 38,5% (5) auch histologisch radikuläre Zysten, 38,5%(5) folliculäre Zysten und 23,1% (3) keratozystische odontogene Tumoren.

Bei 8 Fällen war die klinische Diagnose Residualzyste. 37,5% (3) dieser Fälle waren keratozystische odontogene Tumoren, 50%(4) folliculäre Zysten und 12,5% (1) radikuläre Zysten.

Klinische Meinung	Pathologiebefund →	Unklar	Follikuläre Zyste	KZOTs	Radikuläre Zyste	Ameloblastom
Zyste/unklar (24 Fälle)		4,2%(1)	41,6%(10)	29,2%(7)	20,8%(5)	4,2%(1)
Follikuläre Zyste (21)		19%(4)	47,6%(10)	19%(4)	9,5%(2)	4,7%(1)
KZOTs (75)		1,3%(1)	21,3%(16)	76%(57)	1,3%(1)	0
Radikuläre Zyste (13)		0	38,5%(5)	23,1%(3)	38,5%(5)	0
Residualzyste (8)		0	50%(4)	37,5%(3)	12,5% (1)	0

Tabelle 5: Vergleich: klinische Diagnose mit pathologischer Diagnose

3.2 Die Ber-EP4 Färbung⁷

Es konnten 128 keratozystische odontogene Tumoren, 115 radikuläre Zysten, 147 follikuläre Zysten, 29 Ameloblastome und 44 Basalzellkarzinome ausgewertet werden.

89% (114 Fälle) der keratozystischen odontogenen Tumoren sind positiv für den Antikörper Ber-EP4 und 11% (14) negativ. In allen Basalzellkarzinomen (100%, 44 Fälle) konnte der Ber-EP4 Antikörper nachgewiesen werden. Die follikulären Zysten sind zu 70,1% (103) negativ für den Antikörper Ber-EP4 und zu 29,9% (44) positiv. Bei den radikulären Zysten konnte der Antikörpernachweis nur in 0,9%(1) erfolgen, die restlichen 99,1% (114) der Fälle waren negativ. Die unklaren Fälle wiesen Ber-EP4 in 26,1% (6) auf, in 73,9% (17) konnte der Antikörpernachweis nicht stattfinden. 69% (20) der Ameloblastome waren negativ für Ber-EP4 und 31% positiv (9).

⁷ Ber-EP4 entspricht EP-Cam.

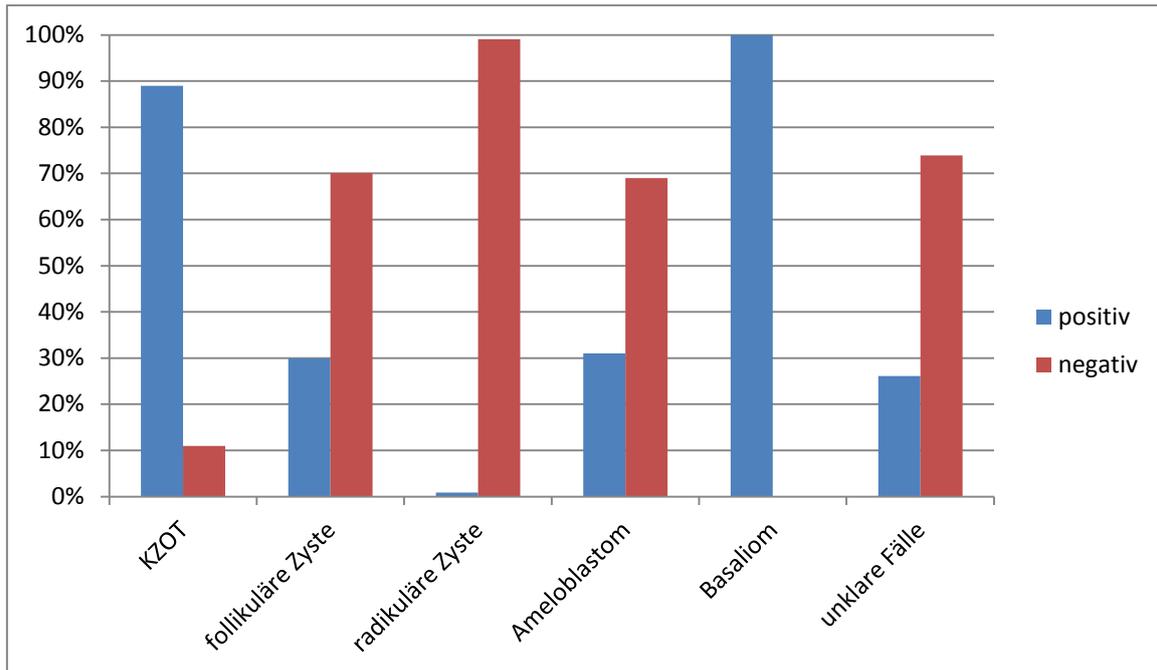


Abbildung 15: Ber-EP4-Färbung bei allen Zysten, den Ameloblastomen und Basaliomen

(X-Achse Zystenart, Y- Achse in %)

Bei der Färbung mit dem Antikörper Ber-EP4 kann man 7 verschiedene Färbemuster unterscheiden:

0= Ber-EP4 negativ

1= zytoplasmamembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4

2= zytoplasmamembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4

3= zytoplasmamembranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4

4= zytoplasmamembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4

5= zytoplasmamembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4

6= zytoplasmatisch und zytoplasmamembranständig basal positiv für Ber-EP4

In allen Zysten war die Färbung der Epithelzellen mit dem Antikörper Ber-EP4 zytoplasmamembranständig. In Basaliomen⁸ ist der Antikörper zytoplasmamembranständig sowie zytoplasmatisch nachzuweisen

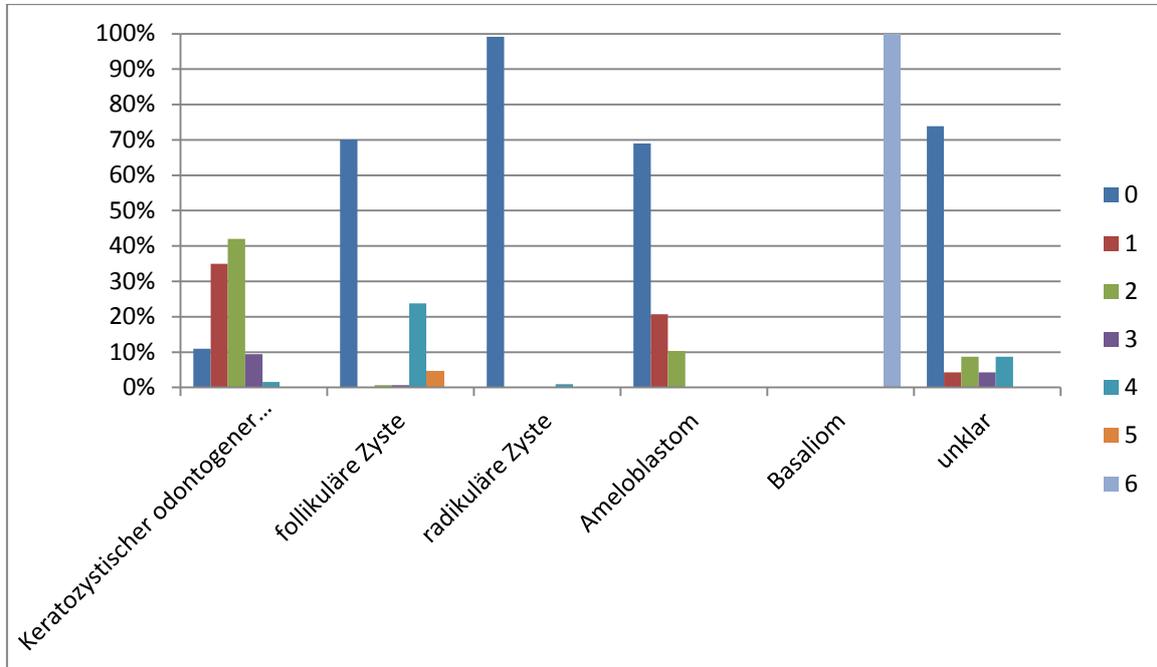


Abbildung 16: Färbemuster von Ber-EP4 bei allen Zysten, Ameloblastomen und Basaliomen

(X-Achse Färbemuster bei den einzelnen Diagnosen, y-Achse Häufigkeit des Färbemusters bei den einzelnen Diagnosen in %)

Färbemuster:

- 0= Ber-EP4 neg, 1= zytoplasmamembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4,
- 2= zytoplasmamembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4,
- 3= zytoplasmamembranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4,
- 4= zytoplasmamembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4,
- 5= zytoplasmamembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4,
- 6= zytoplasmatisch und zytoplasmamembranständig basal positiv für Ber-EP4)

⁸ Basaliom, altes Wort für Basalzellkarzinom. Beide Begriffe werden in der Arbeit als Synonym verwendet.

3.2.1 Keratozystischer odontogener Tumor (KZOT)

Von 128 keratozystischen odontogenen Tumoren waren 11 % (14 Fälle) negativ für Ber-EP4. Insgesamt 89% (114) der KZOTs waren positiv für Ber-EP4, wobei sich das Färbemuster wie folgt unterschied: 35% (46) der Tumoren zeigten eine schwache basale und teilweise parabasale Färbung mit Ber-EP4, 42% (54) der Tumoren eine mittelstarke basale und teilweise parabasale Färbung mit Ber-EP4 und 9,4% (12) der Tumore eine starke basale und parabasale Färbung mit Ber-EP4. 1,6% (2) der keratozystischen odontogenen Tumoren wiesen eine superfizielle Färbung mit dem Antikörper Ber-EP4 auf.

Die unterschiedlichen Färbemuster zeigten außerdem eine große Differenz in der Menge der gefärbten Epithelzellen bezogen auf das gesamte Epithel, was in folgendem Diagramm dargestellt ist.

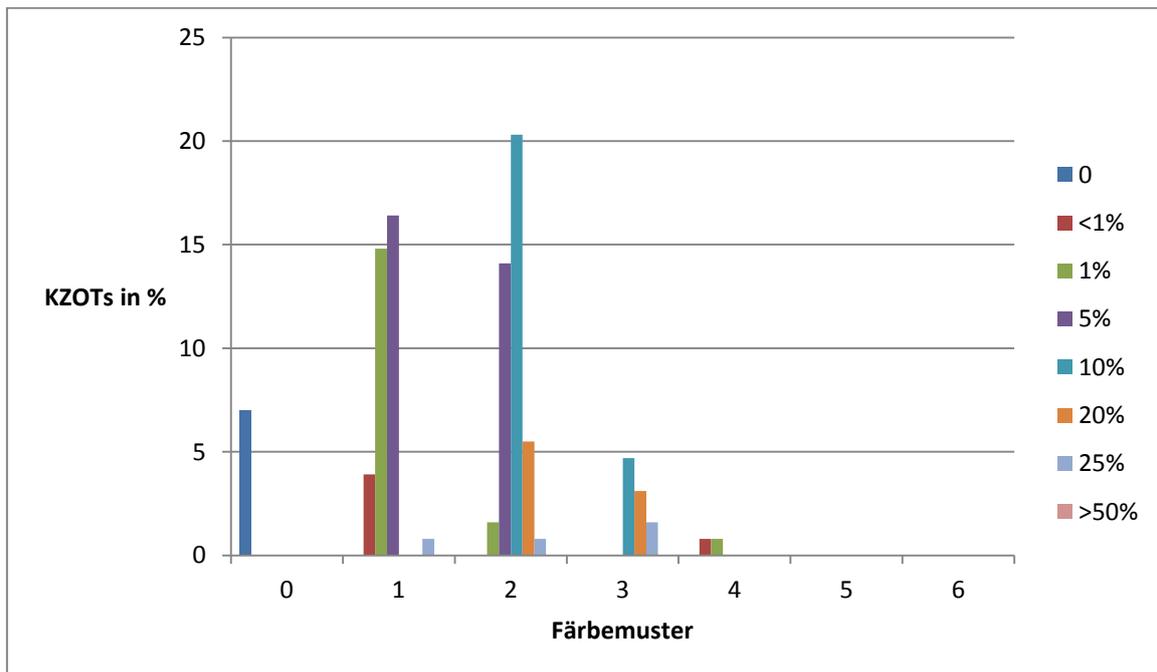


Abbildung 17: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der keratozystischen odontogenen Tumoren

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklassen, y- Achse: Anzahl der KZOTs in %)

Färbemuster:

0= Ber-EP4 neg, 1= zytoplasmamembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4,
2= zytoplasmamembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4,
3=zytoplasmamebranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4,
4= zytoplasmamembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4,
5= zytoplasmamembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4, 6= zytoplasmatisch und
zytoplasmamembranständig basal positiv für Ber-EP4)

Bei 35% (46 Fälle der 128 KZOT) der keratozystischen odontogenen Tumoren, welche eine **schwache basale und parabasale Färbung** mit Ber-EP4 aufwiesen, zeigten 3,9% (5 Tumoren) eine Anzahl gefärbter Epithelzellen unter 1% bezogen auf das gesamte Epithel, 14,8% (19) der KZOTs eine Anzahl gefärbter Epithelzellen von ungefähr 1%, 16,4% (21) eine Anzahl von 5% und 0,8% (1) der keratozystischen odontogenen Tumoren eine Färbung von 25% der Epithelzellen.

Die 42% (54 Fälle der 128 KZOT) der KZOTs mit einer **mittelstarken positiven basalen und parabasalen Färbung** für Ber-EP4 zeigten eine schon in der Übersichtsvergrößerung zu erkennende Färbung der Epithelzellen, wobei 14,1% (18) der KZOTs eine Färbung von 5% der Epithelzellen, 20,3% (26) der Tumoren eine Färbung von 10% und 5,5% (7) der keratozystischen odontogenen Tumoren eine Färbung von 20% der Epithelzellen aufwiesen. In 1,6% (2) der KZOTs stellte sich die Färbung nur in 1% der Epithelzellen und in 0,8% (1) der KZOTs in 25% der Epithelzellen dar.

In insgesamt 9,4 % (12 von 128 KZOTs) der keratozystischen odontogenen Tumoren konnte eine **starke positive Färbung** für den Antikörper Ber-EP4 in **basalen und suprabasalen Zellschichten** nachgewiesen werden. 4,7% (6) davon wiesen eine Färbung in 10% der Epithelzellen nach; 3,1% (4) der KZOTs in 20% der Epithelzellen und 1,6% (2) der Tumoren in 25% der Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel.

In 1,6% (2 Fälle von 128) der keratozystischen odontogenen Tumoren mit einer **superfiziellen, schwachen Färbung** für Ber-EP4 wurde der Antikörper auch je

nur in 0,8% (1) der Fälle in 1% der Epithelzellen und in weiteren 0,8% (1) in weniger als 1% der Epithelzellen nachgewiesen.

3.2.2 Keratozystische odontogene Tumoren bei Gorlin-Goltz Syndrom

15 Patienten mit keratozystischen odontogenen Tumoren waren am Gorlin-Goltz-Syndrom erkrankt. In 93% (14 von 15 Fällen) ließ sich der Antikörper Ber-EP4 nachweisen. Die Verteilung der Färbemuster war wie folgt:

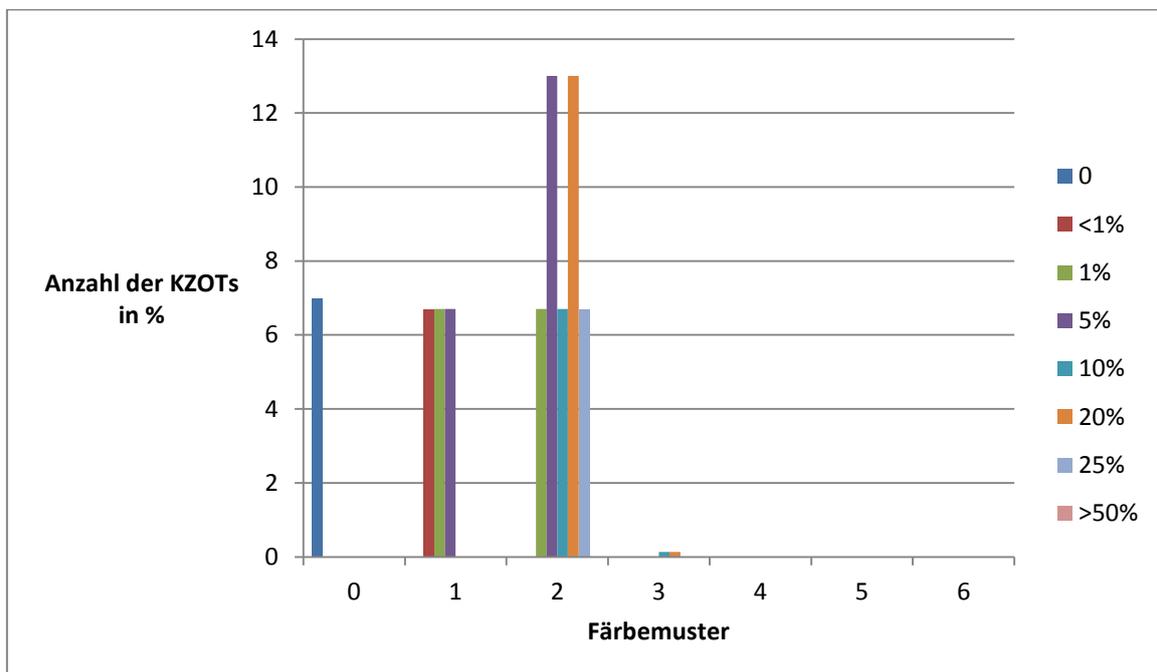


Abbildung 18: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der keratozystischen odontogenen Tumoren bei Gorlin-Goltz Syndrom

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklassen, y- Achse: Anzahl der KZOTs in %

Färbemuster:

0= Ber-EP4 neg, 1= zytoplasmamembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4,
2= zytoplasmamembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4,
3=zytoplasmamebranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4,
4= zytoplasmamembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4,
5= zytoplasmamembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4, 6= zytoplasmatisch und zytoplasmamembranständig basal positiv für Ber-EP4)

Alle 14 keratozystischen odontogenen Tumoren zeigten eine basale/parabasale Färbung für Ber-EP4, die in 20% (3 von 15 Fällen) schwach, in 47% (7) mittelstark und in 27% (4) stark ausfiel. Die **schwache basale und parabasale Färbung** für Ber-EP4 betraf in jeweils 6,7% (1) der Fälle weniger als 1% der Epithelzellen, in 6,7% (1) der Fälle ungefähr 1% der Epithelzellen und in weiteren 6,7% (1) der Fälle 5% der Epithelzellen bezogen auf das gesamte Zystenepithel. Die **mittelstarke basale und parabasale Färbung** für Ber-EP4 wurde in 6,7% (1) in 1% der Epithelzellen, in 6,7% (1) in 10% und in 6,7% (1) in 25% der Epithelzellen nachgewiesen. In jeweils 13% (2) betraf die basale und parabasale mittelstarke Färbung für Ber-EP4 5% der Epithelzellen und 20% der Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel. Die 27 % der KZOTs bei Gorlin Goltz, die eine **starke basalen/parabasalen Färbung** aufwiesen, fielen in je 13% (jeweils 2 Fälle) auf ungefähr 10% und 20% der Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel.

3.2.3 Vergleich von keratozystischen odontogenen Tumoren mit Entzündung und ohne Entzündung

Insgesamt 20% (25 der 128 Fälle) der keratozystischen odontogenen Tumore wiesen Entzündungszeichen auf. In 92% (23 von 25) konnte im Bereich der Entzündung bei den KZOTs der Antikörper Ber-EP4 nicht nachgewiesen werden. Die anderen 8% wiesen eine **mittelstarke Positivität** für Ber-EP4 in basalen und parabasalen Epithelschichten auf.

80% (103 von 128) nicht oder nur minimal entzündlich infiltrierte keratozystische odontogene Tumoren konnten ausgewertet werden. In 7,8% (10 Fälle der 128) zeigte sich keine Ber-EP4 Färbung. 92 KZOTs wiesen eine **basale/parabasale Färbung** für Ber-EP4 auf; in einem Fall färbte der Antikörper die superfiziellen Epithelschichten schwach. Die Ber-EP4-Färbung konnten in den basalen und parabasalen Epithelschichten in 30% (39) der KZOTs schwach, in 34%(43) der Tumoren mittelstark und in 8,5% (11) der Fälle stark nachgewiesen werden.

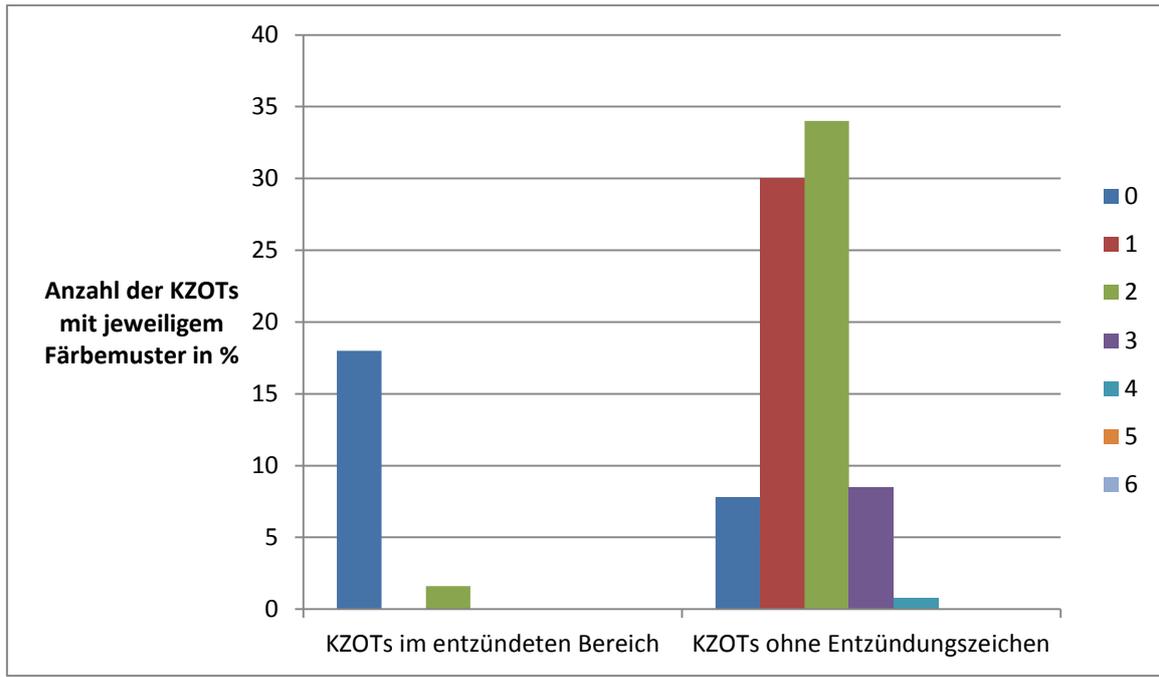


Abbildung 19: Vergleich des Färbemusters von entzündlich alterierten keratozystischen odontogenen Tumoren und KZOTs ohne Entzündungszeichen

(X-Achse Farbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklassen, y- Achse: Anzahl der KZOTs in %)

Färbemuster:

0= Ber-EP4 neg, 1= Zytoplasmamembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4,
 2= Zytoplasmamembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4,
 3= Zytoplasmamebranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4,
 4= Zytoplasmamembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4,
 5= Zytoplasmamembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4, 6= Zytoplasmatisch und
 Zytoplasmamembranständig basal positiv für Ber-EP4)

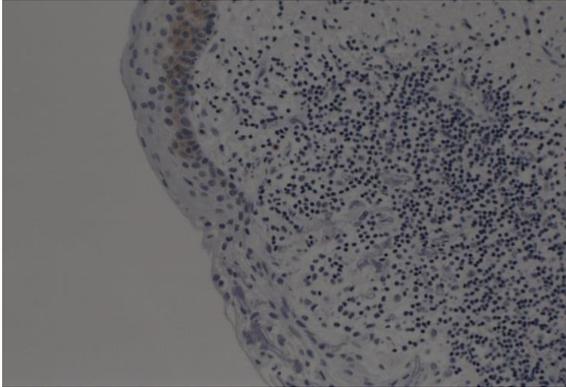


Abbildung 20: KZOT Ber- EP4-Färbung: Fokale Entzündung ohne Ber-EP4-Nachweis, 40-fache Vergrößerung

3.2.4 Die folliculäre Zyste

147 folliculäre Zysten wurden mit dem Antikörper gefärbt. 70% (103) der folliculären Zysten waren negativ für Ber-EP4. Von den restlichen 30% (44) der folliculären Zysten, die sich mit Ber-EP4 anfärbten waren 0,7% (1) **schwach parabasal und basal** angefärbt und in 0,7% (1) der folliculäre Zysten konnte man den Antikörper **mittelstark basal und parabasal** nachweisen. 28% (42) der folliculären Zysten wiesen eine Antikörperpositivität in den **superfiziellen** Epithelschichten nach, wobei die Färbung bei 23% (35) der folliculären Zysten schwach und bei 4,7% (7) der folliculären Zysten stark ausfiel.

Auch bei den folliculären Zysten war die Anzahl der positiv gefärbten Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel unterschiedlich.

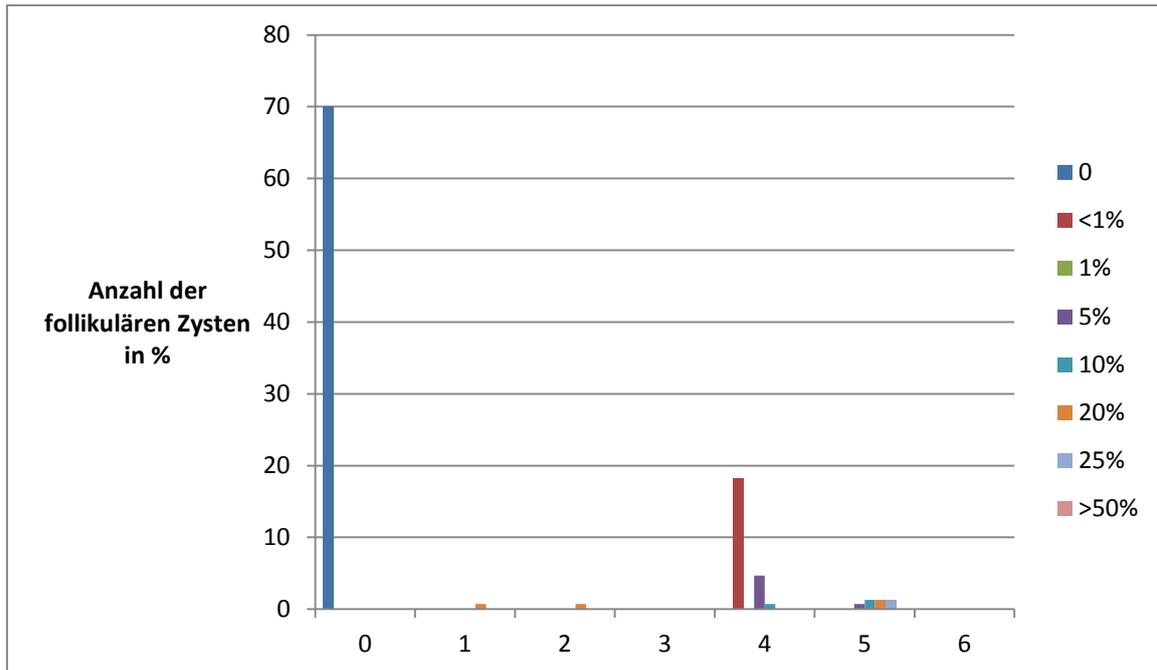


Abbildung 21: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der folliculären Zysten

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklassen, Y Achse: Anzahl der Follikuläre Zysten in %

Färbemuster:

0= Ber-EP4 neg, 1= zytoplasmamembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4, 2= zytoplasmamembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4, 3=zytoplasmamebranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4, 4= zytoplasmamembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4, 5= zytoplasmamembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4, 6= zytoplasmatisch und zytoplasmamembranständig basal positiv für Ber-EP4)

18,3 % (27) der folliculären Zysten mit einer **schwachen superfiziellen Färbung** wiesen in weniger als 1% aller Epithelzellen eine Färbung für Ber-EP4 auf. In 4,7% der folliculären Zysten war die **schwache superfizielle Färbung** in 5% der Epithelzellen nachweisbar und 0,7% der folliculären Zyste in 10% der Epithelzellen bezogen auf das gesamte Zystenepithel.

Insgesamt 4,7% (7) der folliculären Zysten waren **superfizielle stark positiv** für Ber-EP4. In jeweils 1,3% (jeweils 2 Fälle) der folliculären Zysten lag die Anzahl

der positiven Epithelzellen bei 10%, 20% und 25%, in 0,7% (1) der Fälle konnte eine Ber-EP4 Positivität in 5% der Epithelzellen nachgewiesen werden.

In 0,7% (1 folliculäre Zyste) waren 20% der basalen und parabasalen Epithelzellen **mittelstark positiv** für Ber-EP4 und in weiteren 0,7% (1) waren 20% der basalen und parabasalen Epithelzellen **stark positiv** für den Antikörper ber-EP4.

3.2.5 Die radikuläre Zyste

99% (114 von 115 Fällen) der radikulären Zysten waren Ber-EP4 negativ. Eine radikuläre Zyste zeigte in 5% der superfiziellen Epithelzellen einen schwachen Nachweis für Ber-EP4.

3.2.6 Das Ameloblastom

In 69% (20 der 29) der Ameloblastome konnte keine Bindung des Ber-EP4 Antikörpers nachgewiesen werden. 20,6% (6 Fälle) der Ameloblastome waren schwach positiv für Ber-EP4 in ihren basalen/parabasalen Zellschichten, 10,4% (3) der Ameloblastome mittelstark.

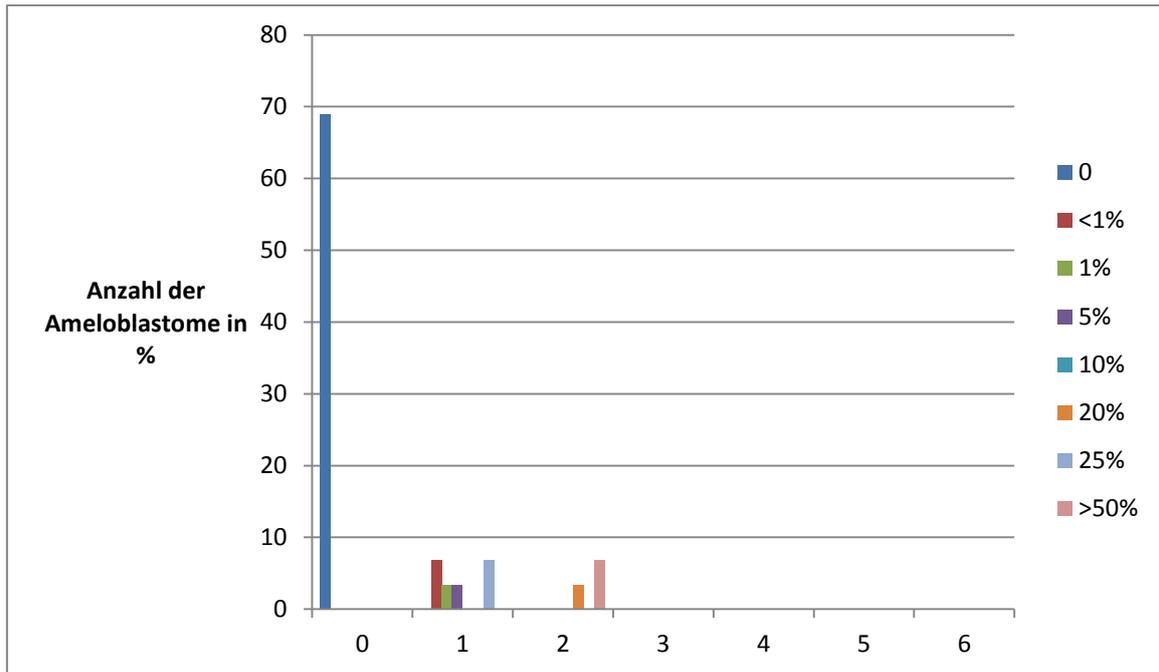


Abbildung 22: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der Ameloblastome

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklasse, Y- Achse Anzahl Ameloblastome in %)

Färbemuster:

0= Ber-EP4 neg, 1= zytoplasmamembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4, 2= zytoplasmamembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4, 3=zytoplasmamebranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4, 4= zytoplasmamembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4, 5= zytoplasmamembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4, 6= zytoplasmatisch und zytoplasmamembranständig basal positiv für Ber-EP4)

Die Anzahl der gefärbten Epithelzellen variierte bei den 6 Ameloblastomen von <1% bis 25% mit **schwacher basaler/parabasaler Färbung** der Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel. Die 3 Ameloblastome mit **mittelstarker basaler/parabasaler Ausprägung** der Ber-EP4 Färbung zeigten in 3,4% (1 Fall) der Ameloblastome eine Positivität in 20% der Epithelzellen und in 6,9% (2 Fälle) eine Positivität, die mehr als die Hälfte des Epithels betraf.

3.2.7 Das Basaliom

100% (44 von 44) der Basaliome waren zytoplasmatisch und zytoplasmamembranständig positiv für Ber-EP4. In 84% (37 Fälle) färbte sich das Epithel zu 100% positiv, in 7 % (3 Fälle) waren 75 % der Epithelzellen und in 9% (4) der Basaliome ungefähr 50% der Epithelzellen positiv für den Antikörper Ber-EP4.

3.2.8 Unklare Fälle

Zu den unklaren Fällen zählen alle Zysten und Tumoren, die trotz Nachbegutachtung in der HE-Färbung nicht zu einer Zystenart zuzuordnen waren. 73,9% (17 der 23) der unklar verbliebenen Zysten waren negativ für Ber-EP4. 4,3% (1) der Zysten waren basal und parabasal schwach positiv für Ber-EP4, 8,7% (2) der Zysten waren basal und parabasal in einer mittleren Intensitätsstärke positiv, weitere 8,7% (2 Fälle) der Zysten waren superfiziell schwach positiv für Ber-EP4 und 4,3% (1) der Zysten waren superfiziell stark positiv für den Antikörper Ber-EP4.

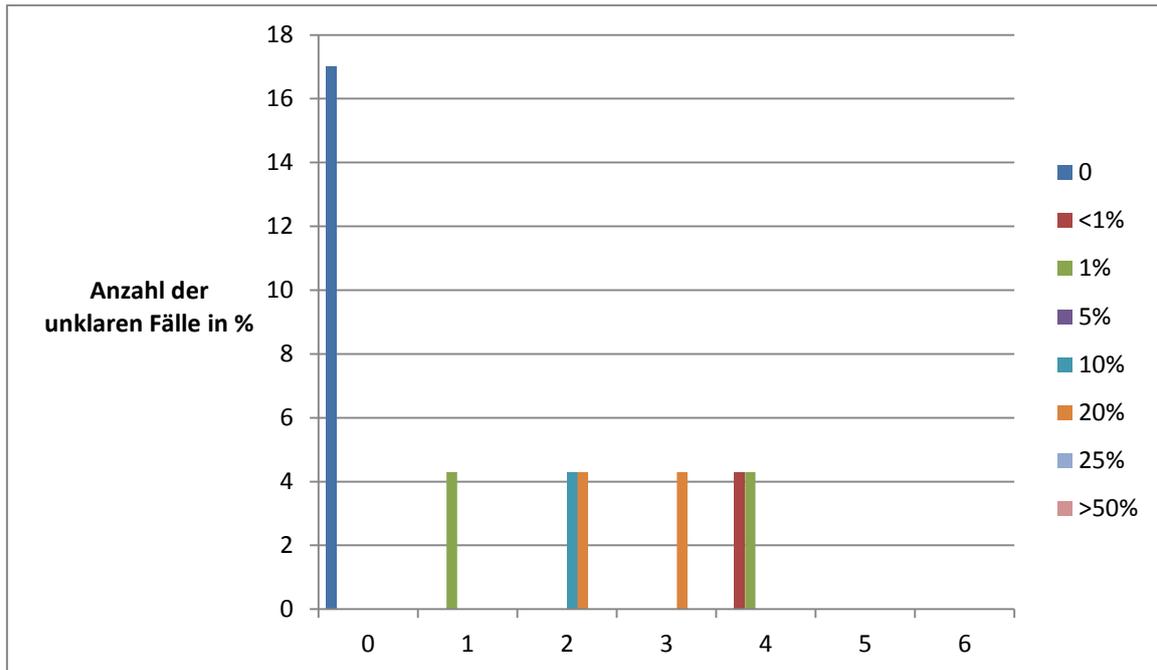


Abbildung 23: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der unklaren Fälle

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklasse, Y- Achse Anzahl der unklare Fälle in %)

Färbemuster:

0= Ber-EP4 neg, 1= zytosolmembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4,
2= zytosolmembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4,
3=zytosolmembranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4,
4= zytosolmembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4,
5= zytosolmembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4, 6= zytoplasmatisch und
zytosolmembranständig basal positiv für Ber-EP4)

Die schwache **basale und parabasale Färbung** zeigte sich in 1% der Zystenepithelzellen. Eine **mittelstarke basale und parabasale Färbemuster** betraf jeweils 10% und 20% der Epithelzellen und eine **starke Färbung** mit Ber-EP4 wurde in 4,3 % (1 Fall) der unklaren Zysten in 20% des basalen und parabasalen Epithels nachgewiesen. In insgesamt 6,7% (2 Fälle) wurde die Färbung im **superfiziellen** Zystenepithel festgestellt, wobei jeweils weniger als 1% des Epithels und 5% des Epithels betroffen waren.

3.3 Die KRT 6B-Färbung

Es konnten 128 keratozystische odontogene Tumoren, 106 radikuläre Zysten, 143 folliculäre Zysten, 29 Ameloblastome und 44 Basaliome ausgewertet werden. Eine Färbung des Zystenepithels mit dem Antikörper KRT 6B konnte bei allen Zystentypen nachgewiesen werden. Sowohl bei keratozystischen odontogenen Tumoren, folliculären Zysten und radikulären Zysten wurde der Antikörper in 100% der Epithelzellen exprimiert. Auch bei Basaliomen und Ameloblastomen erfolgte ein Antikörpernachweis von 100%.

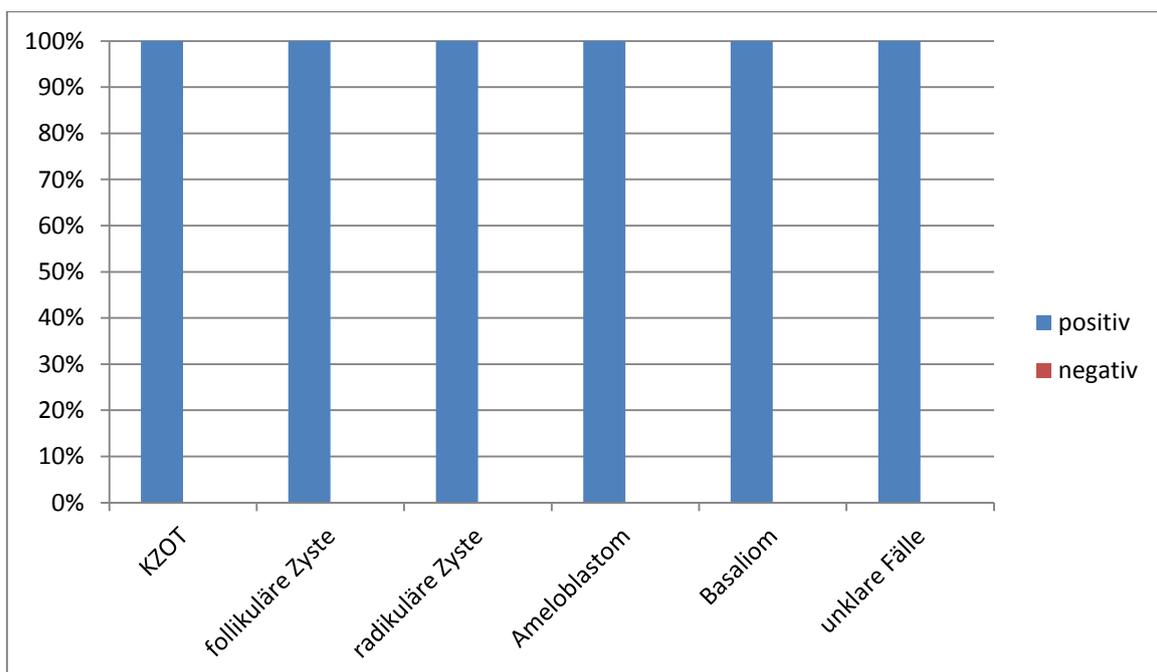


Abbildung 24: KRT 6B-Färbung aller Zysten, der Ameloblastome und der Basaliome

(X-Achse Zystentyp, Y-Achse in %)

Bei der Färbung mit dem Antikörper KRT 6B kann man 6 verschiedene Färbemuster unterscheiden.

- 0= KRT 6B negativ
- 1= positiv für KRT 6B in gleichmäßiger Intensität des gesamten Epithels
- 2= positiv für KRT 6B aber basal in schwächerer Intensität bezogen auf Gesamtfärbung
- 3= positiv für KRT 6B aber inhomogen in der Ausprägung, fleckig

- 4= KRT 6B basal in höherer Intensität als restliches Epithel
- 5= Basaliom/Ameloblastom gleichmäßige Intensität, komplettes Epithel aber insgesamt schwächer als bei Zysten, in ausgereiften Epithelarealen intensiver

KRT 6B- Färbung aller Zysten:

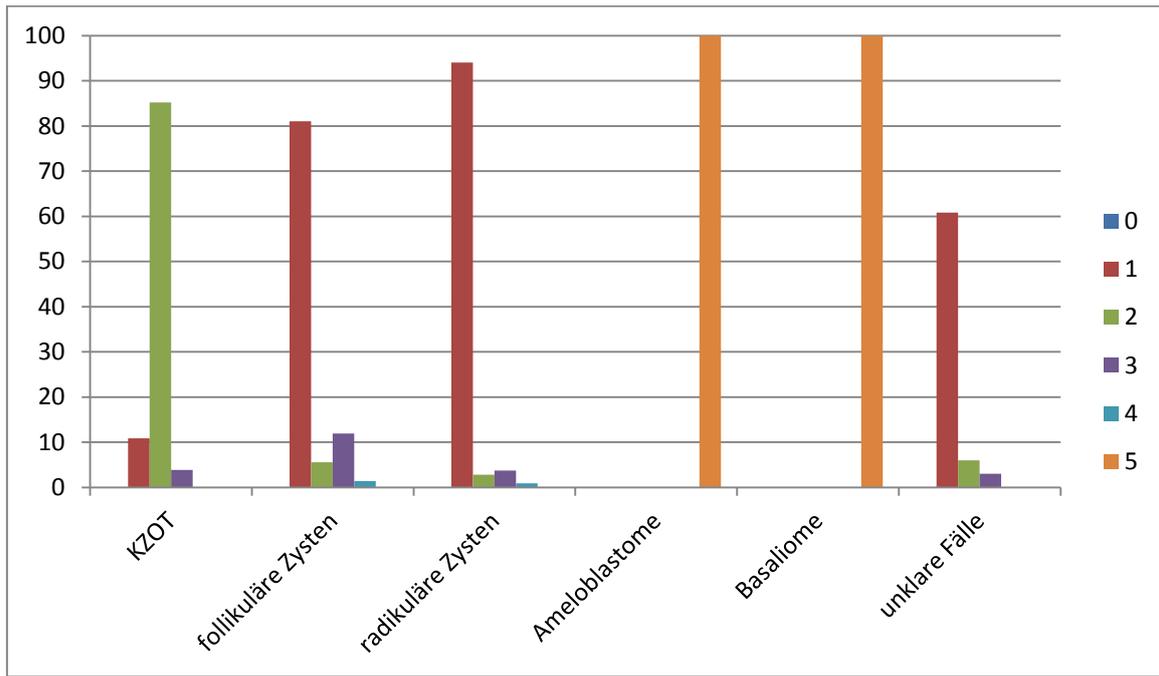


Abbildung 25: Färbemuster der KRT 6B-Färbung aller Zysten

(X-Achse Zystenart, Y-Achse in %)

Färbemuster:

0= KRT 6B neg, 1= positiv für KRT 6B in gleichmäßiger Intensität des gesamten Epithels, 2= positiv für KRT 6B aber basal in schwächere Intensität bezogen auf Gesamtfärbung, 3= positiv für KRT 6B aber inhomogen in der Ausprägung, 4= KRT 6B basal in höherer Intensität als restliches Epithel, 5= Basaliom/Ameloblastom gleichmäßige Intensität, komplettes Epithel, aber insgesamt schwächer als bei Zysten in ausgereiften Epithel Arealen intensiver)

3.3.1 Der keratozystische odontogene Tumor

128 keratozystischen odontogene Tumoren konnte mit dem KRT 6B Antikörper gefärbt werden und waren auswertbar. Der Antikörper konnte in allen keratozystischen odontogenen Tumoren in 100% der Epithelzellen nachgewiesen werden. In 85,2% (109 von 128) der Tumoren war die Basalzellschicht schwächer gefärbt als das restliche Epithel. In 10,9% (14) der Fälle war die Intensität der Färbung über das gesamte Epithel gleichmäßig und in 3,9% (5) der Fälle inhomogen.

3.3.2 Die follikuläre Zyste

Eine Färbung mit dem Antikörper KRT 6B konnte in 100% der Epithelzellen bei 100% (143) der follikulären Zysten nachgewiesen werden. In 81% (116) der Fälle war die Intensität der Färbung im gesamten Epithel gleichmäßig. In 5,6% (8) der follikulären Zysten war die Basalzellschicht schwächer angefärbt als das restliche Zystenepithel, wohingegen in 1,4% (2) der follikulären Zysten die Basalzellschicht stärker angefärbt war. In 11,9% (17) war die Ausprägung der Färbung bezogen auf die Intensität inhomogen.

3.3.3 Die radikuläre Zyste

Es konnten 106 radikuläre Zysten ausgewertet werden. Das Epithel aller radikulären Zysten war zu 100% mit dem Antikörper KRT 6B gefärbt. Bei 94% (99) der radikulären Zysten war die Farbeintensität über das Gesamtepithel betrachtet gleichmäßig. 2,8% (3) der radikuläre Zysten wiesen eine schwächere Intensität in der Basalzellschicht auf, 0,9% der radikulären Zysten zeigte eine intensivere Ausprägung der Färbung in der Basalzellschicht bezogen auf das restliche Epithel. In 4 Fällen war die Intensität der Färbung inhomogen.

3.3.4 Das Ameloblastom

In allen 29 Ameloblastomen war der Antikörper KRT 6B zu 100% nachweisbar. Die Färbung hatte eine gleichmäßige Intensität und entsprach der Stärke der abgeschwächten Basalzellschicht des keratozystischen odontogenen Tumors.

3.3.5 Das Basaliom

Alle 44 Basaliome waren zu 100% mit dem Antikörper KRT 6B gefärbt. Die Färbung war gleichmäßig und entsprach in ihrer Intensität der Stärke der abgeschwächten Basalzellschicht des keratozystischen odontogenen Tumors.

3.3.6 Unklare Fälle

Alle 23 Fälle, die in ihrer Diagnose nach der HE-Begutachtung unklar blieben, wiesen in 100% der Epithelzellen eine Färbung mit dem Antikörper KRT 6B auf. Die Ausprägung der Intensität war in 60,8% der Fälle (14 von 23) gleichmäßig ohne Abschwächung bestimmter Schichten, in 13% (3 Fälle) war die Intensität der Basalzellschicht höher als im restlichen Epithel und in 26% (6 Fällen) niedriger.

3.4 Die Zytokeratin-17-Färbung

Die Färbung mit dem Antikörper Zytokeratin-17 erfolgte in 128 keratozystischen odontogenen Tumoren, 137 folliculären Zysten, 97 radikulären Zysten, 44 Basaliomen, 29 Ameloblastomen und in 21 unklaren Fällen.

100% der KZOTs und 100% der Basaliome waren positiv für den Antikörper Zytokeratin-17. 86,1% (118) der folliculären Zysten waren positiv für CK17 und 13,9% (19) negativ. Bei den radikulären Zysten konnte in 80,5% (78) der Antikörper nachgewiesen werden, in 19,5% (19) der Fälle fiel der Nachweis negativ aus. 82,8% (24) der Ameloblastome waren positiv für CK17 und

17,2%(5) negativ. Die unklaren Fälle wiesen in 95,3% (20) eine Antikörperbindung auf, in 4,7% (1) konnte kein Nachweis erfolgen.

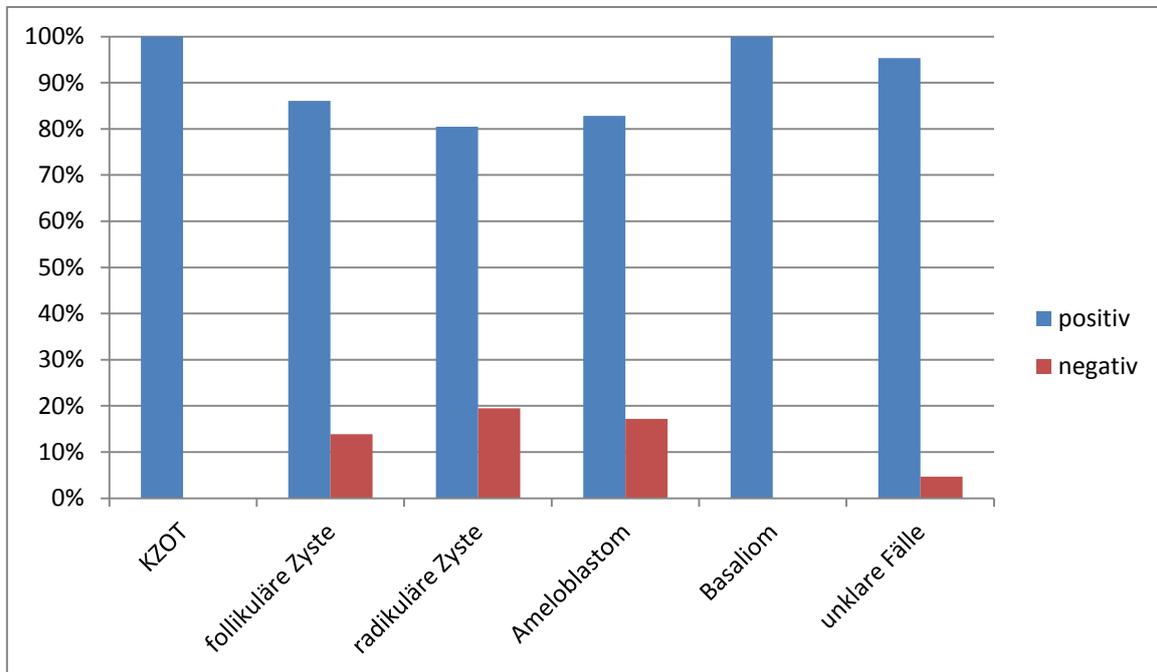


Abbildung 26: Zytokeratin-17-Färbung aller Zysten, des Ameloblastoms und des Basalioms

(X-Achse Zystenart, Y-Achse in %)

Bei diesem Antikörpernachweis kann man diese 7 Färbemuster unterscheiden:

- 0= CK17 negativ
- 1 = CK17 positiv, superfiziell
- 2 = CK17 positiv, superfiziell und mittig
- 3 = CK17 positiv, basal
- 4 = CK17 positiv, diffus oder partiell in allen Schichten
- 5 = CK17 positiv, alle Epithelschichten
- 6 = CK17 positiv, alle Epithelschichten, teilweise abgeschwächte Intensität
- 7= CK 17 positiv, superfiziell und basal

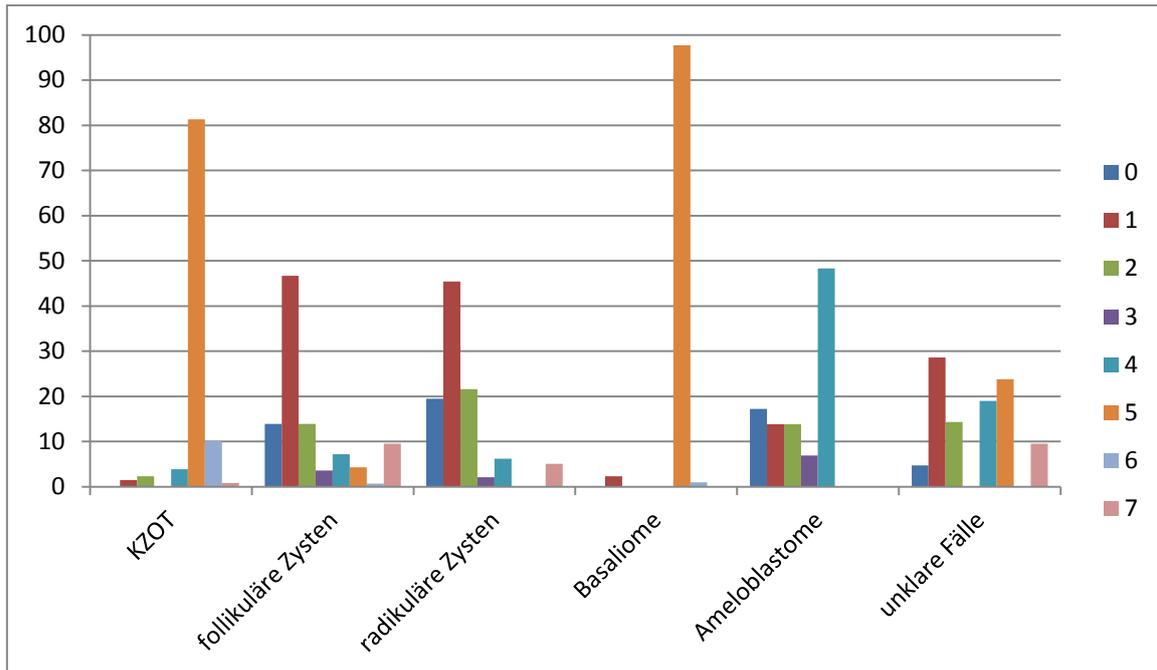


Abbildung 27: Färbemusterverteilung der Zytokeratin-17-Färbung

(X-Achse Zystentyp, Y Achse in %)

Färbemuster:

0= neg für CK17, 1= superfiziell pos für CK17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK17, 3= basal pos für CK17, 4= positiv für CK17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5=CK17 pos im gesamten Epithel, 6= CK17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt)

3.4.1 Der keratozystische odontogene Tumor

128 keratozystische odontogene Tumoren konnten ausgewertet werden. Alle 128 KZOTs waren positiv für Zytokeratin-17, wobei insgesamt 91,4% (117) der Tumoren eine Färbung des kompletten Epithels zeigten. In 1,5% (2) der Fälle war die Färbung nur superfiziell nachzuweisen, in 2,3% (3) der Fälle superfiziell und in mittleren Epithelschichten und in 0,78% (1 Fall) kombiniert basal und superfiziell. 3,9% (5) der keratozystischen odontogenen Tumoren waren diffus alle Epithelschichten betreffend mit Zytokeratin-17 gefärbt.

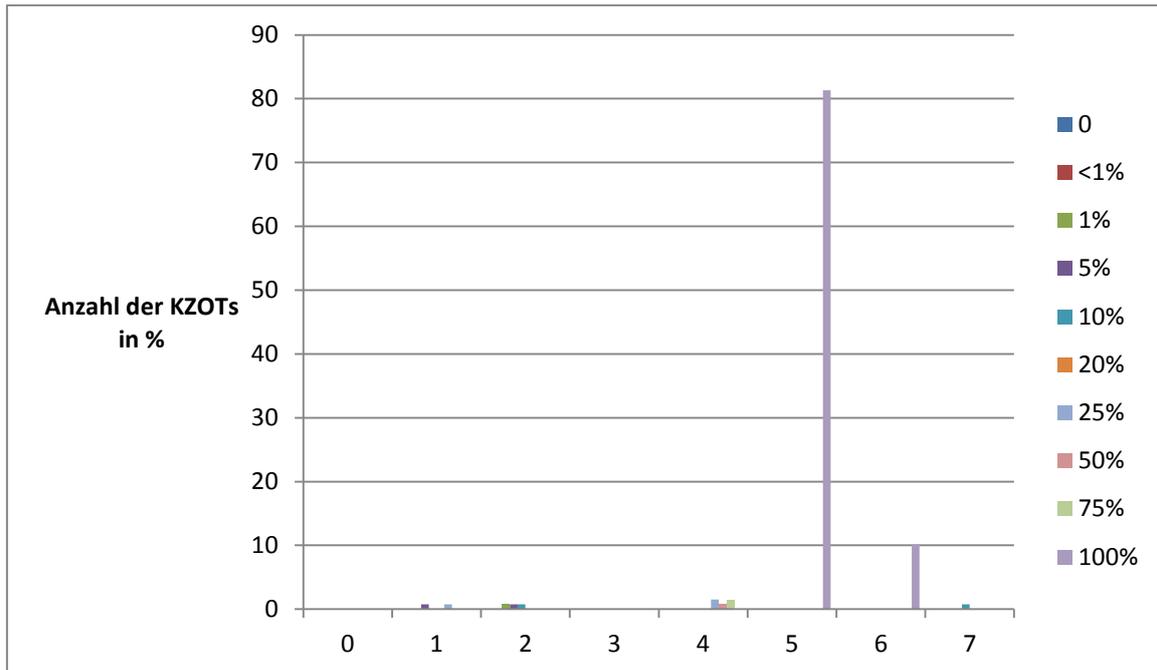


Abbildung 28: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der keratozystischen odontogenen Tumoren

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklassen, Y Achse Anzahl der KZOTs in %)

Färbemuster:

0= neg für CK17, 1= superfiziell pos für CK17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK17, 3= basal pos für CK17, 4= positiv für CK17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK17 pos im gesamten Epithel, 6= CK17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt, 7= superfiziell und basal pos)

Das Epithel von 81,3% (104) der keratozystischen odontogenen Tumoren war zu 100% und mit gleichmäßiger Intensität mit Zytokeratin-17 gefärbt. In 10,1% (13) der Fälle betraf die Färbung ebenfalls 100% der Epithelzellen, war in ihrer Intensität in manchen Epithelschichten jedoch abgeschwächt. Bei der **superfiziellen Färbung** der keratozystischen odontogenen Tumoren konnte jeweils in 0,78% (je ein Fall) ein Färbeergebnis von 5% und von 25% der Epithelzellen festgestellt werden. Die Färbung in **superfiziellen und mittleren Zellschichten** entfiel auf insgesamt 2,3% (3) der Fälle mit jeweils einem Anteil von 1%, 5% und 10% der Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel. Die

kombiniert superfizielle und basale Färbung konnte in 0,78% (1) der Fälle in 10% der Epithelzellen nachgewiesen werden. Jeweils 1,5% (2 Fälle) der keratozystischen odontogene Tumoren mit einer **diffusen, alle Epithelschichten betreffenden Färbung** wiesen diese in 25% und 75% der Epithelschichten auf, in 0,78% (1) betraf die Färbung circa die Hälfte des Gesamtepithels.

3.4.2 Die follikuläre Zyste

Insgesamt konnten 137 follikuläre Zysten ausgewertet werden. 13,9% (19) der follikulären Zysten sind negativ für den Antikörper Zytokeratin-17. Die anderen 86% (118) der follikulären Zysten wiesen den Antikörper in unterschiedlicher Dichte und Lokalisation nach. In 46,7% (64) der Fälle war der Antikörper in der superfiziellen Epithelschicht nachzuweisen, in 13,9% (19 Fälle) der follikulären Zysten in der superfiziellen und in der mittleren Epithelschicht und in 3,6% (5) eher basal. 9,5% (13) der follikulären Zysten wiesen eine kombiniert basal- und superfizielle Färbung auf. Die diffuse Färbungen durch teilweise alle Epithelschichten hindurch trat in 7,3% (10) der follikulären Zysten auf. In 5% (7) der follikulären Zysten war das ganze Epithel positiv angefärbt, wobei in einem Fall die Basalzellschicht eine etwas schwächere Intensität zeigte.

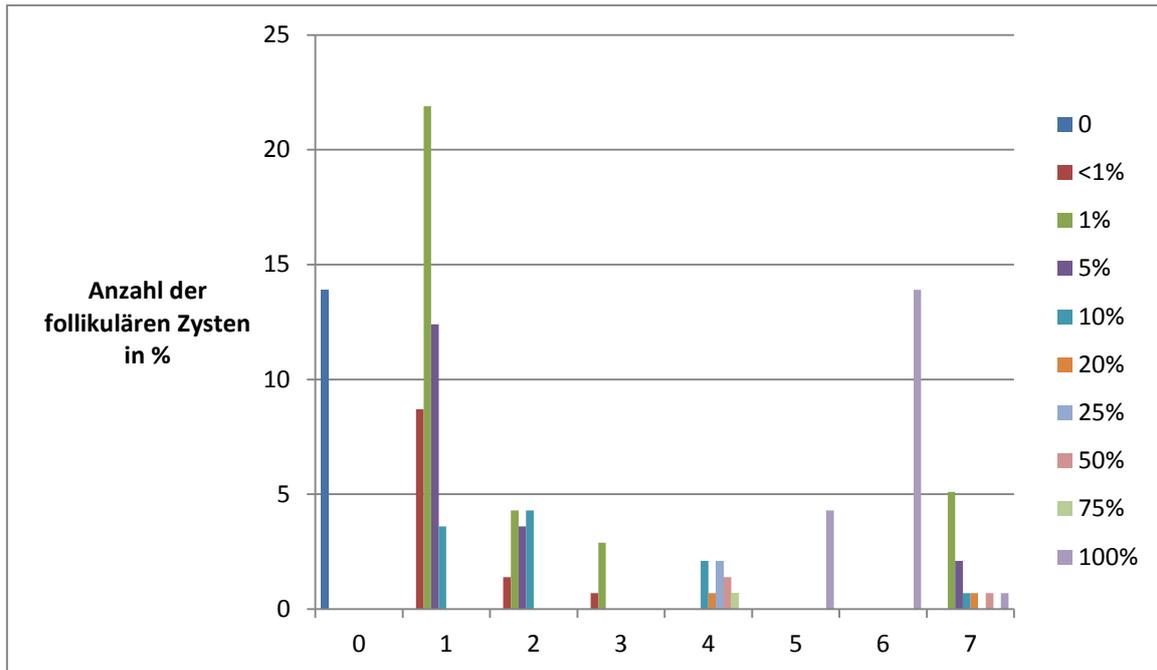


Abbildung 29: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der folliculären Zysten

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklasse, Y Achse Anzahl der folliculären Zysten in %)

Färbemuster:

0= neg für CK17, 1= superfiziell pos für CK17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK 17, 3= basal pos für CK17, 4= positiv für CK 17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK17 pos im gesamten Epithel, 6= CK17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt, 7= pos superfiziell und basal)

Die Zytokeratin-17-Färbung variierte nicht nur in ihrer Lokalisation im Zystenepithel, sondern auch in ihrem Anteil der gefärbten Epithelzellen bezogen auf das gesamte Epithel. Betrachtet man die superfizielle Färbung der folliculären Zysten, entfallen 8,7% (12) der Fälle auf einen gefärbten Epithelanteil von <1%, 21,9% (30) der Fälle auf einen gefärbten Anteil von 1%, 12,4% (17) der Fälle auf eine Färbung von 5% der Epithelzellen und 3,6% (5) der Fälle auf einen gefärbten Anteil von 10%. Von den 13,9% (19) der folliculären Zysten mit einer Färbung in superfiziellen und mittleren Epithelschichten konnte in 1,4% (2) der Zysten eine Färbung von weniger als

1%, in 4,3% (6) der Zysten eine Färbung von 1%, in 3,6% (5) der Zysten eine Färbung von 5% und in weiteren 4,3% (6) der Zysten eine Färbung von 10% der Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel nachgewiesen werden.

Die basale Epithelfärbung mit Zytokeratin-17 betraf in 0,7% (1 Fall) weniger als 1% und in 2,9% (4) der Fälle 1%. Jeweils 2,1% (3) der follikuläre Zysten mit einer diffus über das Epithel reichenden Färbung zeigten eine Färbung in 10% der Epithelzellen und in 25% der Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel, jeweils 0,7% (1) der follikulären Zysten waren zu 20% und zu 75% gefärbt und etwa die Hälfte des Epithels war bei 1,4% (2) der Fälle diffus mit Zytokeratin-17 gefärbt. Bei 5,1% (7) der follikulären Zysten war der Nachweis von Zytokeratin-17 in 100% der Epithelzellen zu finden, wobei 0,7% (1 Fall) eine Abschwächung in der Basalzellschicht aufwies. Eine kombiniert superfizielle und basale Färbung war in 5,1% (7) der Fälle mit einem Epithelzellanteil von 1%, in 2,1% (3 Fällen) von 5% und jeweils in 0,7% (1 Fall) von 10%, 20% und 50% zu finden.

3.4.3 Die radikuläre Zyste

Von 97 untersuchten radikulären Zysten waren 19,5% (19) negativ für den Antikörper Zytokeratin-17 und 80,4% (78) positiv. Das Expressionsmuster unterschied sich in den verschiedenen Epithelschichten, wobei 45,4% (44) der radikulären Zysten nur superfiziell mit Zytokeratin-17 angefärbt waren, 21,6% (21) der radikulären Zysten superfiziell und in mittleren Epithelschichten, 2,1% (2) rein basal und 5,1% (5) basal und superfiziell. In 6,2% (6) der radikulären Zysten konnte eine diffuse, alle Epithelschichten betreffende Zytokeratin-17-Färbung festgestellt werden.

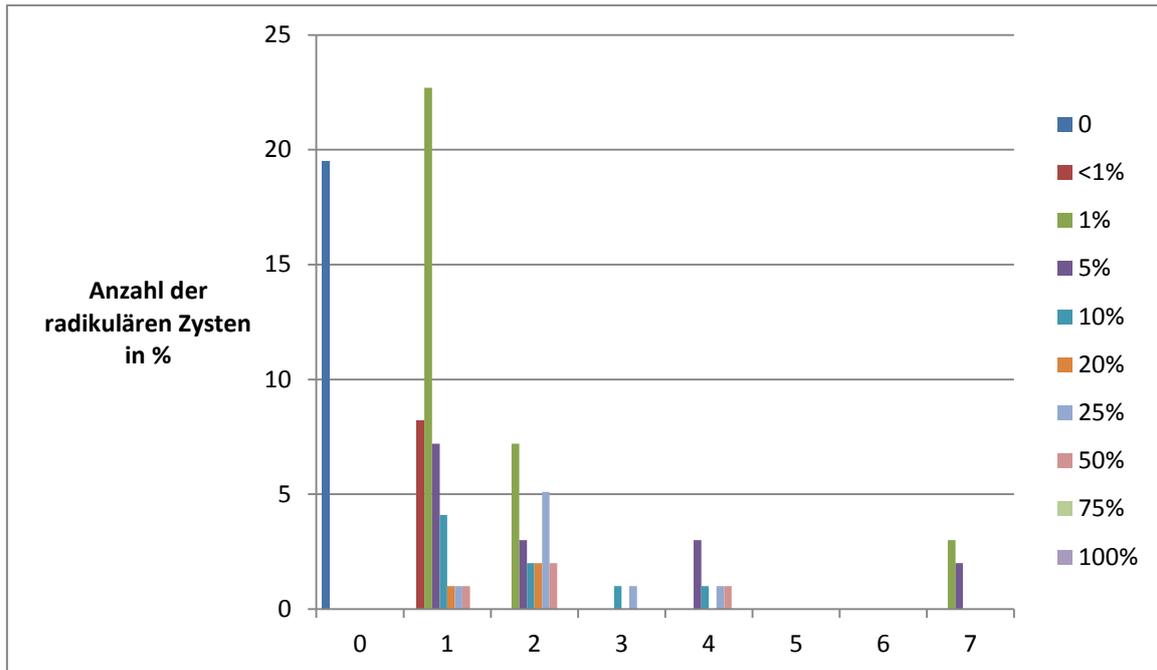


Abbildung 30: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der radikulären Zysten

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklasse, Y Achse Anzahl der radikulären Zysten in %)

Färbemuster:

0= neg für CK17, 1= superfiziell pos für CK17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK17, 3= basal pos für CK17, 4=positiv für CK17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK17 pos im gesamten Epithel, 6= CK17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt, 7= superfiziell und basal pos)

Die verschiedenen Expressionsmuster der radikulären Zysten hinsichtlich des Antikörpers Zytokeratin-17 betraf eine unterschiedliche Anzahl an Epithelzellen bezogen auf das gesamte Zystenepithel. Der Nachweis in den superfiziellen Epithelschichten der radikulären Zyste erfolgte in 22,7% (22) der radikulären Zysten in 1% der Epithelzellen, in 8,3% (8) der radikulären Zysten in weniger als 1%, in 7,2% (7) der Fälle in 5% und in 4,1% (4) der Fälle in 10%. In 3,0% (3) der radikulären Zysten war die superfizielle Färbung mit jeweils 20%, 25% und 50% deutlich positiv. Das Expressionsmuster, das superfizielle und mittlere Epithelschichten betraf, wurde in insgesamt 21,6% (21) der radikulären Zysten

nachgewiesen, wobei in 7,2% (7) der Fälle 1% der Epithelzellen betroffen waren, in 3% (3) der Fälle 5% der Epithelzellen, in 2% (2) der radikulären Zysten 10% der Epithelzellen, in jeweils 2% (2) der radikulären Zysten 20% und 50% der Epithelzellen und in 5,1% (5) der Fälle 25% der Epithelzellen. Jeweils 1% (1 Fall) der Zysten zeigten eine basale Färbung mit Zytokeratin-17, die in 10% und in 25% der Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel nachgewiesen wurde. Eine kombiniert basale und superfizielle Zytokeratin-17-Färbung, wobei der mittlere Epithelbereich keine Färbung aufwies, wurde in 5,1% (5) der Fälle festgestellt, wobei diese in 3% (3) der Fälle auf 1% des Epithels und in 2% (2) der Fälle auf 5% des Epithels entfiel. Eine diffuse Färbung durchweg durch alle Epithelschichten wurde in 3% der Zysten in 5% der Epithelzellen nachgewiesen, in 1% (1 Fall) der Fälle in 10% und in jeweils einem Prozent (eine radikuläre Zyste) in 25% und 50% der Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel.

3.4.4 Das Ameloblastom

17,2% (5) der 29 Ameloblastome wiesen keine Antikörperfärbung mit Zytokeratin-17 auf. 13,8% (4) der Ameloblastome waren superfiziell gefärbt, 13,8% (4) superfiziell und in den mittleren Epithelschichten und 6,8% (2) in der Basalzellschicht. 48,3% (14) der Ameloblastome wiesen eine diffuse oder partielle Positivität für Zytokeratin-17 in allen Epithelschichten auf.

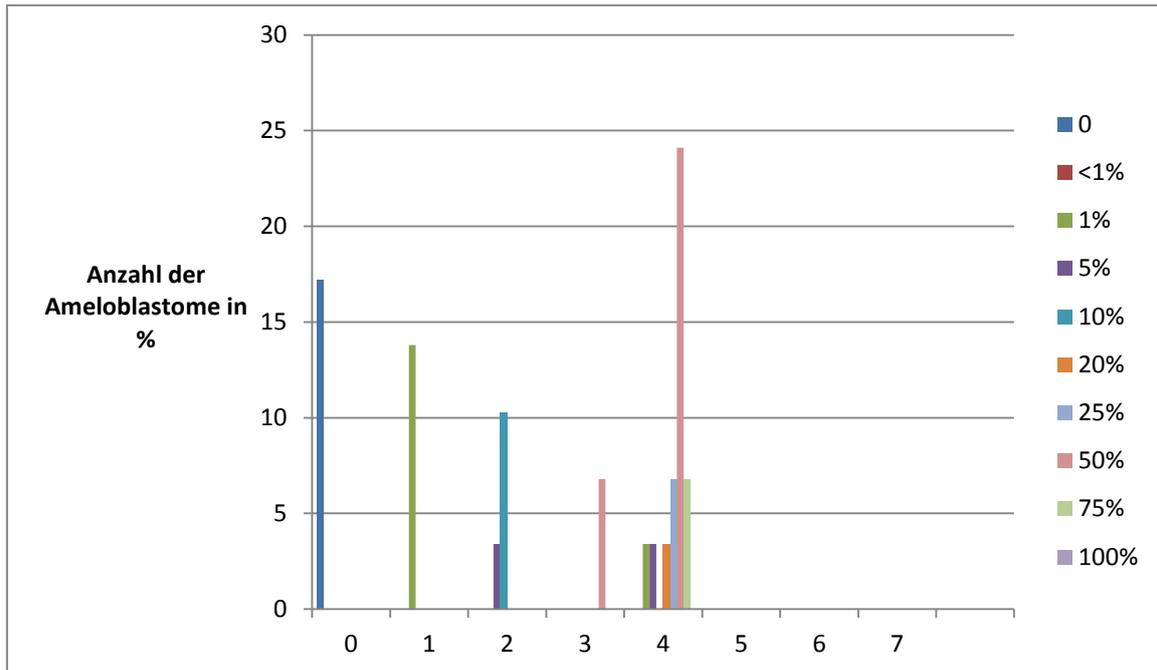


Abbildung 31: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der Ameloblastome

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklasse, Y- Achse Anzahl der Ameloblastome in %)

Färbemuster:

0= neg für CK 17, 1= superfiziell pos für CK 17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK 17, 3= basal pos für CK 17, 4= positiv für CK 17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK 17 pos im gesamten Epithel, 6= CK 17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt, 7= superfiziell und basal pos)

Die 13,8% (4) der Ameloblastome wiesen alle eine superfizielle Epithelfärbung von 1% der Epithelzellen durch Zytokeratin-17 auf. Bei der superfiziellen und mittigen Epithelfärbung waren in 10,3% (3) der Fälle 10% des Epithels gefärbt und in 3,4% (1) 5% bezogen auf das Gesamtepithel. Die 6,8% (2) der Ameloblastome mit einer Färbung der basalen Zellschichten zeigten zu 50% ein Zytokeratin-17-Nachweis. Die diffuse Färbung in allen Epithelschichten betraf in 24,1% (7) der Fälle 50% des Epithels in jeweils 6,8% (je 2) der Fälle 25% und 75% und in jeweils 4,3% (1) der Fälle 1%, 5% und 20%.

3.4.5 Das Basaliom

Alle 44 Basaliome zeigten eine Färbung mit dem Antikörper Zytokeratin-17. Das Epithel von 97,7% (43) der Basaliome war zu 100% mit Zytokeratin-17 gefärbt. 2,3% (1) der Tumoren wiesen eine Abschwächung in der Intensität in der superfiziellen Zellschicht auf, das Epithel der restlichen 95,5% (42) war gleichmäßig gefärbt. 2,3% der Basaliome zeigte einen Antigennachweis in 1% der Epithelzellen in der superfiziellen Epithelschicht.

3.4.6 Unklare Fälle

Von den 21 Fällen, die trotz HE-Nachbegutachtung in ihrer endgültigen Diagnose unklar blieben, waren 4,7% (1 Fall) negativ für Zytokeratin-17 und 23,8% (5) komplett positiv. Die anderen 71,4% (15 Fälle) wiesen eine partielle Färbung auf, wobei in 28,6% (6) der Zysten nur die superfizielle Epithelschicht angefärbt war, in 14,3% (3) der Zysten zusätzlich auch die mittleren Epithelschicht und in 9,5% (2) der Fälle die superfiziellen und basalen Epithelschichten. Bei 19% (4) der Zysten konnte die Zytokeratin-17-Färbung diffus in allen Schichten des Epithels nachgewiesen werden.

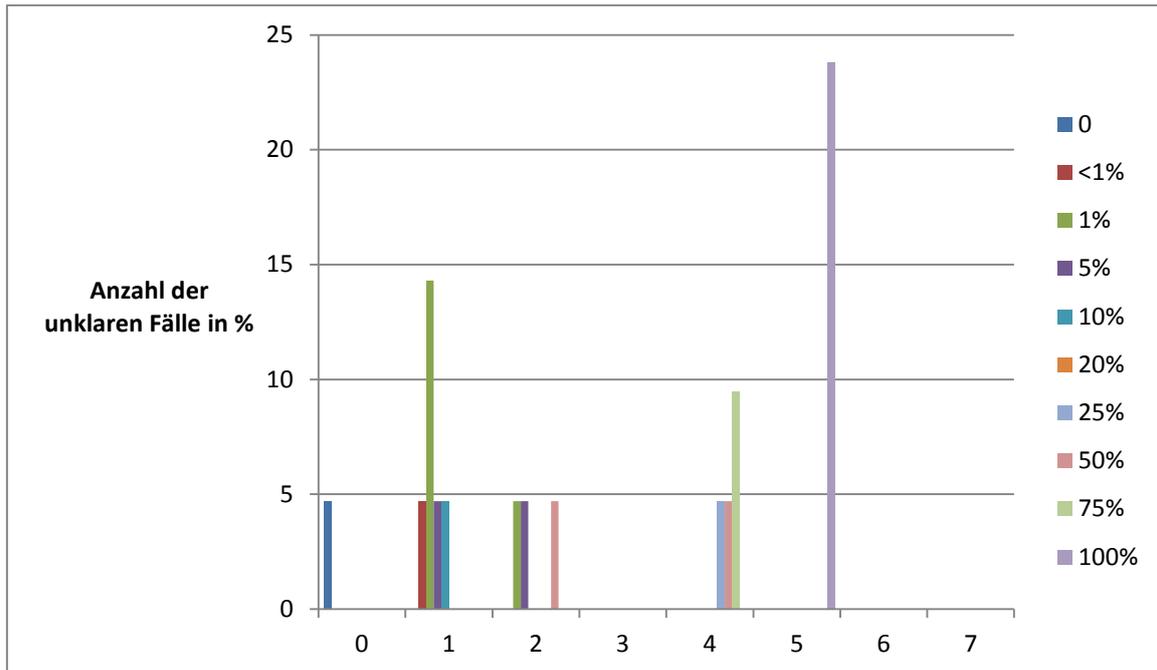


Abbildung 32: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der unklaren Fälle

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklasse, Y- Achse Anzahl der unklaren Fälle in %)

Färbemuster:

0= neg für CK 17, 1= superfiziell pos für CK 17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK 17, 3= basal pos für CK 17, 4= positiv für CK 17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK 17 pos im gesamten Epithel, 6= CK 17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt, 7= superfiziell und basal pos)

Die Verteilung der positiven Zellen auf das Gesamtepithel bei allen unklaren Zysten variierte von <1% bis 100% der Epithelzellen. Bei der superfiziellen Färbung wiesen jeweils 4,7% (1 Zyste) eine auf das Gesamtepithel bezogene Färbung von <1% der Epithelzellen auf, 4,7% (1) eine Färbung von 5% und 4,7% (1) von 10%. 14,3 % (3) der Zysten mit superfizieller Zytokeratin-17-Färbung zeigten eine Färbung von 1% der Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel auf. In weiteren 14,3 % (3) der unklaren Fälle mit superfizieller und mittiger Färbung konnte in jeweils 4,7% (jeweils ein Fall) ein Nachweis von 1%, in 5% und in 50% der Epithelzellen mit Zytokeratin-17 erfolgen. Eine diffuse Färbung über alle Epithelschichten verteilt, war in 19% (4) der Fälle

nachweisbar. In 9,5% (2) dieser Zysten waren 75% des Epithels gefärbt und in jeweils 4,7% (jeweils 1 Zyste) 25% und 50% bezogen auf das Gesamtepithel.

3.5 Die Zytokeratin-19-Färbung

Die Färbung mit dem Antikörper Zytokeratin-19 erfolgte in 128 keratozystischen odontogenen Tumoren, 137 follikulären Zysten, 97 radikulären Zysten, 44 Basaliomen und 29 Ameloblastomen und 21 unklaren Fällen.

74,2% (95) der keratozystischen odontogenen Tumoren waren negativ für den Antikörper Zytokeratin-19 und 25,8% (33) positiv. Bei den follikulären Zysten konnte der Antikörper CK19 in 81,8% (113) der Fälle nachgewiesen werden, in 18,2% (25) fiel der Nachweis negativ aus. Die radikulären Zysten zeigten in 63,9% (62) einen Antikörpernachweis, in 36,1% (35) konnte kein Zytokeratin nachgewiesen werden. 72,4% (21) der Ameloblastome waren positiv für Zytokeratin-19 und 27,6% (8) negativ. Bei den Basaliomen konnte in 95,5% (42) der Fälle der Antikörper nicht nachgewiesen werden, in 4,5% (2) zeigte sich eine Positivität für CK19. 61,9% der unklaren Fälle waren positiv für CK19, 38,1% (8) negativ.

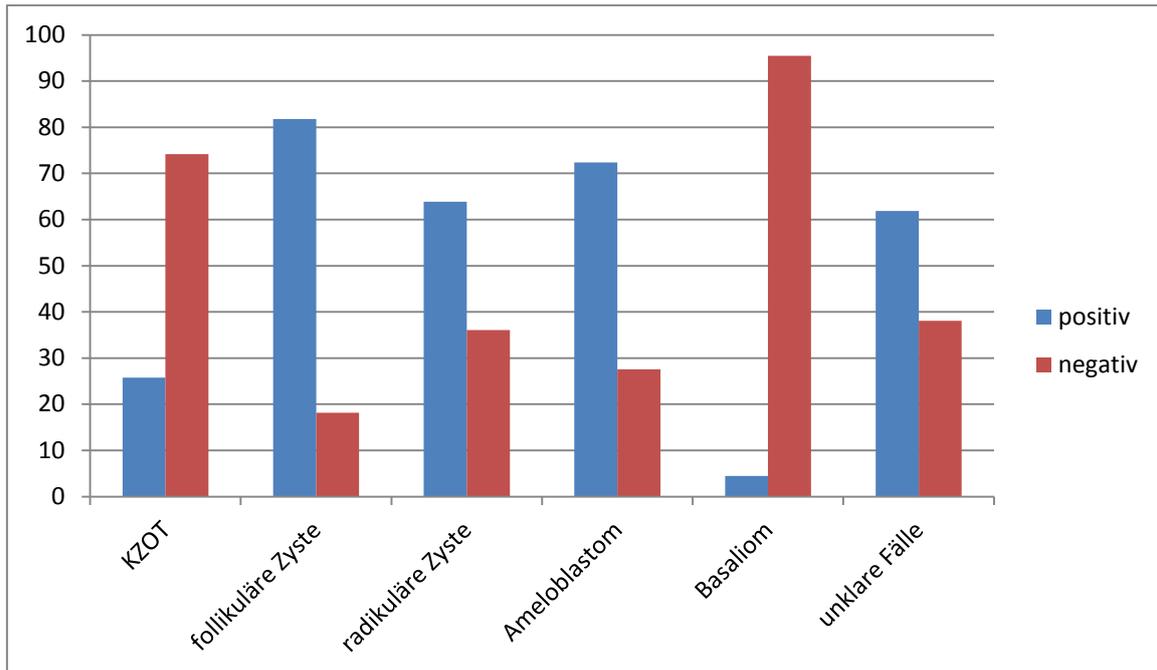


Abbildung 33: Zytokeratin-19-Färbung aller Zysten, der Ameloblastome und der Basaliome

(X-Achse Zystenart, Y-Achse in %)

Bei diesem Antikörpernachweis kann man folgende 6 Färbemuster unterscheiden.

- 0= CK19 negativ
- 1= CK19 positiv, superfiziell
- 2 = CK19 positiv, superfiziell und mittig
- 3 = CK19 positiv, basal
- 4= CK19 positiv, diffus oder partiell in allen Schichten
- 5 = CK19 positiv, alle Epithelschichten
- 6= CK 19 positiv basal und superfiziell

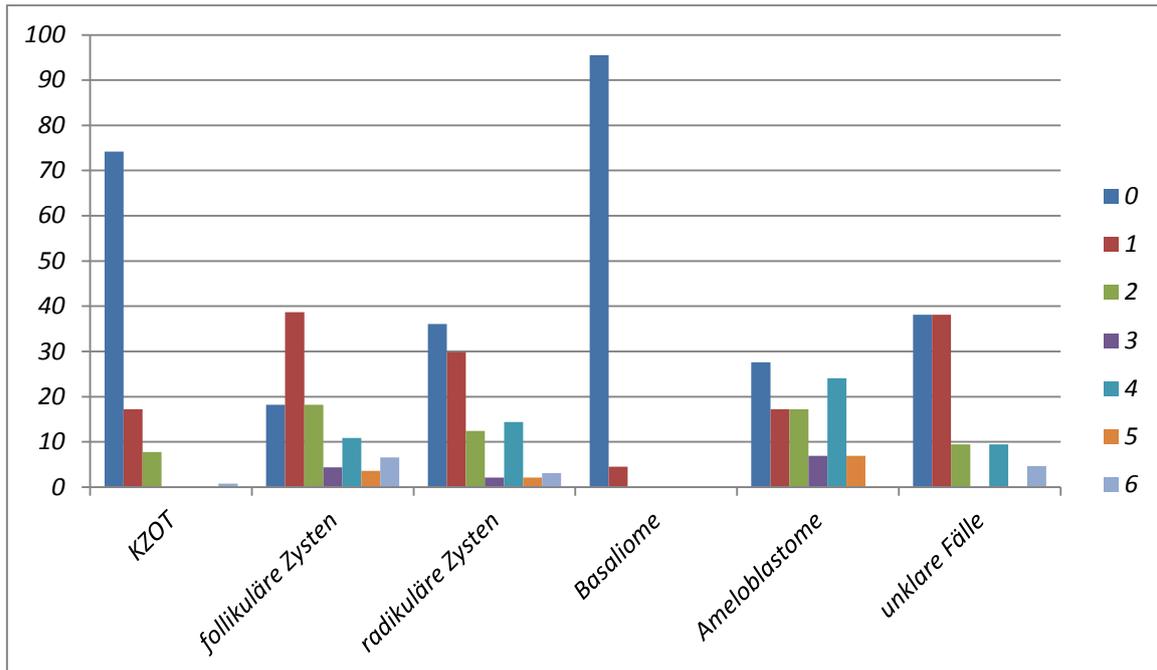


Abbildung 34: Färbemusterverteilung der Zytokeratin-19

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklasse, Y- Achse Anzahl der Zystenart in %

Färbemuster:

0= neg für CK19, 1= superfiziell pos für CK19, 2= superfiziell und mittig positiv für CK19, 3= basal pos für CK19, 4= positiv für CK19 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK19 pos im gesamten Epithel, 6= CK 19 pos superfiziell und basal)

3.5.1 Der keratozystische odontogene Tumor

Von 128 keratozystischen odontogenen Tumoren waren 74,2% (95) negativ für den Antikörper Zytokeratin-19. In 17,2% (22) der Fälle konnte eine **Färbung in der superfiziellen Schicht** nachgewiesen werden und in 7,8% (10) der Fälle eine Färbung in der **superfiziellen und mittleren** Epithelschicht. 0,8% (1) der KZOTs wiesen eine **kombinierte superfizielle und basale Färbung** des Tumorepithels auf.

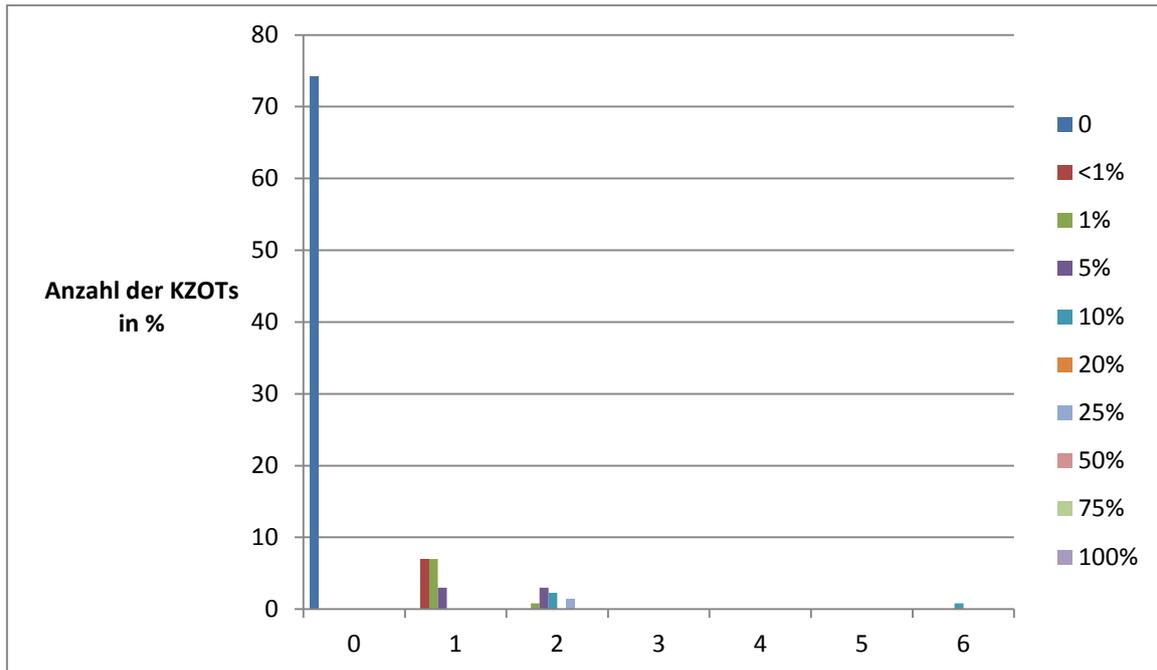


Abbildung 35: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der keratozystischen odontogenen Tumoren bei der Zytokeratin-19-Färbung

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklasse, Y- Achse Anzahl der KZOTs in %

Färbemuster:

0= neg für CK19, 1= superfiziell pos für CK19, 2= superfiziell und mittig positiv für CK19, 3= basal pos für CK19, 4= positiv für CK19 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK19 pos im gesamten Epithel, 6= CK19 pos in basalen und superfiziellen Epithelschichten)

In den keratozystischen odontogenen Tumoren, in denen eine **superfizielle Färbung** mit dem Antikörper Zytokeratin-19 nachgewiesen werden konnte, wurde in jeweils 7% (9) der Fälle unter 1% des gesamten Epithels und in weiteren 7% (9) ungefähr 1% des Epithels angefärbt, die anderen 3% (4) der Fälle hatten einen Antigenachweis in 5% der Epithelzellen bezogen auf das gesamte Tumorepithel. Das Expressionsmuster der **superfiziellen und mittleren Epithelschichtfärbung** wurde in 0,8% (1 Fall) in 1% der Epithelzellen nachgewiesen, in 3%(4) der Fälle in 5% der Epithelzellen, in 2,3% (3) der Fälle in 10% der Epithelzellen und in 1,6% (2) der Tumoren in 25% der

Epithelzellen. Die **kombiniert basale und superfizielle Färbung** mit dem Antikörper kam in 0,8% (1) der Fälle in 10% der Epithelzellen vor.

3.5.2 Die folliculäre Zyste

Von insgesamt 137 folliculären Zysten waren 18,2% (25) negativ für Zytokeratin-19 und 81,8% (112) positiv. In 38,7% (53) der folliculären Zysten wurde der Antikörper in superfiziellen Epithelschichten nachgewiesen, in 18,2% (25) der Zysten in superfiziellen und mittleren Epithelschichten und in 4,4%(6) der Fälle im basalen Epithelanteil. Eine diffuse Färbung innerhalb aller Epithelschichten fiel in 10,9% (15) der Fälle auf, eine kombiniert superfiziell basale Färbung in 6,5% (9) der folliculären Zysten. Bei 3,6% (4) der 137 folliculären Zysten waren 100% des Epithels mit Zytokeratin-19 gefärbt.

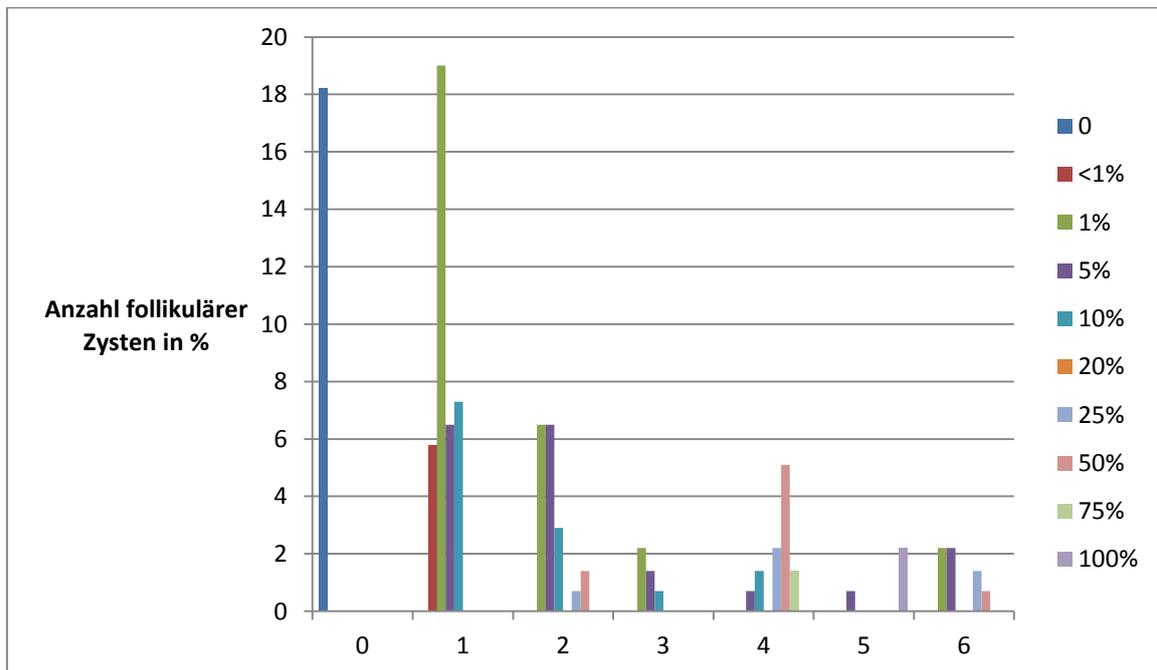


Abbildung 36: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der folliculären Zysten der Zytokeratin-19-Färbung

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklasse, Y- Achse Anzahl der folliculären Zysten in %

Färbemuster:

0= neg für CK19, 1= superfiziell pos für CK19, 2= superfiziell und mittig positiv für CK19, 3= basal pos für CK19, 4= positiv für CK19 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK19 pos im gesamten Epithel, 6= CK19 pos in superfiziellen und basalen Epithelschichten)

38,7% (53) der folliculäre Zysten wiesen eine superfizielle Färbung des Zystenepithels auf, wobei in 5,8% (8) der Fälle die Färbung in weniger als 1% der Epithelzellen nachzuweisen war, in 19% (26) der Fälle in 1% der Epithelzellen, in 6,5%(9) der Fälle in 5% der Epithelzellen und in 7,3% (10) der Fälle in 10% der Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel. Eine Antikörperfärbung in superfiziellen und mittleren Epithelschichten war in jeweils 6,5% (9) der folliculären Zysten in 1% und in 5% des Epithels nachweisbar und in 2,9% (4) der folliculären Zysten in 10%. In 1,4% (2) der Fällen war die Färbung in superfiziellen und mittleren Schichten in 50% der Epithelzellen zu finden und in 0,7% (1) der Fälle in 25% der Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel. Eine Färbung im basalen Epithelbereich entfiel auf insgesamt 3,6% (5) der Fälle, wobei in 2,2% (3) der Fälle 1% des Epithels gefärbt war und in jeweils 0,7% (je 1 Fall) 5% und 10%. Die kombiniert superfizielle und basale Färbung des Zystenepithels war in 6,5% (9) der folliculären Zysten zu finden, wobei jeweils 2,2% (3) der folliculären Zysten zu 1% und 5% gefärbt waren, 1,4% (2) zu 25% und 0,7% (1) etwa zur Hälfte des Epithels. Eine diffuse Färbung in allen Epithelschichten fand sich in 10,9% (15) der folliculären Zysten, wobei in 5,1% (7) der Fälle 50% des Epithels gefärbt waren, in 2,2% (3) der Fälle 25%, in jeweils 1,4% (2) der Fälle 10% und 75% und in 0,7% (1 Fall) der Fälle 5% der Epithelzellen.

3.5.3 Die radikuläre Zyste

Es konnten 97 radikuläre Zysten ausgewertet werden. 36,1% (35) der radikulären Zyste waren negativ für Zytokeratin-19 und 2% (2) der radikulären Zysten zu 100% positiv. Eine superfizielle Färbung zeigten 29,9% (29) der radikulären Zysten, bei 12,4% (12) der Fälle waren die superfiziellen und mittleren Epithelschichten angefärbt und bei 2% (2) der Fällen nur die basalen. Eine kombiniert superfizielle und basale Färbung mit Zytokeratin-19 kam in 3,1% (3) der Fälle vor. Ein Antigennachweis, diffus über alle Epithelschichten verteilt, gelang in 14,4% (14) der Zysten.

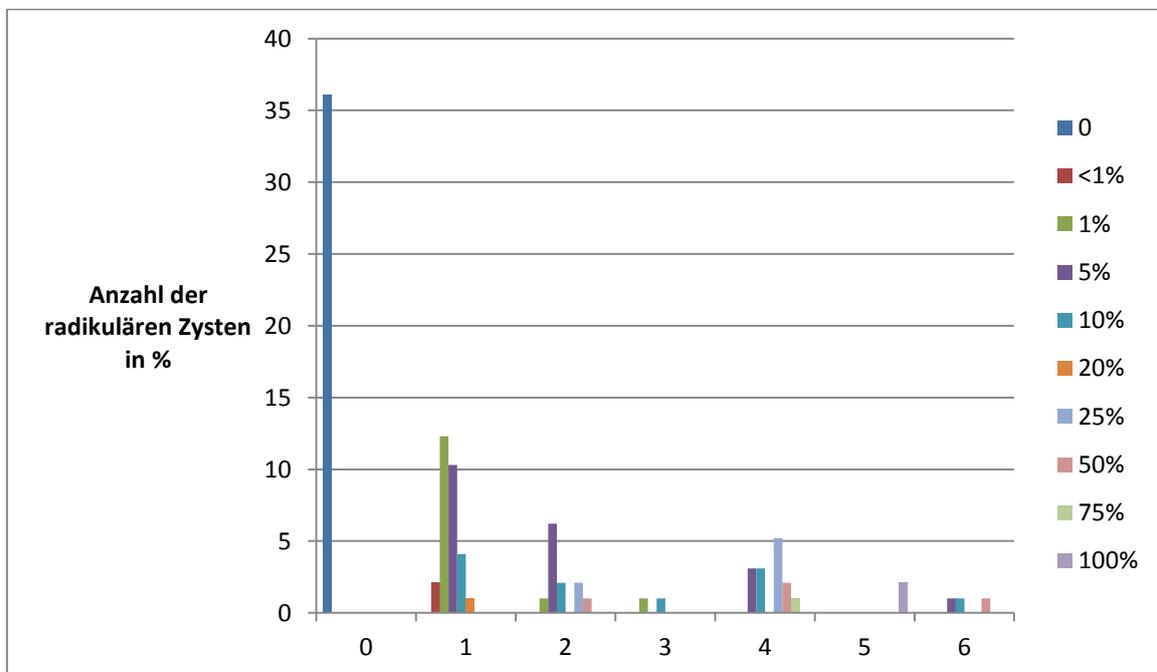


Abbildung 37: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der radikulären Zysten bei der Zytokeratin-19-Färbung

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklasse, Y- Achse Anzahl der radikulären Zysten in %)

Färbemuster:

0= neg für CK19, 1= superfiziell pos für CK19, 2= superfiziell und mittig positiv für CK19, 3= basal pos für CK19, 4= positiv für CK19 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK19 pos im gesamten Epithel, 6= CK19 pos in superfiziellen und basalen Epithelschichten)

Bei der superfiziellen Färbung mit Zytokeratin-19 waren in 12,4% (12) der Fälle 1% der Epithelzellen angefärbt, in 2,1% (2) der Fälle weniger als 1% der Epithelzellen, in 10,3% (10) der Fälle 5%, in 4,1% (4) der Fälle 10% und in 1% (1 Fall) der Fälle 20% der superfiziellen Epithelzellen bezogen auf das Gesamtepithel. Eine Zytokeratin-19-Färbung in superfiziellen und mittleren Epithelschichten konnte in 12,3% (12) der radikulären Zysten nachgewiesen werden, wobei in 6,2% (6) der Fälle 5% der Epithelzellen, in jeweils 2,1% (2) der Fälle 10% und 25% der Epithelzellen und in jeweils 1% (1 Fall) der Fälle je 1% und 50% der Epithelzellen bezogen auf das gesamte Epithel angefärbt waren. Eine basale Färbung war in 1% (1) der Zysten in 1% der basalen Epithelzellen und 1% (1) der Fälle in 10% der basalen Epithelzellen zu erkennen. Die kombiniert superfizielle und basale Färbung mit Zytokeratin-19 entfiel auf 3,1% (3) der radikuläre Zysten mit jeweils 5%, 10% und 50% angefärbten Epithelzellen. 14,4% (14) der 97 radikulären Zysten waren diffus, das ganze Epithel betreffend angefärbt. In jeweils 3,1% (3) der Fälle waren 5% und 10% des Epithels angefärbt, in 5,2% (5) der radikulären Zysten 25% der Epithelzellen, in 2,1% (2) der Zysten 50% und in einem Fall 75% der Epithelzellen bezogen auf das gesamte Epithel.

3.5.4 Das Ameloblastom

Von 29 Ameloblastomen waren 27,6% (8) negativ für den Antikörper Zytokeratin-19. In jeweils 17,2% (5) der Fälle wurde der Antikörper in den superfiziellen Epithelschichten und in den superfiziellen und mittleren Epithelschichten nachgewiesen. 6,9% (2) der Ameloblastome waren in den basalen Zellschichten positiv für Zytokeratin-19. Eine diffuse, alle Zellschichten betreffende Färbung der Ameloblastome trat in 24,1% (7) der Fälle auf. In 6,9% (2) der Ameloblastome konnte eine 100%ige Positivität für Zytokeratin-19 festgestellt werden.

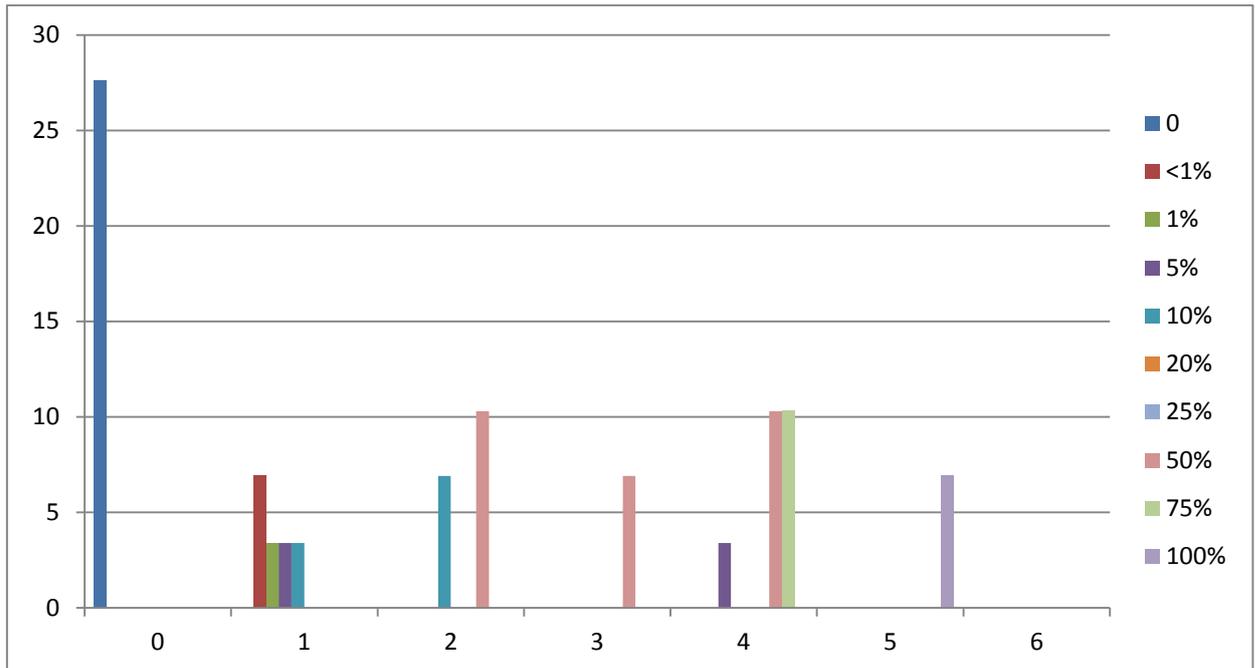


Abbildung 38 Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der Ameloblastome der Zytokeratin- 19- Färbung

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklasse, Y- Achse Anzahl der Ameloblastome in %

Färbemuster:

0= neg für CK19, 1= superfiziell pos für CK19, 2= superfiziell und mittig positiv für CK19, 3= basal pos für CK19, 4= positiv für CK19 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK19 pos im gesamten Epithel, 6= CK 19 pos in superfiziellen und basalen Epithelschichten)

Die superfizielle Färbung der Ameloblastome mit dem Antikörper Zytokeratin-19 wurde in 6,9% (2) der Tumoren in weniger als 1% der Epithelzellen und in 10,3% (3) der Tumoren in jeweils 1%, 5% und 10% der Epithelzellen nachgewiesen. Die Antikörperfärbung in superfiziellen und mittleren Zellschichten kam in 6,9% (2) der Ameloblastome in 10% der Zellen und in 10,3% (3) der Ameloblastome in 50% der Zellen bezogen auf das ganze Tumorepithel vor. Eine Färbung im basalen Epithelbereich kam in 6,9% (2) der Fälle in etwa der Hälfte des Epithels vor. Eine diffuse das ganze Epithel betreffende Färbung konnte in 24,1% (7) der Ameloblastome nachgewiesen

werden, wobei in jeweils 10,3% (3) der Fälle 50% und 75% des Epithels betroffen waren und in 3,4% (1Fall) 5% bezogen auf das gesamte Tumorepithel.

3.5.5 Das Basaliom

Von 44 Basaliomen waren 95,5% (42) negativ für den Antikörper Zytokeratin-19. Die anderen 4,5% (2) der Basaliome wiesen eine superfizielle Positivität in weniger als 1% der Tumorzellen auf.

3.5.6 Unklare Fälle

Von 21 Zysten, die nach der HE-Begutachtung unklar blieben und somit keine Diagnose getroffen werden konnte, waren 38,1% (8) negativ bei der Färbung mit dem Antikörper Zytokeratin-19 und weitere 38,1% (8) der Fälle zeigten eine superfizielle Färbung des Zystenepithels. Eine Zytokeratin-19-Färbung der superfiziellen und mittleren Zellschichten kam in 9,5% (2) der Zysten vor, 4,7% (1) wiesen eine kombiniert superfizielle und basale Zytokeratin-19-Expression auf. Die diffuse, alle Epithelschichten betreffende Färbung, kam in 9,5% (2) der Fälle vor.

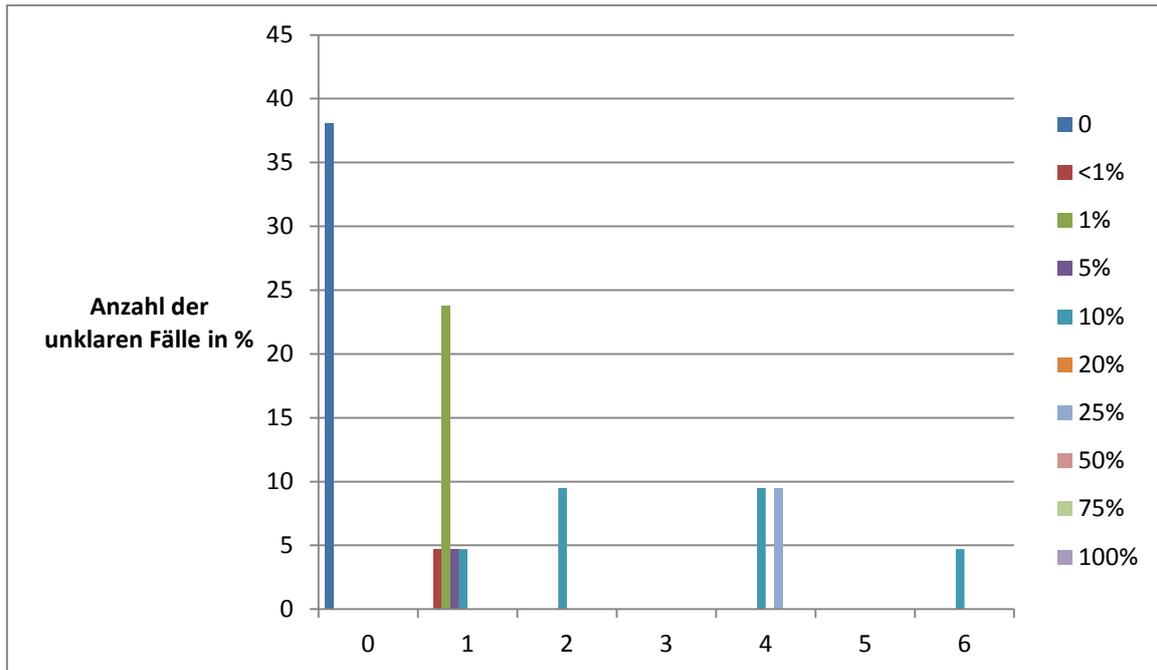


Abbildung 39: Anzahl der gefärbten Epithelzellen pro Färbemuster der unklaren Fälle der Zytokeratin-19-Färbung

(X-Achse Färbemuster mit Angabe der Häufigkeitsklasse, Y- Achse Anzahl der unklaren Fälle in %)

Färbemuster:

0= neg für CK19, 1= superfiziell pos für CK19, 2= superfiziell und mittig positiv für CK19, 3= basal pos für CK19, 4= positiv für CK19 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK19 pos im gesamten Epithel, 6= CK19 pos in superfiziellen und basalen Epithelschichten)

Der Anteil der gefärbten Epithelzellen des superfiziellen Expressionsmusters der Zytokeratin-19-Färbung betrug in jeweils 4,7% (jeweils 1 Fall) weniger als 1%, 5% und 10%, in 23,8% (5) der Zysten waren 1% der Epithelzellen bezogen auf das gesamte Zystenepithel positiv für Zytokeratin-19. In 9,5% (2) der Zysten wurde eine Färbung in 10% der superfiziellen und mittleren Epithelschichten gefunden. Eine diffuse, alle Epithelschichten betreffende Färbung konnte in jeweils 4,7%, somit in jeweils einem Fall in 10% und in 25% der Epithelzellen nachgewiesen werden. Die kombiniert superfizielle und basale Färbung wurde in insgesamt 4,7% (1) in 10% des Epithels der Zyste festgestellt.

3.6 Vergleich der Zytokeratin-17 und Zytokeratin-19 Färbung

Vergleicht man die Expressionsprofile von Zytokeratin-17 und Zytokeratin-19 unbeachtet der Gewebeart, erhält man folgende Ergebnisse:

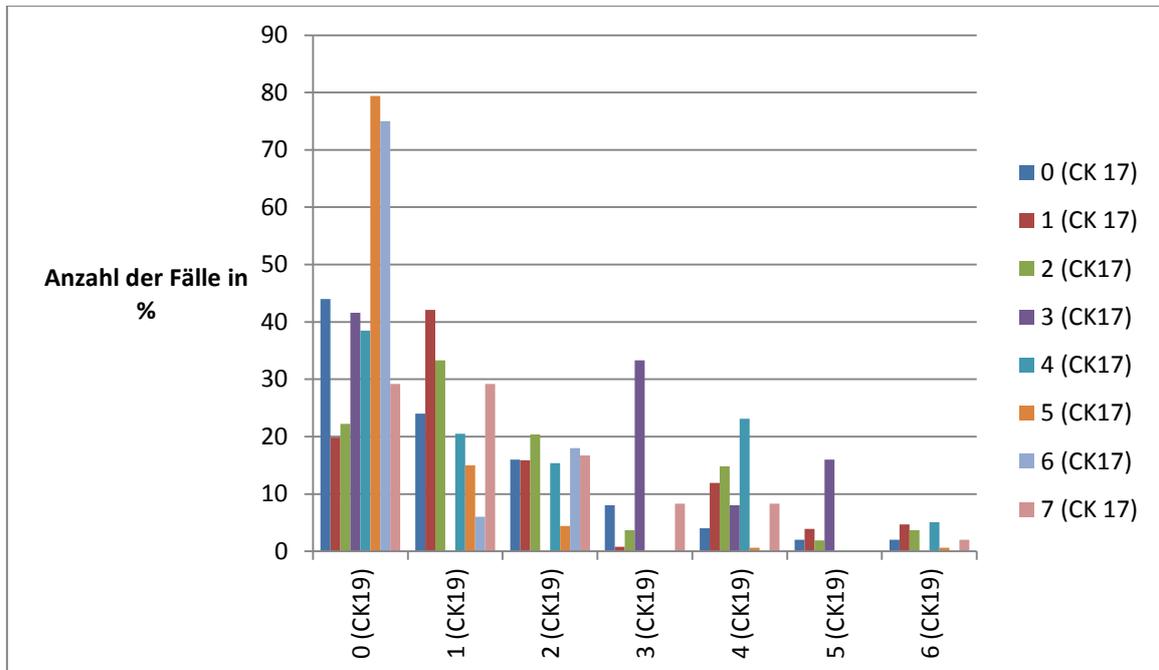


Abbildung 40: Vergleich der Färbemuster von Zytokeratin-19 mit Zytokeratin-17

(X-Achse CK 19 Färbemuster mit Angabe des Färbemusters in der CK17 Färbung, Y- Achse Anzahl der Fälle in %

Färbemuster:

0= neg für CK19, 1= superfiziell pos für CK19, 2= superfiziell und mittig positiv für CK19, 3= basal pos für CK19, 4= positiv für CK19 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK19 pos im gesamten Epithel, 6= CK19 pos basal und superfiziell)

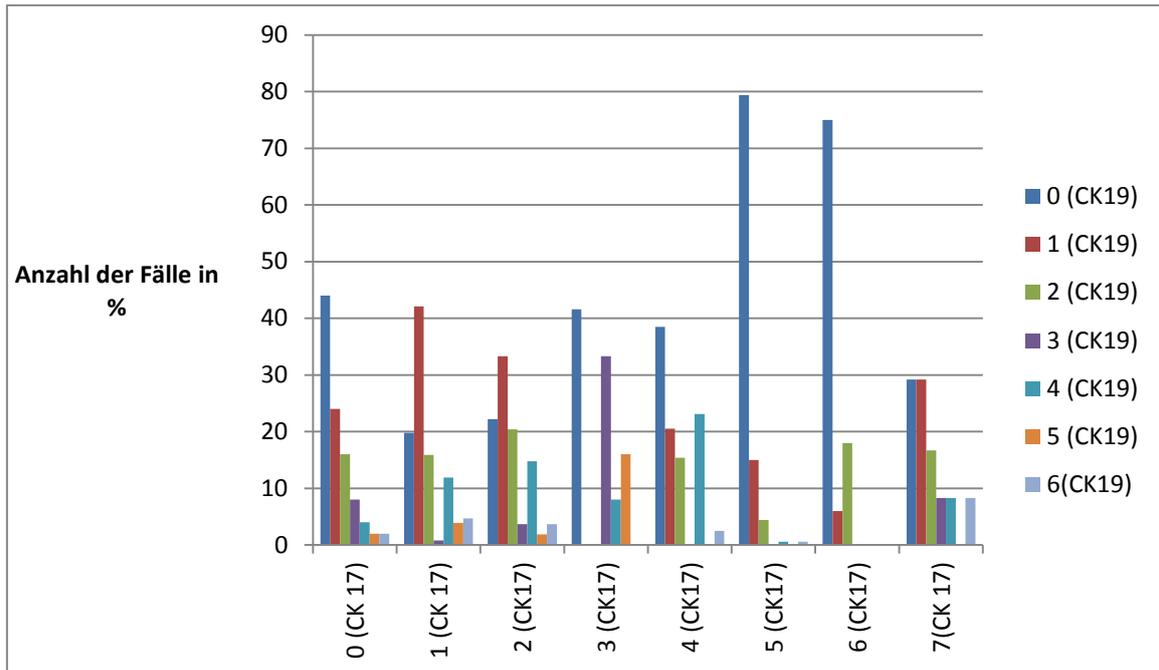


Abbildung 41: Vergleich der Färbemuster der Zytokeratin-17-Färbung mit der Zytokeratin-19-Färbung

(X-Achse CK 17 Färbemuster mit Angabe des Färbemusters in der CK19 Färbung, Y- Achse Anzahl der Fälle in %

Färbemuster:

0= neg für CK17, 1= superfiziell pos für CK17,

2= superfiziell und mittig positiv für CK17, 3= basal pos für CK17, 4= positiv für CK17 diffus

oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK17 pos im gesamten Epithel, 6= CK17 pos in allen Epithelschichten)

	0 CK17	1 CK17	2 CK17	3 CK17	4 CK17	5 CK17	6 CK17	7 CK 17
0 CK19	22	25	12	5	15	127	12	7
1 CK19	12	53	18	0	8	24	1	7
2 CK19	8	20	11	0	6	7	3	4
3 CK19	4	1	2	4	0	0	0	2
4 CK19	2	15	8	1	9	1	0	2
5 CK19	1	6	1	2	0	0	0	0
6 CK 19	1	5	2	0	1	1	0	2

Tabelle 6: Vergleichende Fallzahlen der Zytokeratin-19-Färbung und Zytokeratin-17-Färbung

Keine Färbung mit Zytokeratin-17 (Färbemuster 0)

Insgesamt 50 Fälle waren negativ für den Antikörper Zytokeratin-17. 44% (22) der 50 Fälle waren ebenso negativ für Zytokeratin-19, 24% (12) superfiziell positiv und 16% (8) positiv in superfiziellen und mittleren Epithelschichten. In 8% (4) der Fälle lag die Antikörperexpression von Zytokeratin-19 im basalen Epithelbereich, in 2% (1) der Fälle war das komplette Epithel angefärbt. Eine kombiniert-basale-superfizielle Färbung kam in 2% (1) der Fälle vor, eine diffuse, alle Epithelschichten betreffende Färbung in 4% (2) der Fälle.

Färbung mit Zytokeratin-17 in superfizielle Epithelschichten(Färbemuster 1):

126 Fälle waren superfiziell mit Zytokeratin-17 angefärbt. Betrachtet man diese Fälle in der Zytokeratin-19 Färbung, kann man in 19,8% (25) der Fälle keine Färbung nachweisen, in 42,1% (53) der Fälle eine ebenfalls superfizielle Färbung mit Zytokeratin-19, in 15,9% (20) der Fälle eine Färbung in superfiziellen und mittleren Epithelschichten, in 0,8% (1) der Fälle eine Färbung im basalen Epithelanteil, in 11,9% (15) der Fälle eine diffuse Färbung mit Zytokeratin-19 das ganze Epithel betreffend, in 4,7% (6) der Fälle eine kombiniert basale und superfizielle Färbung und in 3,9% (5) der Fälle eine Färbung des kompletten Epithels.

Färbung mit Zytokeratin-17 in superfiziellen und mittleren Epithelschichten (Färbemuster 2):

Ein Antikörpernachweis in superfiziellen und mittleren Epithelschichten mit Zytokeratin-17 kam in 54 Fällen vor. In der Zytokeratin-19 Färbung zeigten 22,2% (12) der 54 Fälle keine Antikörperfärbung, 33,3% (18) der Fälle eine superfizielle Färbung mit Zytokeratin-19, 20,4% (11) der Fälle eine Färbung in superfiziellen und mittleren Epithelschichten, 3,7% (2) der Fälle eine basale Färbung, 14,8% (8) der Fälle eine diffuse, alle Epithelschichten betreffende Färbung, 1,9% (1) der Fälle eine 100%ige Positivität für Zytokeratin-19 und 3,7% (2) der Fälle eine kombiniert-basale und superfizielle Färbung des Epithels.

Färbung mit Zytokeratin-17 in basalen Zellschichten (Färbemuster 3)

In 12 Fällen lag die Antikörperfärbung mit Zytokeratin-17 im basalen Abschnitt des Epithels. In 41,6% (5 der 12 Fälle) konnte keine Antikörperfärbung mit Zytokeratin-19 festgestellt werden, in 33,3% (4) der Fälle lag die Zytokeratinfärbung im basalen Bereich, in 8% (1 Fall) waren alle Epithelschichten diffus gefärbt und in 16% (zwei Fälle) wiesen 100% des Epithels eine Zytokeratin-19-Färbung auf.

Färbung mit Zytokeratin-17 diffus alle Epithelschichten betreffend (Färbemuster 4)

39 Fälle wiesen eine diffuse, alle Epithelschichten betreffende Färbung mit Zytokeratin-17 auf. Die dazugehörige Zytokeratin-19-Färbung war in 38,5% (15) der Fälle negativ, in 20,5% (8) der Fälle superfiziell positiv, in 15,4% (6) der Fälle positiv in superfiziellen und mittleren Epithelschichten, in 23,1% (9) der Fälle ebenfalls diffus positiv in allen Epithelschichten und in 2,5% (1 Fall) kombiniert superfiziell und basal positiv.

Färbung mit Zytokeratin-17 in allen Epithelschichten zu 100% (Färbemuster 5)

Insgesamt 160 Fälle waren komplett positiv für Zytokeratin-17. Davon konnte in 79,4% (127) der Fälle kein Antikörperrnachweis mit Zytokeratin-19 erfolgen. In 15% (24) der Fälle wurde eine superfizielle Antikörperfärbung festgestellt, wobei diese nur höchstens 1% der Epithelzellen betraf. In 4,4% (7) lag die Zytokeratin-19-Positivität im superfiziellen und mittleren Epithelbereich und in jeweils 0,6% (je 1 Fall) war sie diffus das ganze Epithel betreffend oder kombiniert basal und superfiziell.

Färbung mit Zytokeratin-17 in allen Epithelschichten zu 100%, aber mit Intensitätsabschwächung (Färbemuster 6)

In 16 Fällen lag die Zytokeratin-17-Färbung bei 100%, wies aber in manchen Epithelbereichen eine Abschwächung der Intensität auf. Die vergleichende Betrachtung der Zytokeratin-19-Färbung ließ feststellen, dass 75% (12) der Fälle negativ für diese Färbung waren, 6% (1 Fall) eine superfizielle Färbung und 18% (3) eine Zytokeratin-19-Positivität in superfiziellen und mittleren Schichten aufwiesen.

Färbung mit Zytokeratin-17 kombiniert basal und superfiziell (Färbemuster 7)

24 Fälle zeigten eine kombiniert basale und superfizielle Färbung mit dem Antikörper Zytokeratin-17. In 29,2% (7 der insgesamt 24 Fälle) war die dazugehörige Zytokeratin-19 Färbung negativ und in weiteren 29,2% (7) der Fälle superfiziell positiv. 16,7% (4 Fälle) wiesen eine Antikörperpositivität in superfiziellen und mittleren Epithelschichten auf, 8,3% (2) im basalen Epithelbereich und 8,3% (2) ebenfalls kombiniert basal und superfiziell.

3.6.1 Vergleich der Zytokeratin-17- und Zytokeratin-19-Färbung bei keratozystischen odontogenen Tumoren

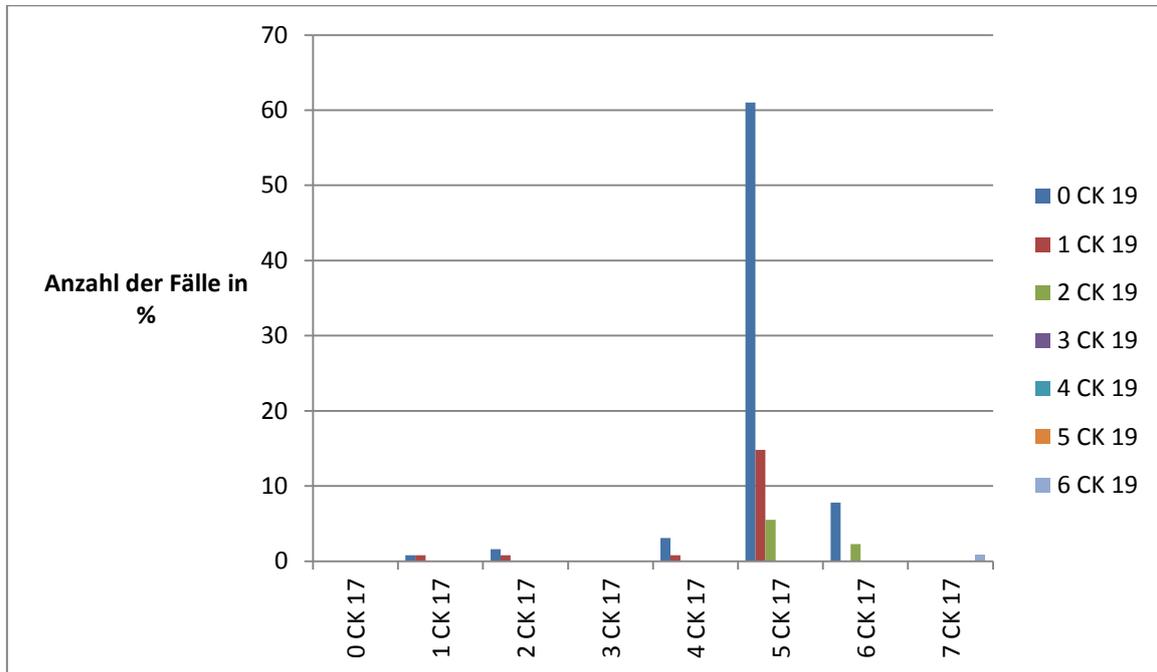


Abbildung 42: Vergleich der Färbemuster von Zytokeratin-17 und Zytokeratin-19

(X-Achse CK 17 Färbemuster mit Angabe des Färbemusters in der CK 19 Färbung, Y- Achse in %)

Färbemuster:

0= neg für CK17, 1= superfiziell pos für CK17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK17, 3= basal pos für CK17, 4= positiv für CK17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK17 pos im gesamten Epithel, 6= CK17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt, 7= CK17 pos in superfiziellen und basalen Epithelschichten)

81,3% (104) der 128 keratozystischen odontogenen Tumoren zeigten eine komplette Färbung des Tumorepithels für Zytokeratin-17. Davon waren 61% (78 von 128) negativ für Zytokeratin-19, 14,8% (19) superfiziell positiv für Zytokeratin-19 und 5,5% (7) positiv in superfiziellen und mittleren Schichten.

10,2% (13) der 128 keratozystischen odontogenen Tumoren waren komplett positiv für Zytokeratin-17 in 100% der Epithelzellen, zeigten aber innerhalb der

Färbung in manchen Bereichen Abschwächungen. 7,8% der Fälle waren in der dazugehörigen Zytokeratin-19-Färbung negativ und 2,3% positiv in superfiziellen und mittleren Zellschichten.

1,6% der keratozystischen odontogenen Tumoren waren superfiziell positiv für Zytokeratin-17, 0,8% (1) davon in der Zytokeratin-19-Färbung negativ und 0,8% (1) superfiziell positiv.

In 2,3% (3) der 128 KZOTs konnte die Zytokeratin-17-Färbung in superfiziellen und mittleren Zellschichten nachgewiesen werden, wovon 1,6% (2) negativ für Zytokeratin-19 und 0,8% (1) der Fälle superfiziell positiv für den Antikörper war.

3,9% (5) der Fälle zeigten eine diffuse, alle Epithelschichten betreffende Färbung mit dem Antikörper Zytokeratin-17, 3,1% (4) davon waren in der Zytokeratin-19-Färbung negativ, einer superfiziell positiv.

In 0,8% der Fälle (1Fall) lag eine kombiniert basale und superfizielle Färbung mit Zytokeratin-17 vor, die sich auch in der Zytokeratin-19-Färbung wiederfand.

3.6.2 Vergleich der Zytokeratin-17- und Zytokeratin-19-Färbung bei Gorlin-Goltz-Syndrom

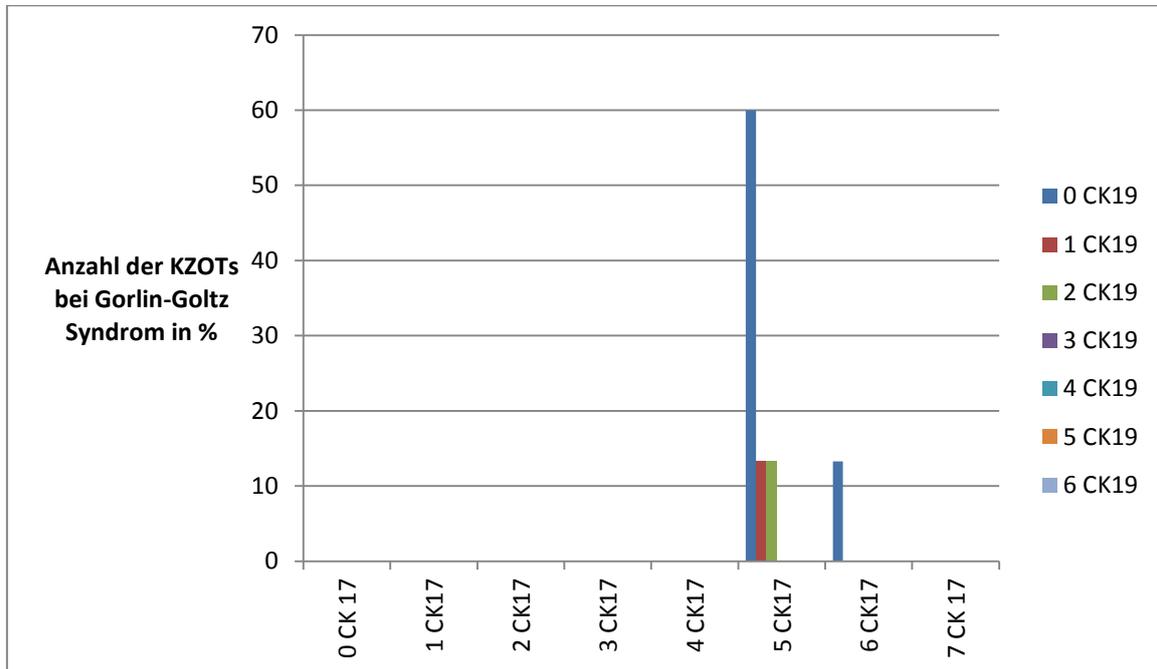


Abbildung 43: Vergleich der Färbemuster der Zytokeratin-17-Färbung mit der Zytokeratin-19-Färbung von KZOTs bei Gorlin-Goltz-Syndrom

(X-Achse CK 17 Färbemuster mit Angabe des Färbemusters in der CK 19 Färbung, Y-Achse in %)

Färbemuster:

0= neg für CK17, 1= superfiziell pos für CK17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK17, 3= basal pos für CK17, 4= positiv für CK17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK17 pos im gesamten Epithel, 6= CK17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt, 7= CK 17 pos superfiziell und basal)

Es konnten 15 keratozystische odontogene Tumoren von Patienten mit Gorlin-Goltz-Syndrom untersucht werden. Alle Fälle waren zu 100% positiv für den Antikörper Zytokeratin-17, wobei 86,7% (13 Fälle) eine gleichmäßige Intensität der Färbung aufwiesen und 13,3% (2 Fälle) in manchen Epithelschichten etwas abgeschwächt waren. Die dazugehörige Zytokeratin-19-Färbung in den 86,7% (13) war in 60% (9) der Fälle negativ und in jeweils 13,3% (je 2 Fälle)

superfiziell und in mittleren Epithelschichten positiv. In den 13,3% (2) der Fälle, die eine schwache Intensität der Zytokeratin-17-Färbung aufwiesen, waren auch 13,3% der dazugehörigen Zytokeratin-19-Färbungen negativ.

3.7 Das immunhistologische Expressionsmuster der Zysten und des Ameloblastoms als differentialdiagnostisches Hilfsmittel für die histopathologische Routinediagnostik

3.7.1 Der keratozystische odontogene Tumor

Betrachtet man alle keratozystischen odontogenen Tumoren hinsichtlich ihrer Expressionsmuster bei der Antikörperfärbung mit Ber-EP4, KRT 6B, Zytokeratin-17 und Zytokeratin-19 erhält man folgendes Ergebnis.

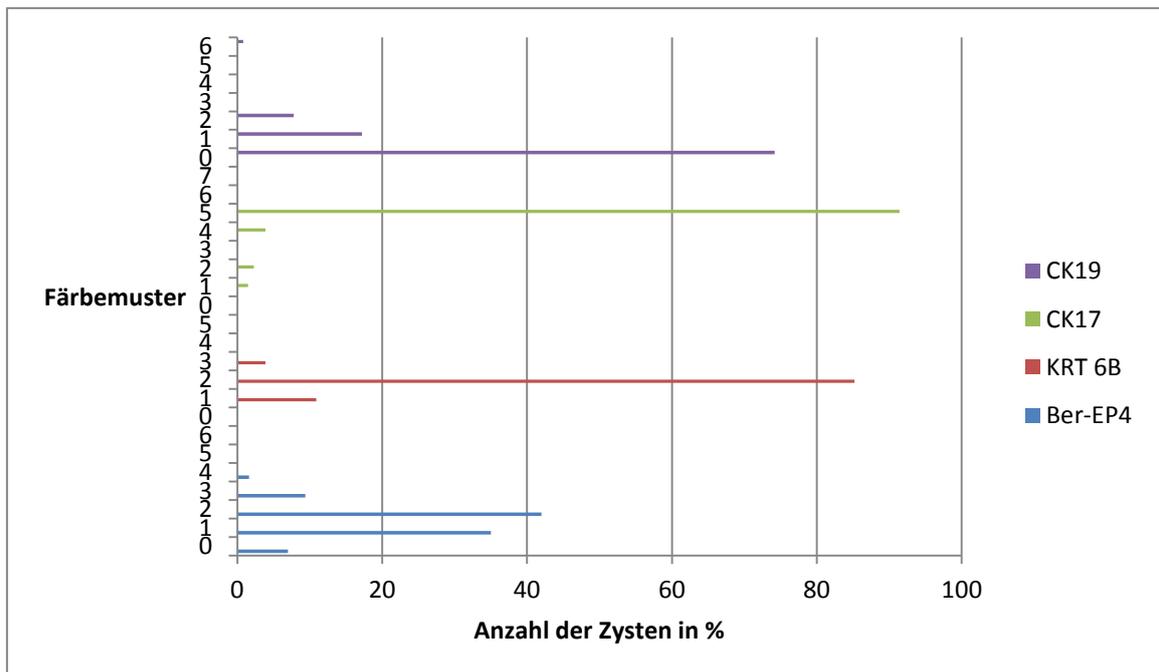


Abbildung 44: Expressionsprofil des keratozystischen odontogenen Tumors hinsichtlich der Antikörper Ber-EP4, KRT 6B, CK17 und CK19

(X- Achse Anzahl der Zysten in %, Y- Achse Färbemusterverteilung)

Blau: 0= Ber-EP4 neg, 1= zytoplasmamembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4, 2= zytoplasmamembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4, 3= zytoplasmamembranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4, 4= zytoplasmamembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4, 5= zytoplasmamembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4, 6= zytoplasmatisch und zytoplasmamembranständig basal positiv für Ber-EP4,

Rot: 0= KRT 6B neg, 1= positiv für KRT 6B in gleichmäßiger Intensität des gesamten Epithels, 2= positiv für KRT 6B aber basal in schwächerer Intensität bezogen auf die Gesamtfärbung, 3= positiv für KRT 6B, aber inhomogen in der Ausprägung, 4= KRT 6B basal in höherer Intensität als restliches Epithel, 5= Basaliom/Ameloblastom gleichmäßige Intensität, komplettes Epithel aber insgesamt schwächer als bei Zysten, in ausgereiften Epithel Arealen intensiver,

Grün: Achse 0= neg für CK 17, 1= superfiziell pos für CK 17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK 17, 3= basal pos für CK 17, 4= positiv für CK 17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK 17 pos im gesamten Epithel, 6= CK 17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt, 7= CK 17 pos superfiziell und basal,

Lila: 0= neg für CK 19, 1= superfiziell pos für CK 19, 2= superfiziell und mittig positiv für CK 19, 3= basal pos für CK 19, 4= positiv für CK 19 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK 19 pos im gesamten Epithel, 6= CK 19 pos superfiziell und basal)

Von 128 keratozystischen odontogenen Tumoren waren 7% (14 Fälle) negativ für Ber-EP4. 35% (46 Fälle) der Tumoren zeigten eine schwache basale und teilweise parabasale Färbung mit Ber-EP4, 42% (54 Fälle) der Tumoren eine mittelstarke basale und teilweise parabasale Färbung mit Ber-EP4 und 9,4% (12) der Tumoren eine starke basale und parabasale Färbung mit Ber-EP4. 1,6% (2) der keratozystisch odontogenen Tumoren wiesen eine superfizielle Färbung mit dem Antikörper Ber-EP4 auf.

Der Antikörper KRT 6B konnte in allen keratozystischen odontogenen Tumoren in 100% der Epithelzellen nachgewiesen werden. In 85,2% (109 von 128) der Tumoren war die Basalzellschicht schwächer gefärbt als das restliche Epithel. In 10,9% (14) der Fälle war die Intensität der Färbung über das gesamte Epithel gleichmäßig und in 3,9% (5) der Fälle inhomogen.

Der Zytokeratin-17-Nachweis erfolgte in 91,4% (117) der Tumoren mit einer Färbung des kompletten Epithels. In 1,5% (2) der Fälle war die Färbung nur superfiziell nachzuweisen, in 2,3% (3) der Fälle superfiziell und in mittleren Epithelschichten und in 0,78% (1 Fall) kombiniert basal und superfiziell. 3,9% (5) der keratozystischen odontogenen Tumoren waren diffus, alle Epithelschichten betreffend mit Zytokeratin-17 gefärbt.

74,2% (95) der KZOTs waren negativ für den Antikörper Zytokeratin-19. In 17,2% (22) der Fälle konnte eine Färbung in der superfiziellen Schicht nachgewiesen werden und in 7,8% (10) der Fälle eine Färbung in der superfiziellen und mittleren Epithelschicht. 0,8% (1) der KZOTs wiesen eine kombinierte superfizielle und basale Färbung des Tumorepithels auf.

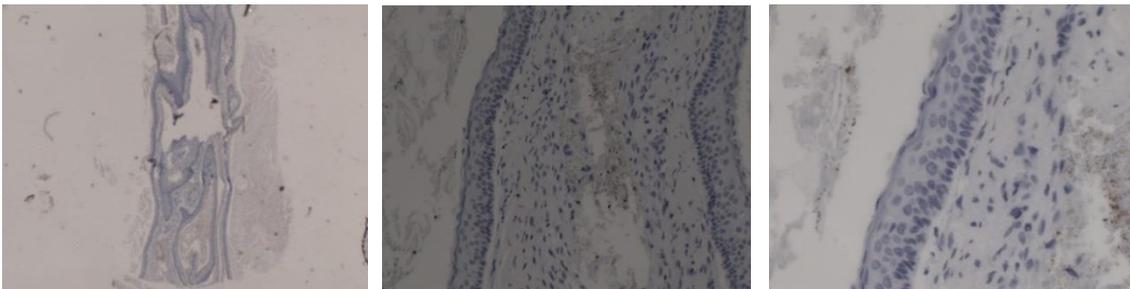


Abbildung 45: KZOT, Ber- EP- Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

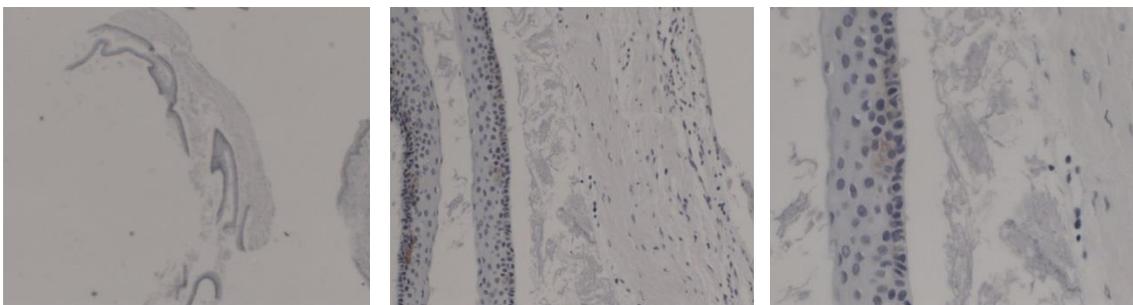


Abbildung 46: KZOT, Ber- EP4-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

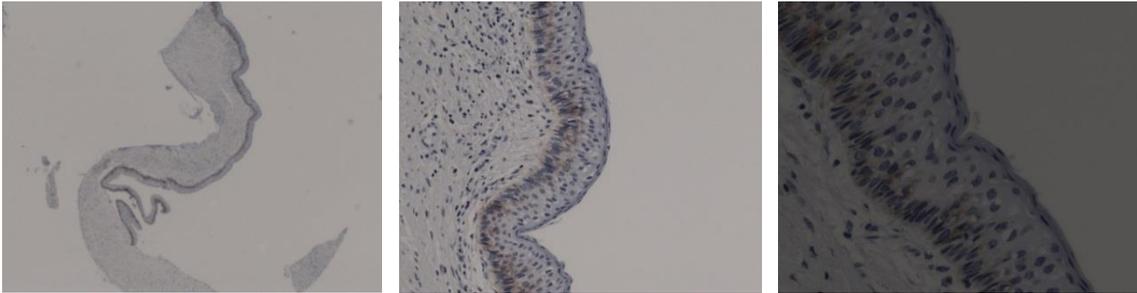


Abbildung 47: KZOT, Ber- EP4-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

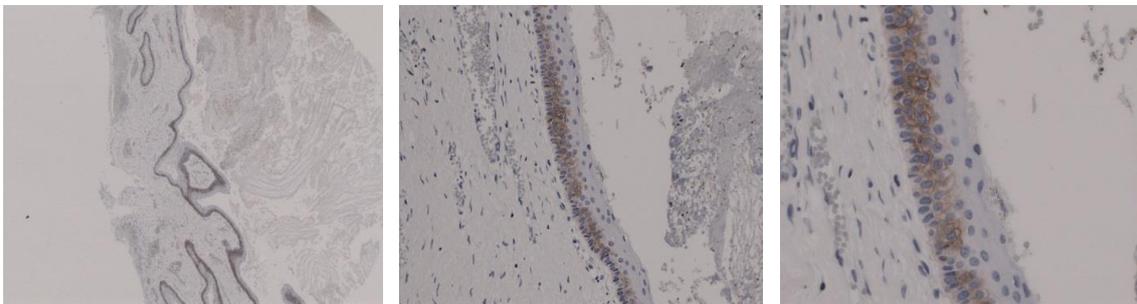


Abbildung 48: KZOT, Ber- EP4-Färbemuster 3 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung



Abbildung 49: KZOT, Ber-EP4-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

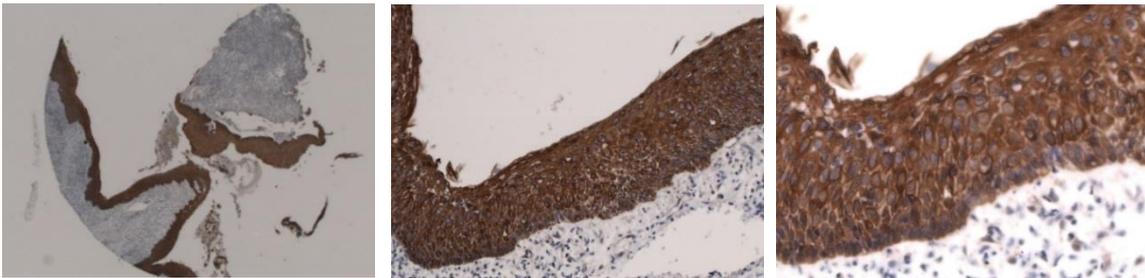


Abbildung 50: KZOT, KRT 6B-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

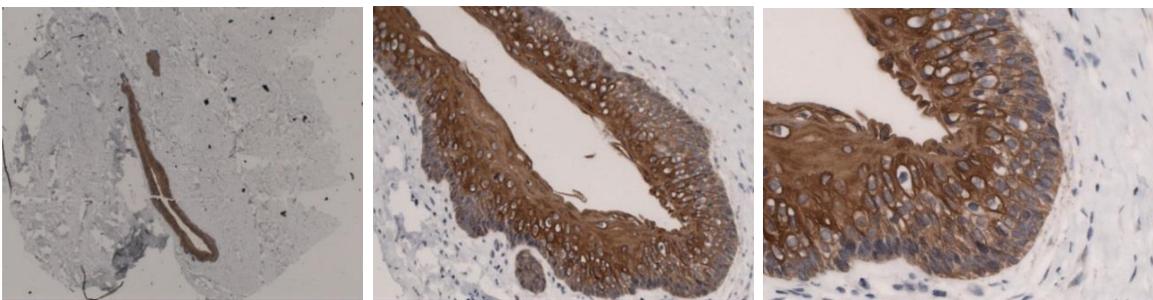


Abbildung 51: KZOT, KRT 6B-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

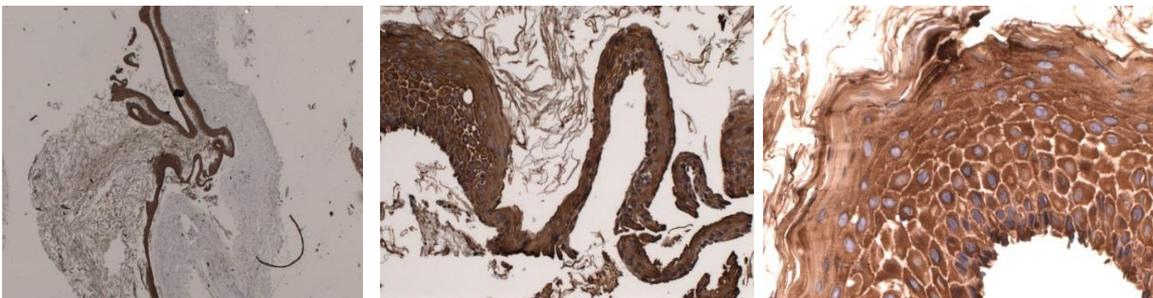


Abbildung 52: KZOT, KRT 6B-Färbemuster 3 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

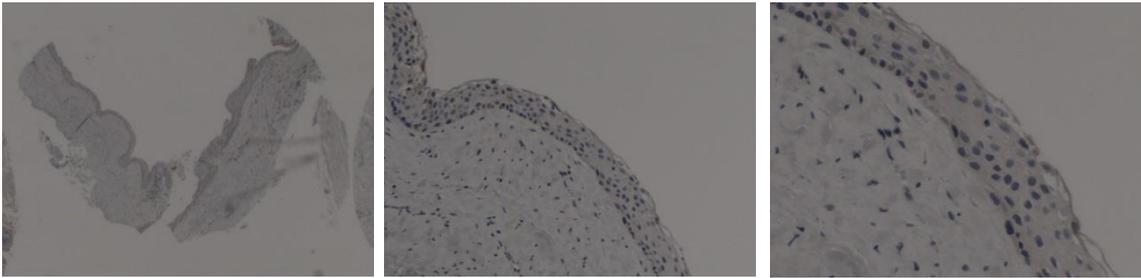


Abbildung 53: KZOT, CK17-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

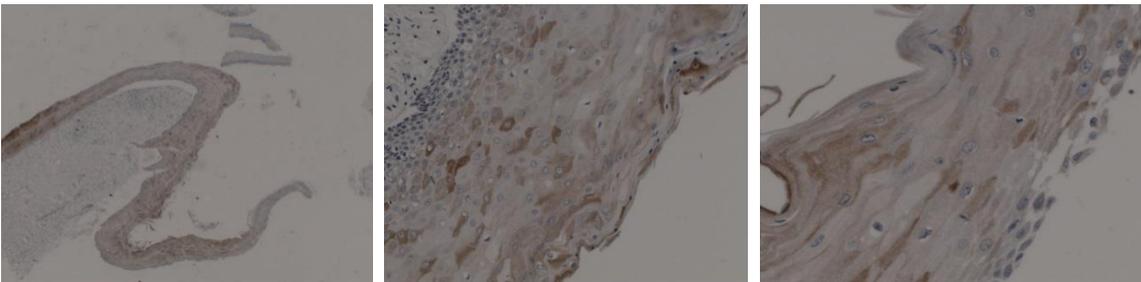


Abbildung 54: KZOT, CK17-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

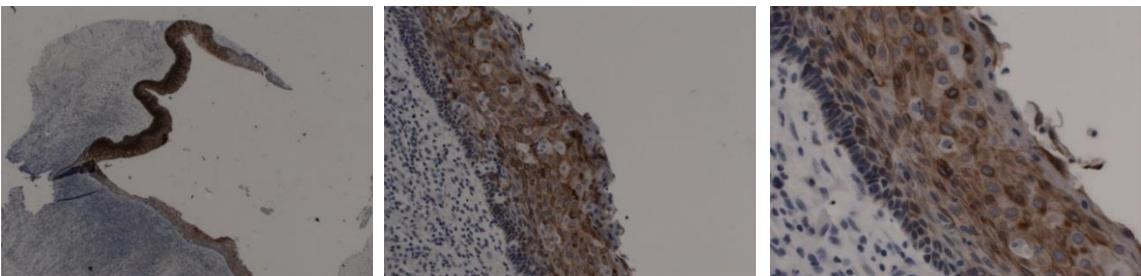


Abbildung 55: KZOT, CK17-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

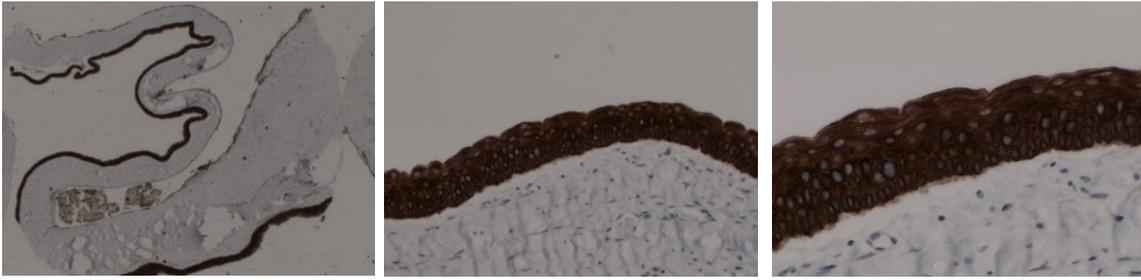


Abbildung 56: KZOT, CK17-Färbemuster 5 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

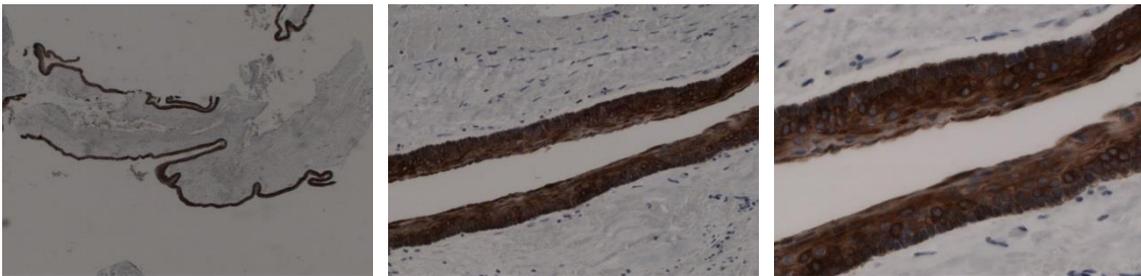


Abbildung 57: KZOT, CK17-Färbemuster 6 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

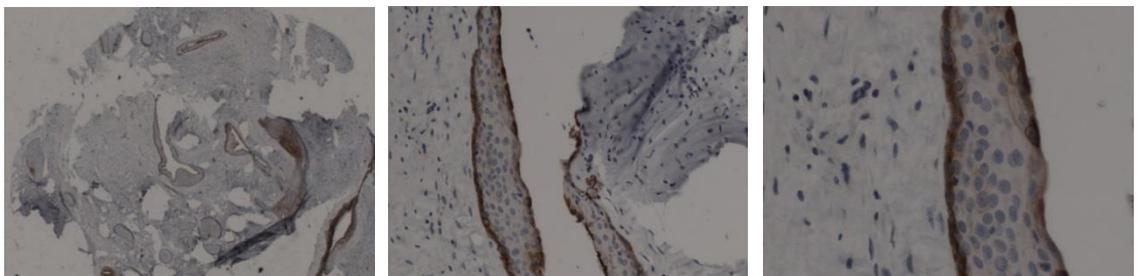


Abbildung 58: KZOT, CK17-Färbemuster 7 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

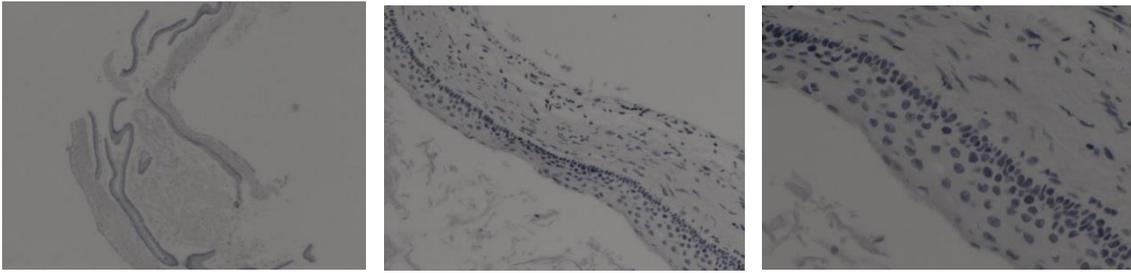


Abbildung 59: KZOT, CK19-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

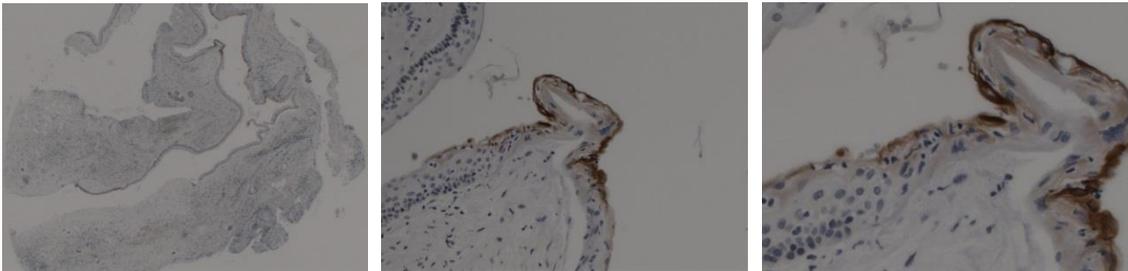


Abbildung 60: KZOT, CK19-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

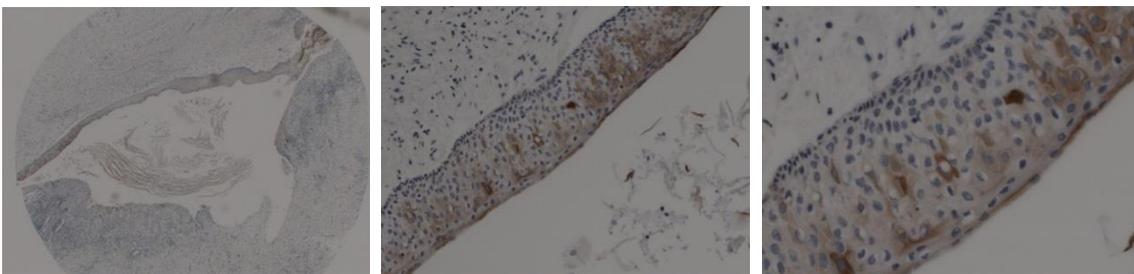


Abbildung 61: KZOT, CK19-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

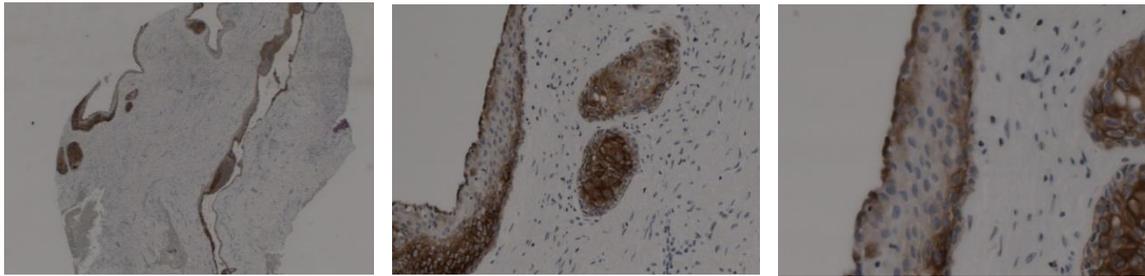


Abbildung 62: KZOT, CK19-Färbemuster 6 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

3.7.2 Die folliculäre Zyste

Betrachtet man alle folliculären Zysten hinsichtlich ihrer Expressionsmuster bei der Antikörperfärbung mit Ber-EP4, KRT 6B, Zytokeratin 17 und Zytokeratin 19 erhält man folgendes Ergebnis:

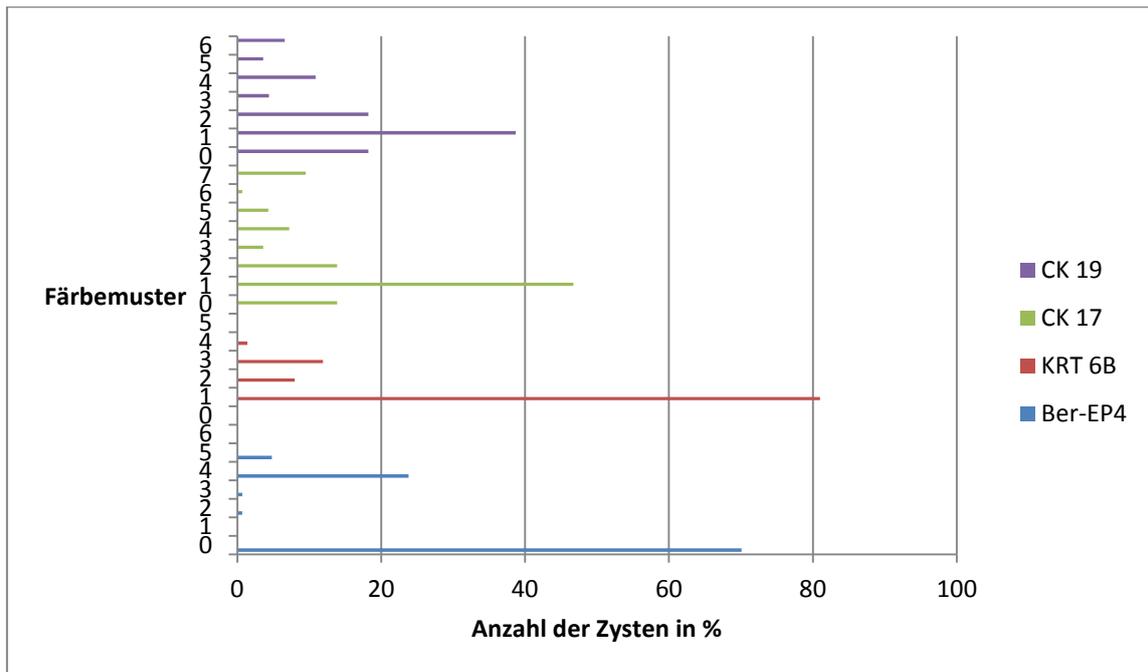


Abbildung 63: Expressionsprofil der folliculären Zyste hinsichtlich der Antikörper Ber-EP4, KRT 6B, CK17 und CK19

(X- Achse Anzahl der Zysten in %, Y-Achse Färbemusterverteilung)

Blau: 0= Ber-EP4 neg, 1= zytoplasmamembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4, 2= zytoplasmamembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4, 3= zytoplasmamebranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4, 4= zytoplasmamembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4, 5= zytoplasmamembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4, 6= zytoplasmatisch und zytoplasmamembranständig basal positiv für Ber-EP4,

Rot: 0= KRT 6B neg, 1= positiv für KRT 6B in gleichmäßiger Intensität des gesamten Epithels, 2= positiv für KRT 6B, aber basal in schwächere Intensität bezogen auf Gesamtfärbung, 3= positiv für KRT 6B, aber inhomogen in der Ausprägung, 4= KRT 6B basal in höherer Intensität als restliches Epithel, 5= Basaliom/Ameloblastom gleichmäßige Intensität, komplettes Epithel aber insgesamt schwächer als bei Zysten, in ausgereiften Epithel Arealen intensiver,

Grün: Achse 0= neg für CK17, 1= superfiziell pos für CK17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK17, 3= basal pos für CK17, 4= positiv für CK17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK17 pos im gesamten Epithel, 6= CK17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt, 7= CK 17 pos superfiziell und basal,

Lila: 0= neg für CK19, 1= superfiziell pos für CK19, 2= superfiziell und mittig positiv für CK19, 3= basal pos für CK19, 4= positiv für CK19 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK19 pos im gesamten Epithel, 6= CK 19 pos superfiziell und basal)

147 follikuläre Zysten wurden mit dem Antikörper Ber-EP4 gefärbt. 70% (103) der follikulären Zysten waren negativ für Ber-EP4. Von den restlichen 30% (44) der follikulären Zysten, die sich mit Ber-EP4 anfärbten, waren 0,7% (1) schwach parabasal /basal angefärbt und in 0,7% (1) der follikulären Zysten konnte man den Antikörper mittelstark basal/parabasal nachweisen. 28% (42) der follikulären Zysten wiesen eine Antigenpositivität in den superfiziellen Epithelschichten auf, wobei die Färbung bei 23% (35) der follikulären Zysten schwach und bei 4,7% (7) der follikulären Zysten stark ausfiel.

Eine Färbung mit dem Antikörper KRT 6B konnte in 100% der Epithelzellen bei 100% (143) der follikulären Zysten nachgewiesen werden. In 81% (116) Fällen war die Intensität der Färbung im gesamten Epithel gleichmäßig. In 5,6% (8) der follikulären Zysten war die Basalzellschicht schwächer angefärbt als das restliche Zystenepithel, wohingegen in 1,4% (2) der follikulären Zysten die Basalzellschicht stärker angefärbt war. In 11,9% (17) war die Ausprägung der Färbung bezogen auf die Intensität inhomogen.

Bei der Färbung mit dem Antikörper Zytokeratin-17 konnten 137 follikuläre Zysten ausgewertet werden. 13,9% (19) der follikulären Zysten sind negativ für den Antikörper Zytokeratin-17. Die anderen 86% (118) der follikulären Zysten weisen das Antigen in unterschiedlicher Dichte und Lokalisation auf. In 46,7% (64) der Fälle war das Antigen in der superfiziellen Epithelschicht nachzuweisen, in 13,9% (19 Fälle) der follikulären Zysten in der superfiziellen und in der mittleren Epithelschicht und in 3,6% (5) eher basal. 9,5% (13) der follikulären Zysten wiesen eine kombinierte basale und superfizielle Färbung

auf. Die diffusen Färbungen durch teilweise alle Epithelschichten hindurch trat in 7,3% (10) der folliculären Zysten auf. In 5% (7) der folliculären Zysten war das ganze Epithel positiv angefärbt, wobei in einem Fall die Basalzellschicht eine etwas schwächere Intensität zeigt.

18,2% (25) der folliculären Zysten waren negativ für Zytokeratin-19 und 81,8% (112) positiv. In 38,7% (53) der folliculären Zysten wurde der Antikörper in superfiziellen Epithelschichten nachgewiesen, in 18,2% (25) der Zysten in superfiziellen und mittleren Epithelschichten und in 4,4%(6) der Fälle im basalen Epithelanteil. Eine diffuse Färbung innerhalb aller Epithelschichten fiel in 10,9% (15) der Fälle auf, eine kombiniert superfiziell basale Färbung in 6,6% (9) der folliculären Zysten. Bei 3,6% (4) der 137 folliculären Zysten waren 100% des Epithels mit Zytokeratin-19 gefärbt.

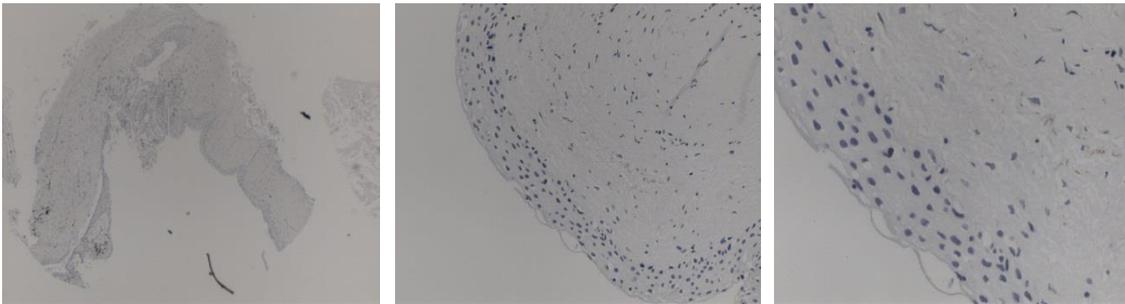


Abbildung 64: Follikuläre Zyste, Ber-EP4-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

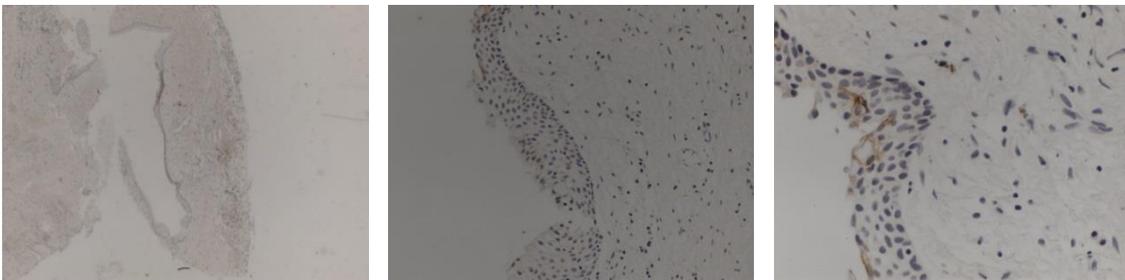


Abbildung 65: Follikuläre Zyste, Ber-EP4-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

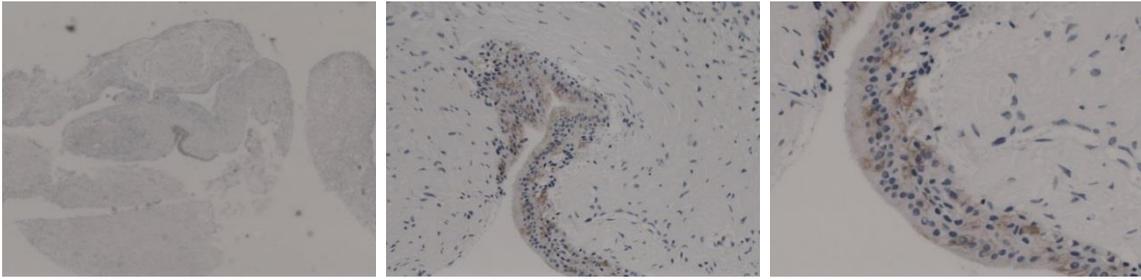


Abbildung 66: Follikuläre Zyste, Ber-EP4-Färbemuster 5 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung



Abbildung 67: Follikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

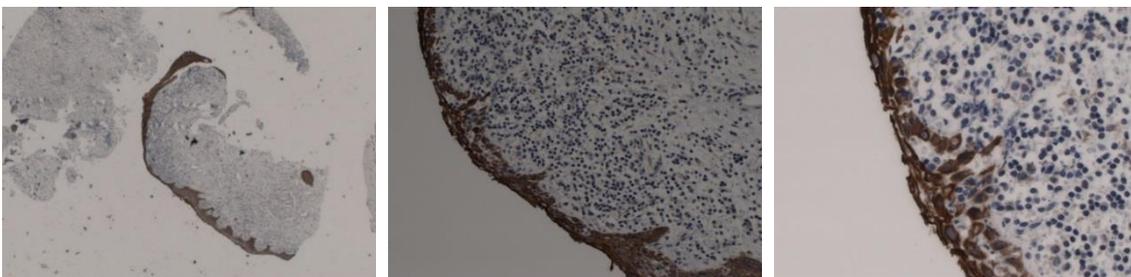


Abbildung 68: Follikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 3 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

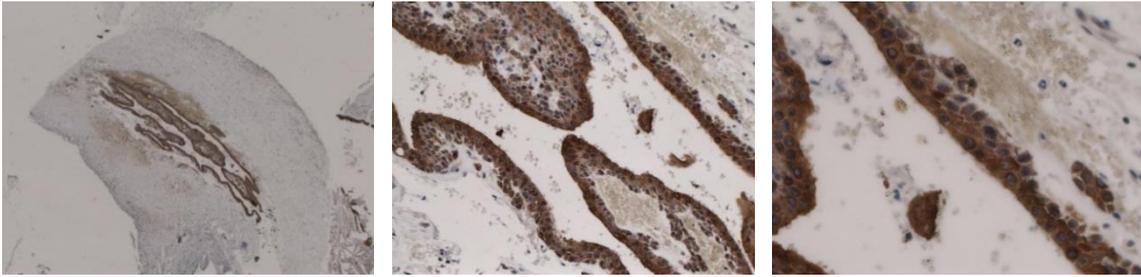


Abbildung 69: Follikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

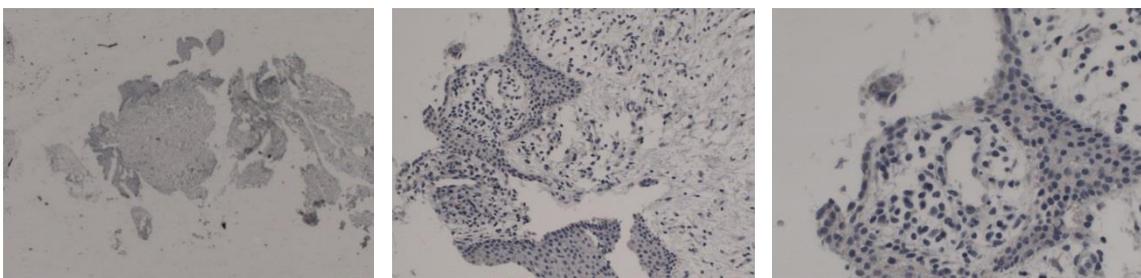


Abbildung 70: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

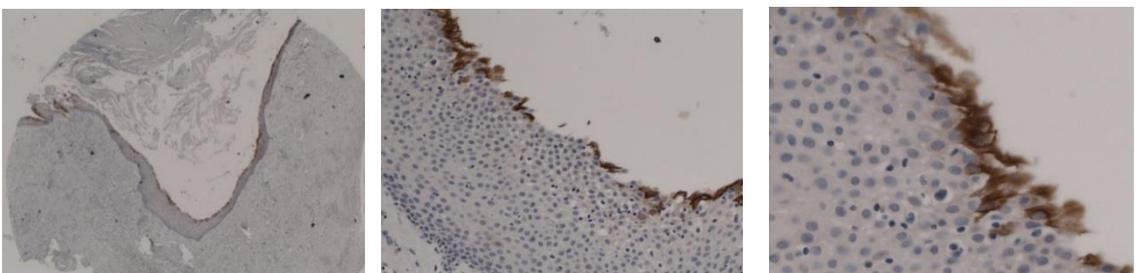


Abbildung 71: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

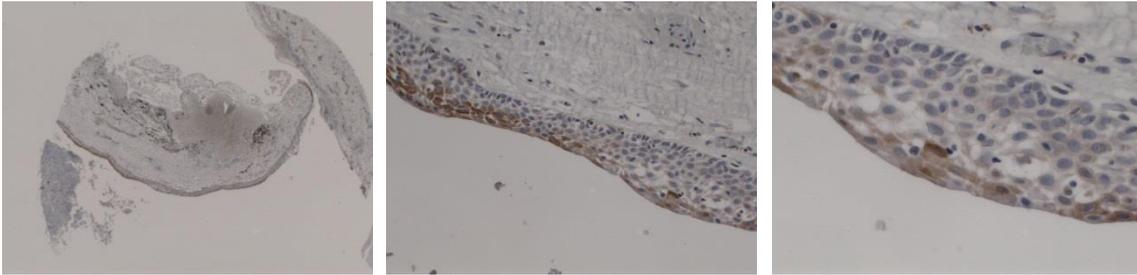


Abbildung 72: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

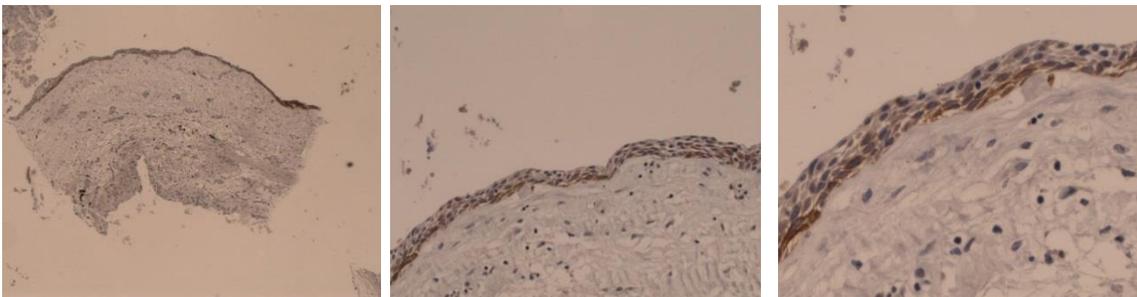


Abbildung 73: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 3 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

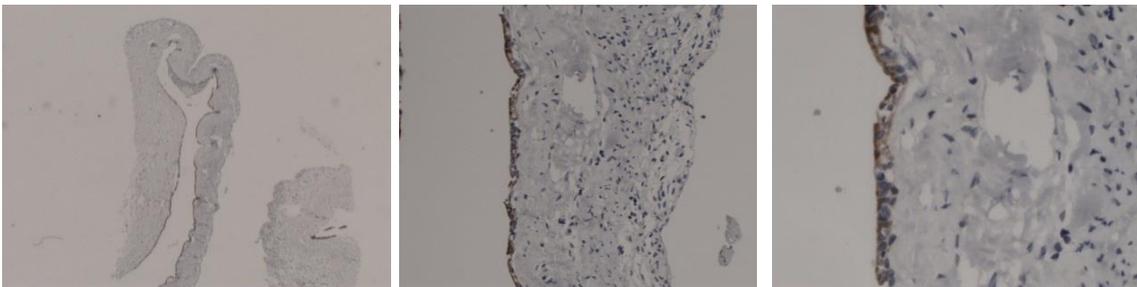


Abbildung 74: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung



Abbildung 75: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 5 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

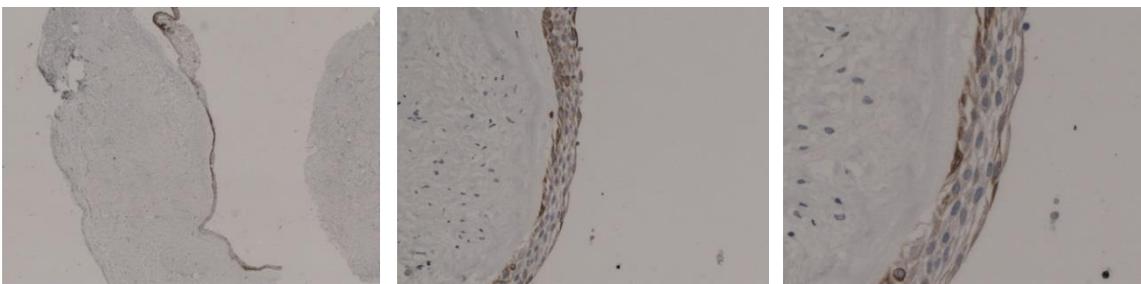


Abbildung 76: Follikuläre Zyste, CK17-Färbemuster 1,3 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

3.7.3 Die radikuläre Zyste

Betrachtet man alle radikulären Zysten hinsichtlich ihrer Expressionsmuster bei der Antikörperfärbung mit Ber-EP4, KRT 6B, Zytokeratin-17 und Zytokeratin-19, erhält man folgendes Ergebnis.

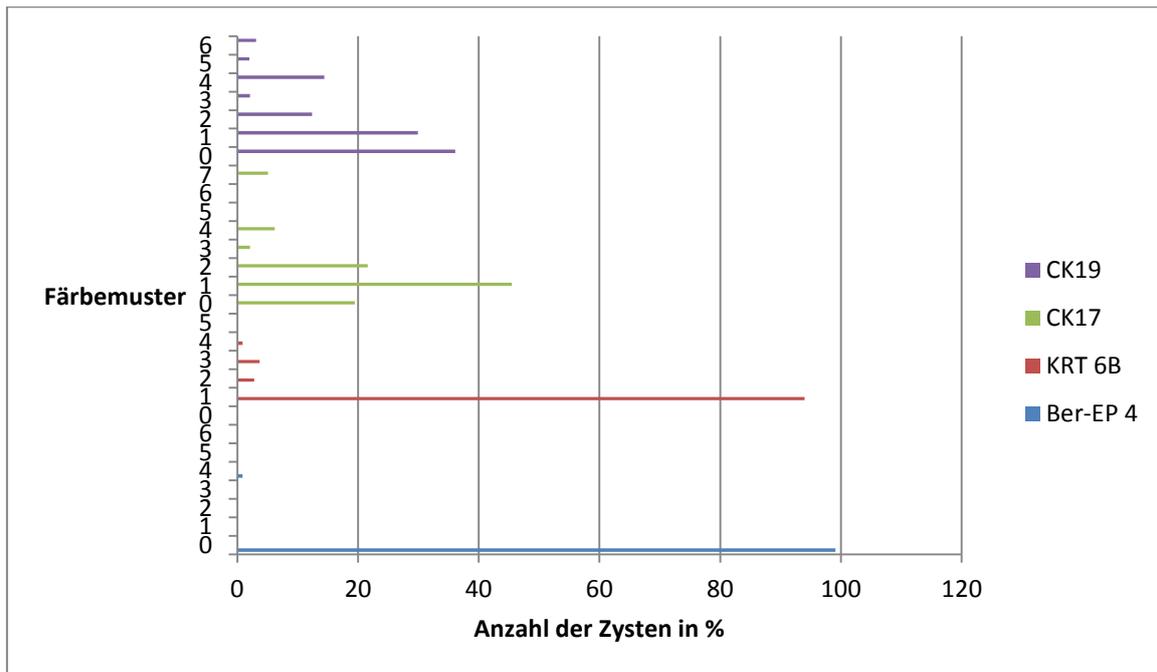


Abbildung 77: Expressionsprofile der radikulären Zyste hinsichtlich der Antikörper Ber-EP4, KRT 6B, CK17 und CK 19

(X- Achse Anzahl der Zysten in %, Y-Achse Färbemusterverteilung)

Blau: 0= Ber-EP4 neg, 1= zytoplasmamembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4, 2= zytoplasmamembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4, 3= zytoplasmamebranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4, 4= zytoplasmamembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4, 5= zytoplasmamembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4, 6= zytoplasmatisch und zytoplasmamembranständig basal positiv für Ber-EP4,

Rot: 0= KRT 6B neg, 1= positiv für KRT 6B in gleichmäßiger Intensität des gesamten Epithels, 2= positiv für KRT 6B aber basal in schwächere Intensität bezogen auf Gesamtfärbung, 3= positiv für KRT 6B aber inhomogen in der Ausprägung, 4= KRT 6B basal in höherer Intensität als restliches Epithel, 5= Basaliom/Ameloblastom gleichmäßige Intensität, komplettes Epithel aber insgesamt schwächer als bei Zysten, in ausgereiften Epithel Arealen intensiver,

Grün: Achse 0= neg für CK17, 1= superfiziell pos für CK17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK17, 3= basal pos für CK17, 4= positiv für CK17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK17 pos im gesamten Epithel, 6= CK17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt, 7= CK17 pos superfiziell und basal,

Lila: 0= neg für CK19, 1= superfiziell pos für CK19, 2= superfiziell und mittig positiv für CK19, 3= basal pos für CK19, 4= positiv für CK19 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK19 pos im gesamten Epithel, 6= CK 19 pos superfiziell und basal)

99% (114 von 115 Fällen) der radikulären Zysten waren Ber-EP4 negativ. Eine radikuläre Zyste zeigte in 5% der superfiziellen Epithelzellen einen schwachen Nachweis für Ber-EP4.

Das Epithel aller radikulären Zysten war zu 100% mit dem Antikörper KRT 6B gefärbt. Bei 94% (99) der radikulären Zysten war die Färbeintensität über das Gesamtepithel betrachtet gleichmäßig. 2,8% (3) der radikulären Zysten wiesen eine schwächere Intensität in der Basalzellschicht auf, 0,9% der radikulären Zysten zeigten eine intensivere Ausprägung der Färbung in der Basalzellschicht bezogen auf das restliche Epithel. In 4 Fällen war die Intensität der Färbung inhomogen.

Von 97 untersuchten radikulären Zysten waren 19,5% (19) negativ für den Antikörper Zytokeratin-17 und 80,4% (78) positiv. Das Expressionsmuster unterschied sich in den verschiedenen Epithelschichten, wobei 45,4% (44) der radikulären Zysten nur superfiziell mit Zytokeratin-17 angefärbt waren, 21,6% (21) der radikulären Zysten superfiziell und in mittleren Epithelschichten, 2,1% (2) rein basal und 5,1% (5) basal und superfiziell. In 6,2% (6) der radikulären Zysten konnte eine diffuse, alle Epithelschichten betreffende Zytokeratin-17-Färbung festgestellt werden.

36,1% (35) der radikulären Zysten waren negativ für Zytokeratin-19 und 2% (2) der radikulären Zysten komplett zu 100% positiv. Eine superfizielle Färbung zeigten 29,9% (29) der radikulären Zysten, bei 12,4% (12) der Fälle waren die superfiziellen und mittleren Epithelschichten angefärbt und bei 2% (2) der Fällen nur die Basalen. Eine kombiniert superfizielle und basale Färbung mit

Zytokeratin-19 kam in 3,1% (3) der Fälle vor. Ein Antikörpernachweis diffus über alle Epithelschichten verteilt gelang in 14,4% (14) der Zysten.

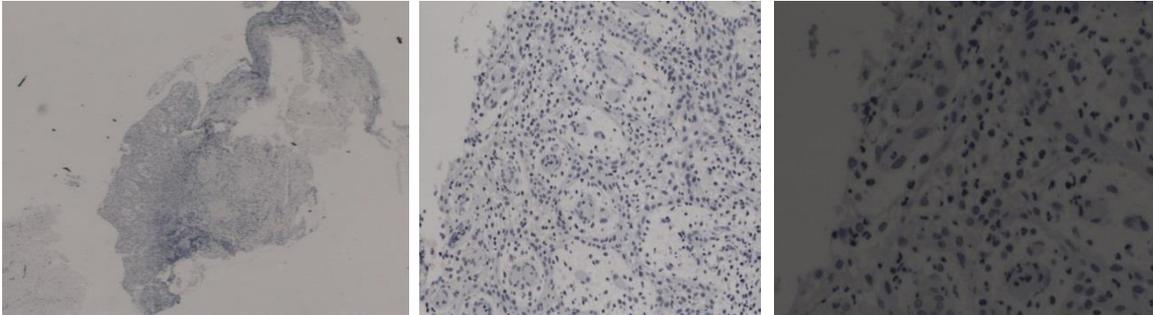
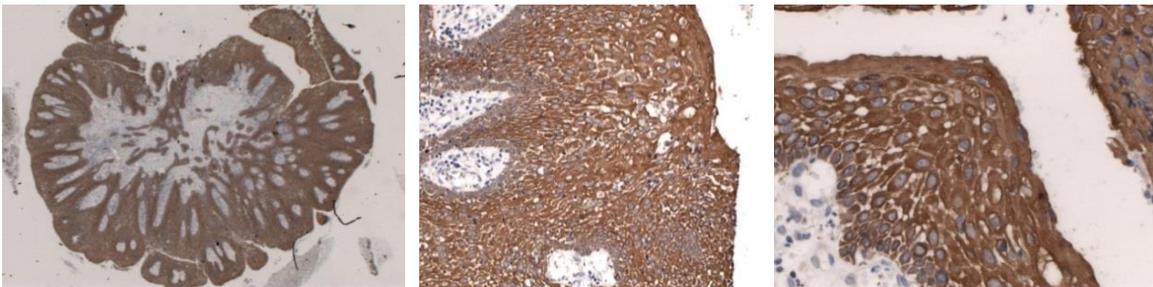
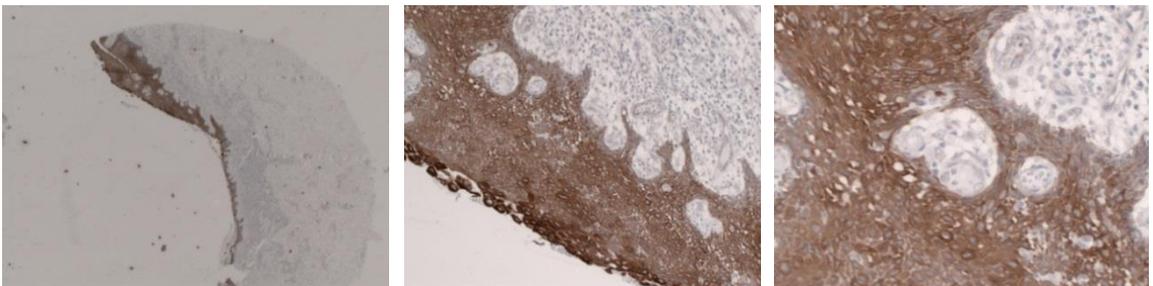


Abbildung 78: Radikuläre Zyste, Ber- EP4- Färbung, 2,5-fache, 20-fache, 40-fache



Vergrößerung

Abbildung 79: Radikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 1, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache



Vergrößerung

Abbildung 80: Radikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 2, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache
Vergrößerung

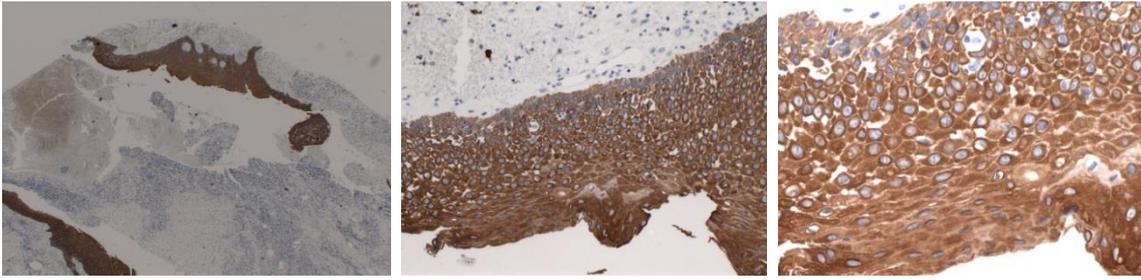


Abbildung 81: Radikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 3, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

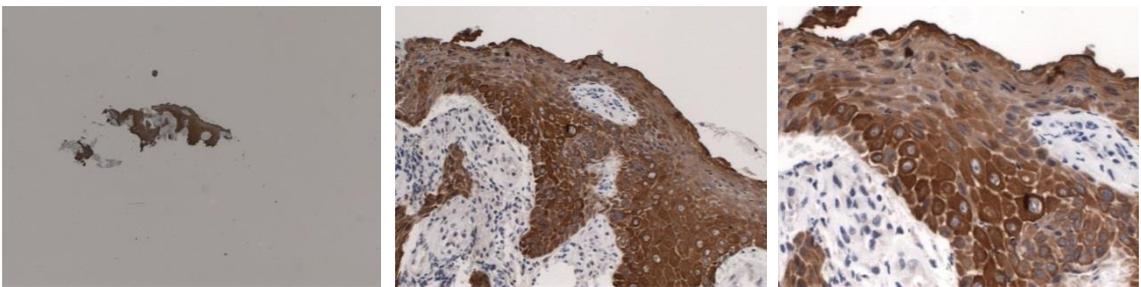


Abbildung 82: Radikuläre Zyste, KRT 6B-Färbemuster 4, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

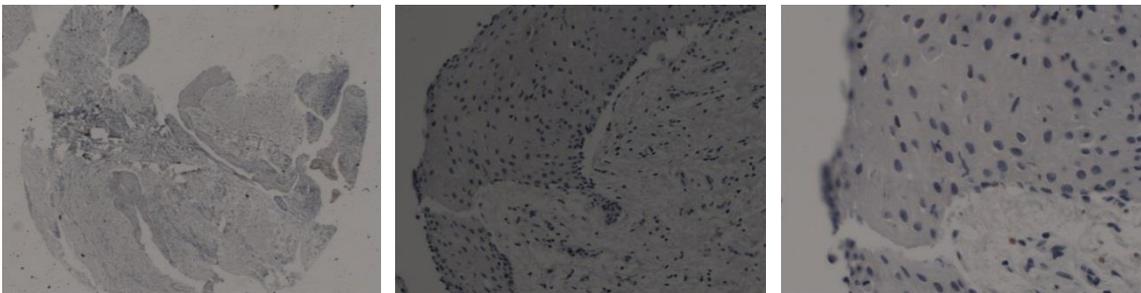


Abbildung 83: Radikuläre Zyste CK-17-Färbemuster 0, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

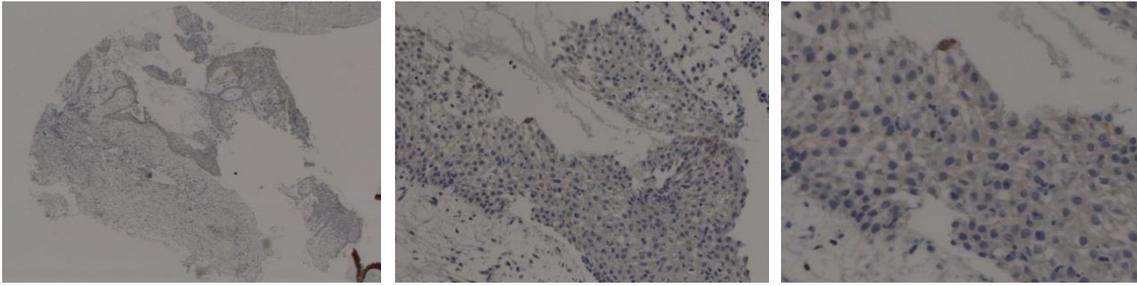


Abbildung 84: Radikuläre Zyste, CK-17-Färbemuster 1, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

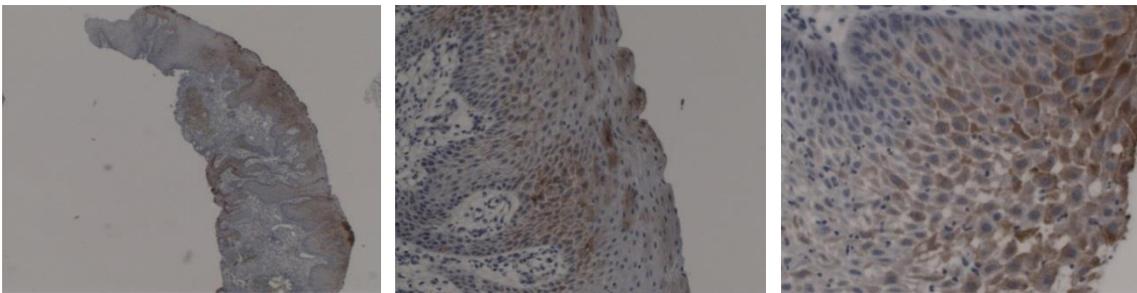


Abbildung 85: Radikuläre Zyste, CK-17-Färbemuster 2, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

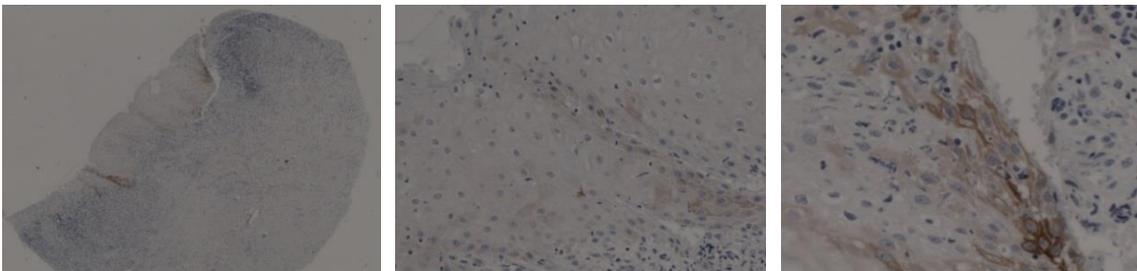


Abbildung 86: Radikuläre Zyste, CK-17-Färbemuster 3, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

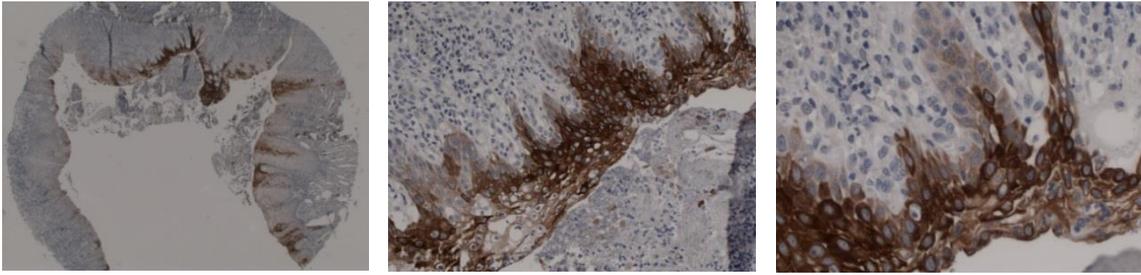


Abbildung 87: Radikuläre Zyste, CK-17-Färbemuster 4, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

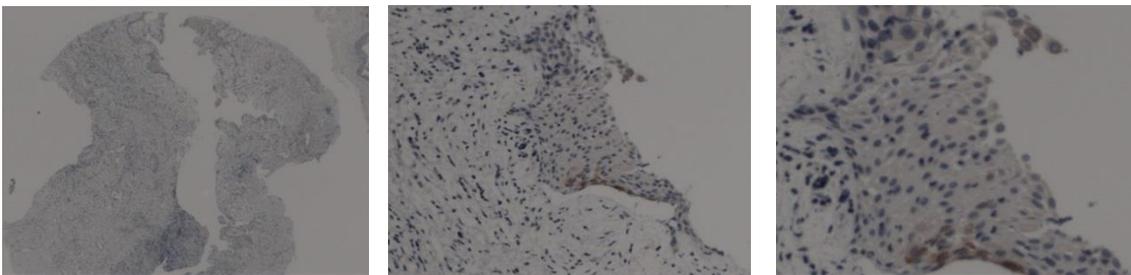


Abbildung 88: Radikuläre Zyste, CK-17-Färbemuster 1,3, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

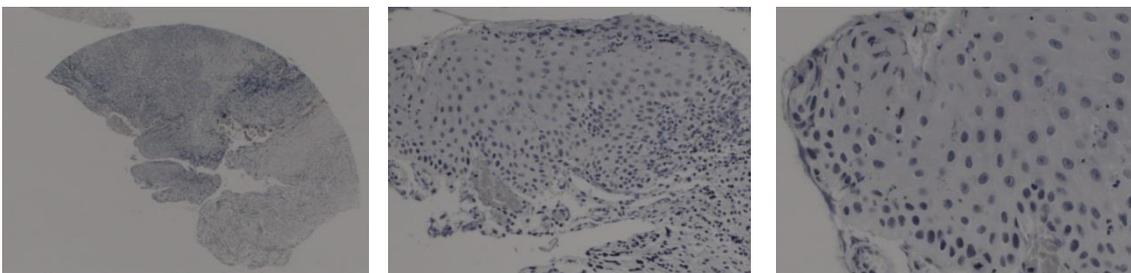


Abbildung 89: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 0, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

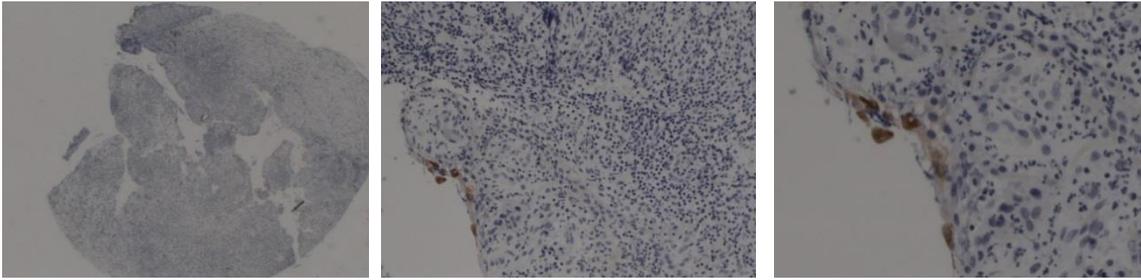


Abbildung 90: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 1, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

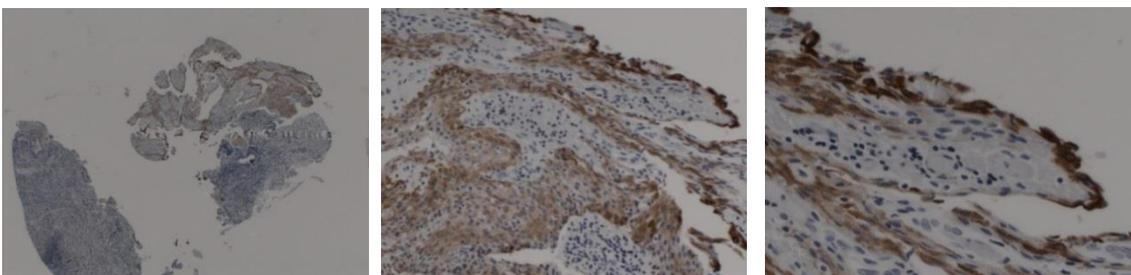


Abbildung 91: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 2, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung



Abbildung 92: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 3, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

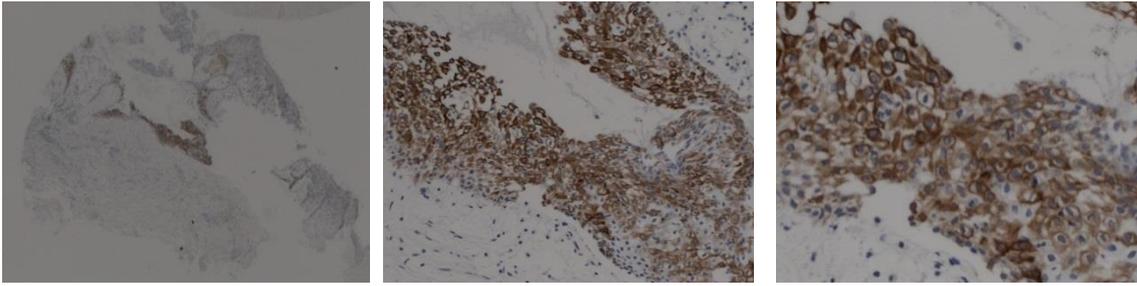


Abbildung 93: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 4, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

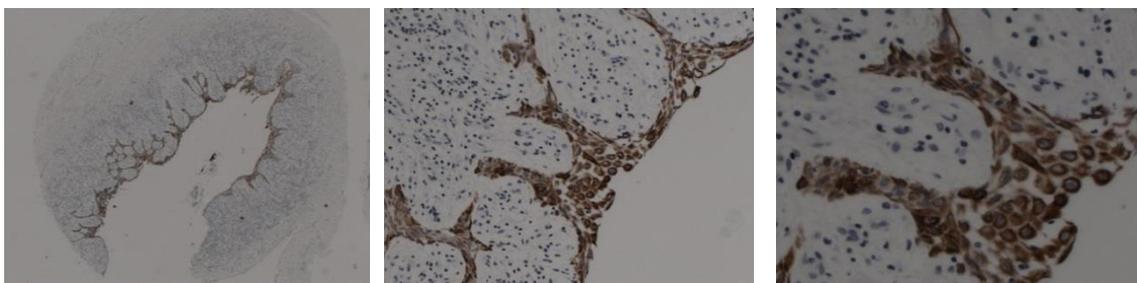


Abbildung 94: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 5, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

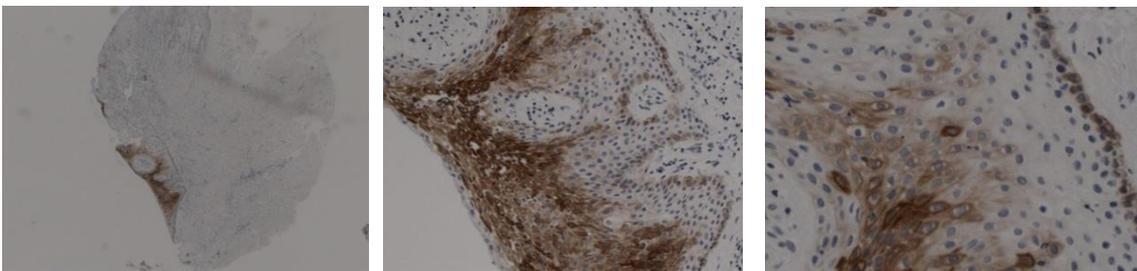


Abbildung 95: Radikuläre Zyste, CK-19-Färbemuster 1,3, 2,5-fache, 20-fache und 40-fache Vergrößerung

3.7.4 Das Ameloblastom

Betrachtet man alle Ameloblastome hinsichtlich ihrer Expressionsmuster bei der Antikörperfärbung mit Ber-EP4, KRT 6B, Zytokeratin-17 und Zytokeratin-19, erhält man folgendes Ergebnis:

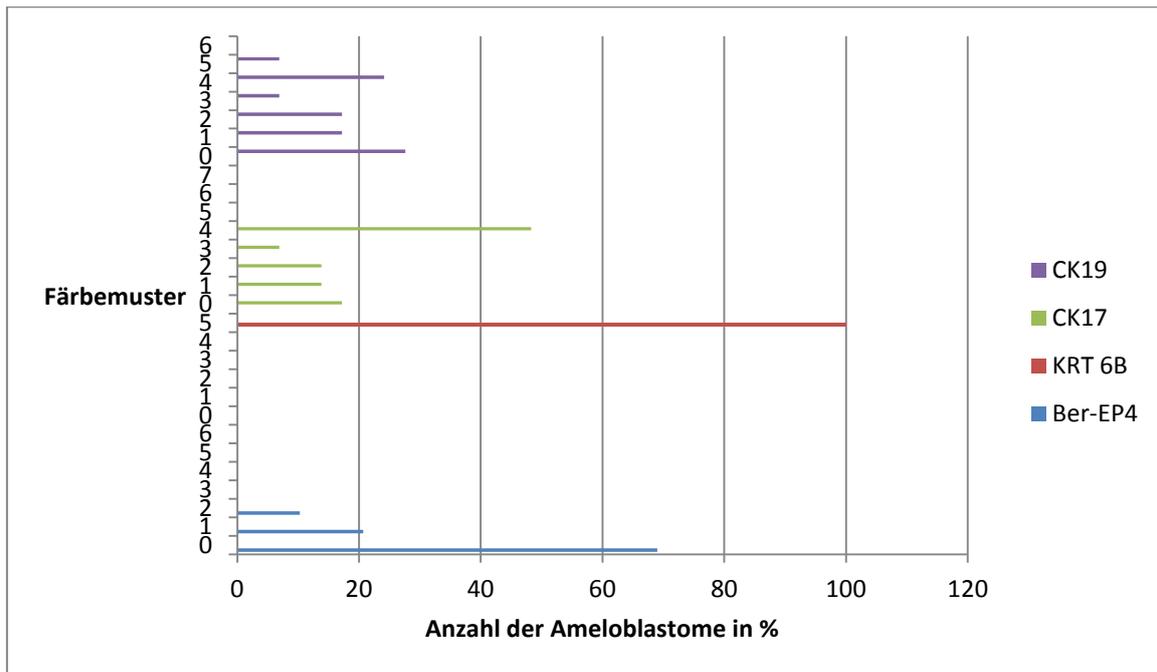


Abbildung 96: Expressionsprofil der Ameloblastome hinsichtlich der Antikörper Ber-EP4, KRT 6B, CK17 und CK19

(X- Achse Anzahl der Ameloblastome in %, Y-Achse Färbemusterverteilung)

Blau: 0= Ber-EP4 neg, 1= zytoplasmamembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4, 2= zytoplasmamembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4, 3= zytoplasmamebranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4, 4= zytoplasmamembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4, 5= zytoplasmamembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4, 6= zytoplasmatisch und zytoplasmamembranständig basal positiv für Ber-EP4,

Rot: 0= KRT 6B neg, 1= positiv für KRT 6B in gleichmäßiger Intensität des gesamten Epithels, 2= positiv für KRT 6B, aber basal in schwächere Intensität bezogen auf Gesamtfärbung, 3= positiv für KRT 6B, aber inhomogen in der Ausprägung, 4= KRT 6B basal in höherer Intensität als restliches Epithel, 5= Basaliom/Ameloblastom gleichmäßige Intensität, komplettes Epithel aber insgesamt schwächer als bei Zysten, in ausgereiften Epithel Arealen intensiver,

Grün: Achse 0= neg für CK17, 1= superfiziell pos für CK17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK17, 3= basal pos für CK17, 4= positiv für CK17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK17 pos im gesamten Epithel, 6= CK17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt, 7= CK 17 pos in superfiziellen und basalen Epithelschichten,

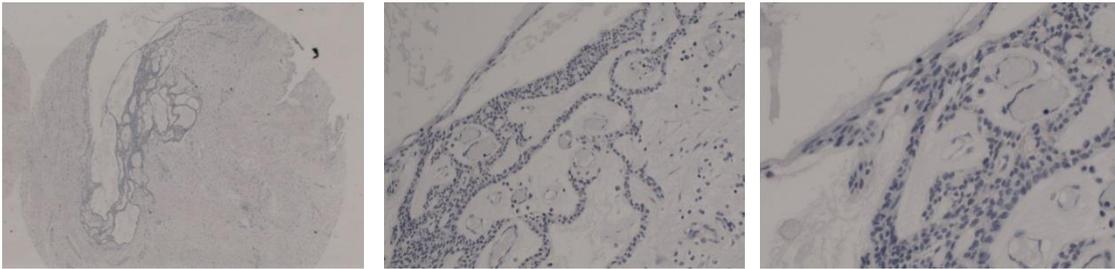
Lila: 0= neg für CK19, 1= superfiziell pos für CK19, 2= superfiziell und mittig positiv für CK19, 3= basal pos für CK19, 4= positiv für CK19 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK19 pos im gesamten Epithel, 6= CK 19 pos in superfiziellen und basalen Zellschichten)

In 69% (20 der 29) der Ameloblastome konnte kein Ber-EP4-Antikörper nachgewiesen werden. 20,6% (6 Fälle) der Ameloblastome waren schwach positiv für Ber-EP4 in ihren basalen/parabasalen Zellschichten, 10,4% (3) der Ameloblastome mittelstark.

In allen 29 Ameloblastomen war das Antigen KRT 6B zu 100% nachweisbar. Die Färbung hatte eine gleichmäßige Intensität und entsprach der Stärke der abgeschwächten Basalzellschicht des keratozystisch odontogenen Tumors.

17,2% (5) der 29 Ameloblastome wiesen keine Antikörperfärbung mit Zytokeratin-17 auf. 13,8% (4) der Ameloblastome waren superfiziell gefärbt, 13,8% (4) superfiziell und in den mittleren Epithelschichten und 6,8% (2) in der Basalzellschicht. 48,3% (14) der Ameloblastome wiesen eine diffuse oder partielle Positivität für Zytokeratin-17 in allen Epithelschichten auf.

Die superfizielle Färbung der Ameloblastomstränge mit dem Antikörper Zytokeratin-19 wurde in 6,9% (2) der Tumoren in weniger als 1% der Epithelzellen und in 10,3% (3) der Tumoren in jeweils 1%, 5% und 10% der Ameloblastomstränge nachgewiesen. Die Antikörperfärbung in superfiziellen und mittleren Zellschichten kam in 6,9% (2) der Ameloblastome in 10% der Zellen und in 10,3% (3) der Ameloblastome in 50% der Zellen bezogen auf das ganze Tumorepithel vor. Eine Färbung im basalen Epithelbereich kam in 6,9% (2) der Fälle in etwa der Hälfte des Epithels vor. Eine diffuse, das ganze Epithel betreffende Färbung konnte in 24,1% (7) der Ameloblastome nachgewiesen werden, wobei in jeweils 10,3% (3) der Fälle 50% und 75% des Epithels



betroffen waren und in 3,4% (1Fall) 5% bezogen auf das gesamte Tumorepithel.

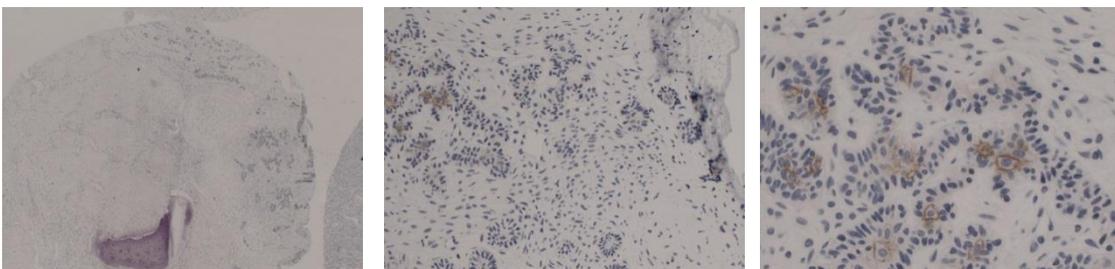


Abbildung 97: Ameloblastom, Ber- EP4-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

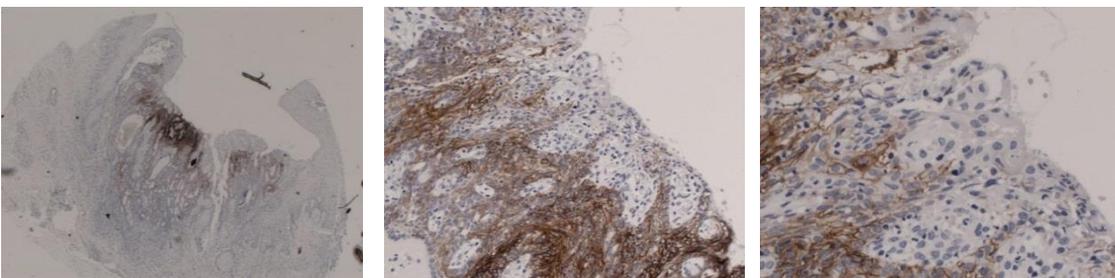


Abbildung 98: Ameloblastom, Ber- EP4-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

Abbildung 99: Ameloblastom, Ber- EP4-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

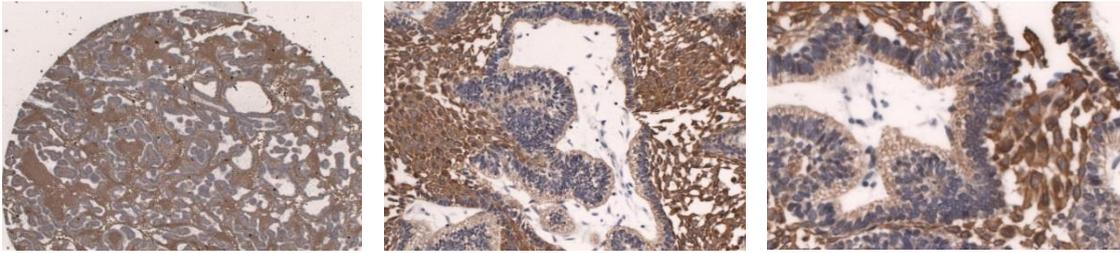


Abbildung 100: Ameloblastom, KRT 6B-Färbemuster 5 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

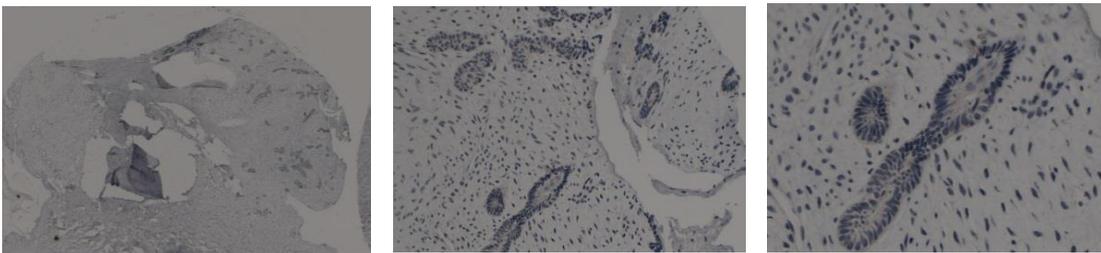


Abbildung 101: Ameloblastom, CK17-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

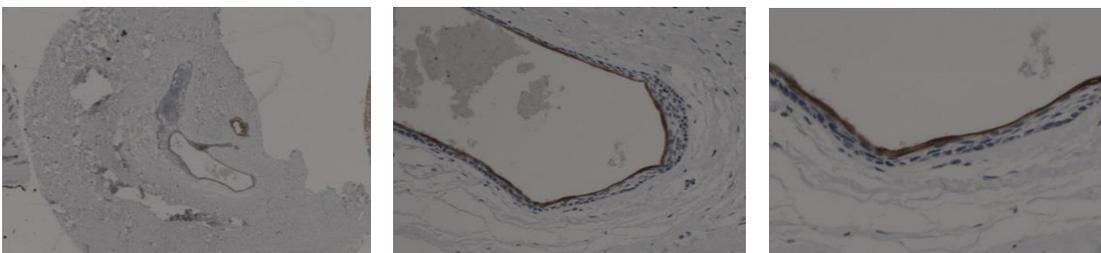


Abbildung 102: Ameloblastom, CK17-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

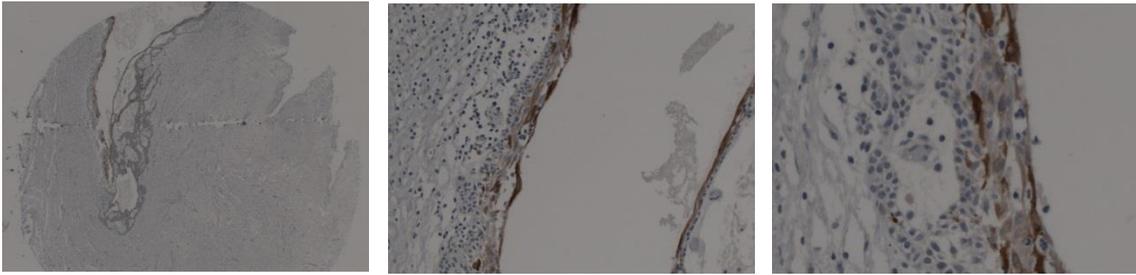


Abbildung 103: Ameloblastom, CK17-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

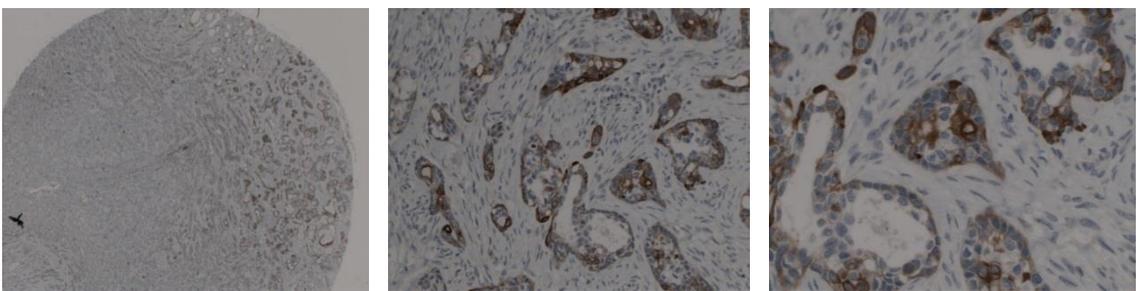


Abbildung 104: Ameloblastom, CK17-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

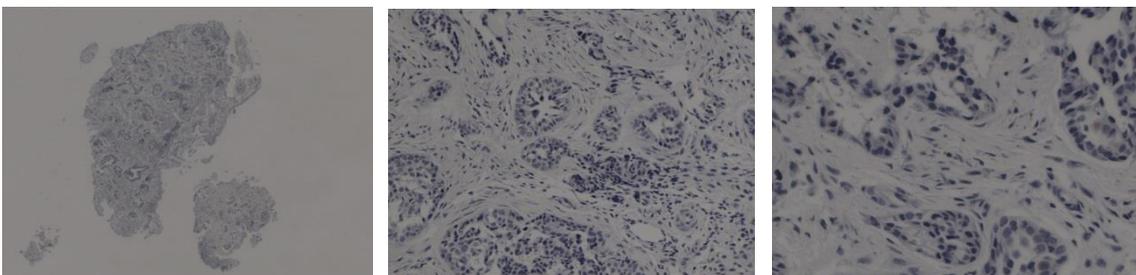


Abbildung 105: Ameloblastom, CK19-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

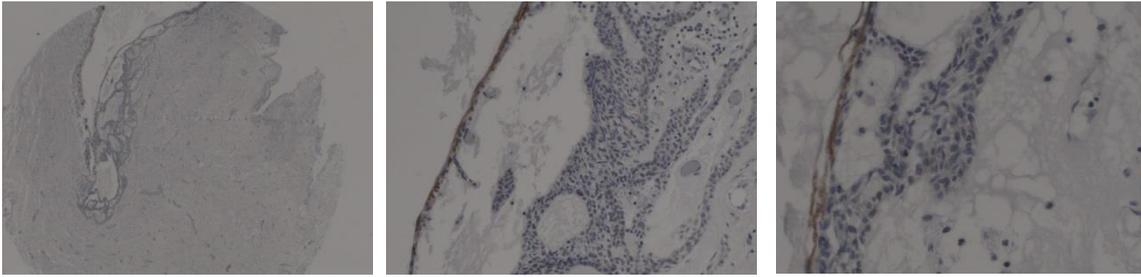


Abbildung 106: Ameloblastom, CK19-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

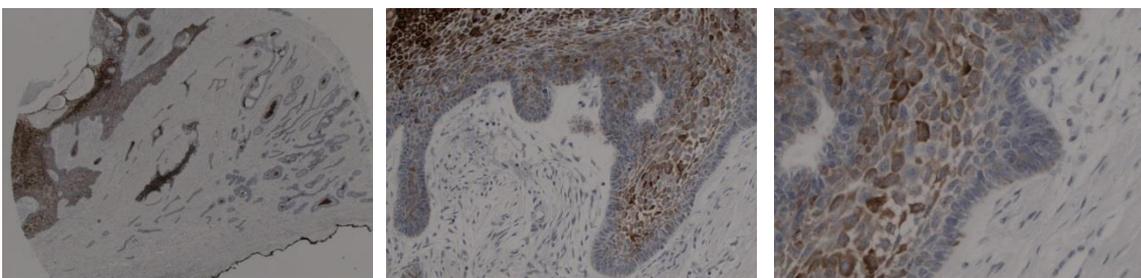


Abbildung 107: Ameloblastom, CK19-Färbemuster 2 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

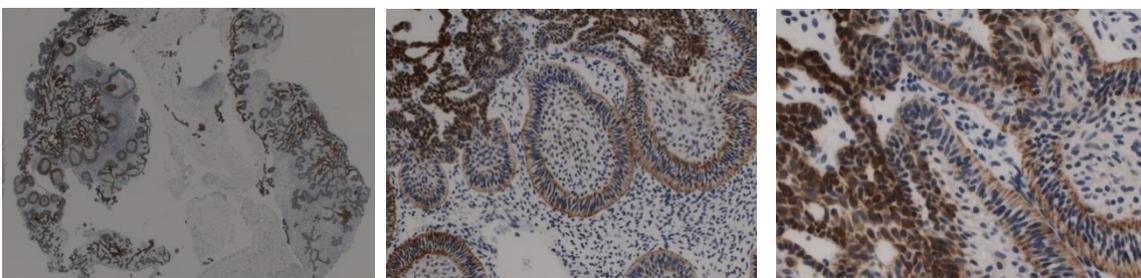


Abbildung 108: Ameloblastom, CK19-Färbemuster 3 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

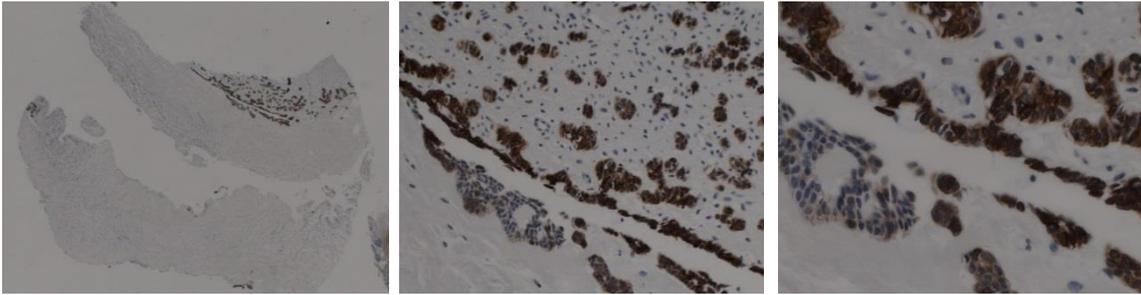


Abbildung 109: Ameloblastom, CK19-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

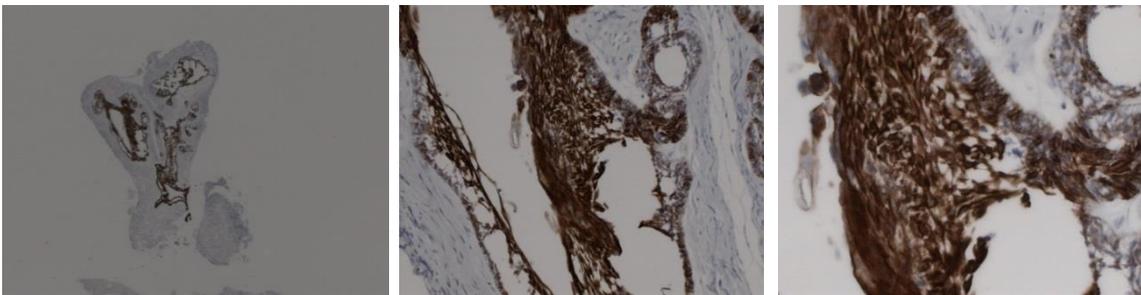


Abbildung 110: Ameloblastom, CK19-Färbemuster 4 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

3.7.5 Das Basaliom

Betrachtet man alle Basaliome hinsichtlich ihrer Expressionsmuster bei der Antikörperfärbung mit Ber-EP4, KRT 6B, Zytokeratin-17 und Zytokeratin-19 erhält man folgendes Ergebnis:

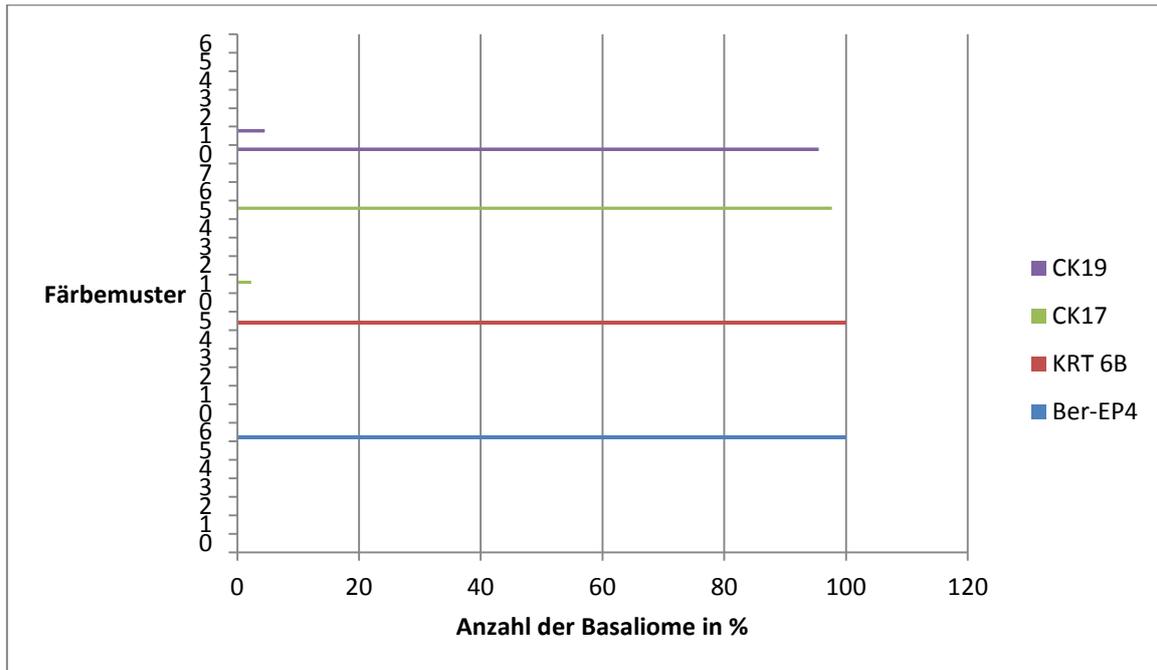


Abbildung 111: Expressionsprofil der Basaliome hinsichtlich der Antikörper Ber-EP4, KRT 6B, CK17 und CK 19

(X- Achse der Basaliome in %, Y-Achse Färbemusterverteilung)

Blau: 0= Ber-EP4 neg, 1= zytoplasmamembranständig basal/parabasal schwach positiv für Ber-EP4, 2= zytoplasmamembranständig basal/parabasal mittelstark positiv für Ber-EP4, 3= zytoplasmamembranständig basal/parabasal stark positiv für Ber-EP4, 4= zytoplasmamembranständig superfiziell schwach positiv für Ber-EP4, 5= zytoplasmamembranständig superfiziell stark positiv für Ber-EP4, 6= zytoplasmatisch und zytoplasmamembranständig basal positiv für Ber-EP4,

Rot: 0= KRT 6B neg, 1= positiv für KRT 6B in gleichmäßiger Intensität des gesamten Epithels, 2= positiv für KRT 6B aber basal in schwächere Intensität bezogen auf Gesamtfärbung, 3= positiv für KRT 6B, aber inhomogen in der Ausprägung, 4= KRT 6B basal in höherer Intensität als restliches Epithel, 5= Basaliom/Ameloblastom gleichmäßige Intensität, komplettes Epithel aber insgesamt schwächer als bei Zysten, in ausgereiften Epithel Arealen intensiver,

Grün: Achse 0= neg für CK17, 1= superfiziell pos für CK17, 2= superfiziell und mittig positiv für CK17, 3= basal pos für CK17, 4= positiv für CK17 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK17 pos im gesamten Epithel, 6= CK17 pos in allen Epithelschichten, teilweise abgeschwächt, 7= CK 17 pos superfiziell und basal,

Lila: 0= neg für CK19, 1= superfiziell pos für CK19, 2= superfiziell und mittig positiv für CK19, 3= basal pos für CK19, 4= positiv für CK19 diffus oder partiell in allen Epithelschichten, 5= CK19 pos im gesamten Epithel, 6= CK 19 pos in superfiziellen und basalen Epithelschichten)

100% (44 von 44) der Basaliome waren zytoplasmatisch und zytoplasmamembranständig positiv für Ber-EP4 und zu 100% mit dem Antikörper KRT 6B gefärbt. Die Färbung war gleichmäßig und entsprach in ihrer Intensität der abgeschwächten Basalzellschicht des keratozystisch odontogenen Tumors.

Alle 44 Basaliome zeigten eine Färbung mit dem Antikörper Zytokeratin-17. Das Epithel von 97,7 % (43) der Basaliome war zu 100% mit Zytokeratin-17 gefärbt. 2,3% (1) der Tumoren wiesen eine Abschwächung in der Intensität in der superfiziellen Zellschicht auf.

Für den Antikörper Zytokeratin-19 waren 95,5% (42) der Basaliome negativ. Die anderen 4,5% (2) der Basaliome wiesen eine superfizielle Positivität in weniger als 1% der Tumorzellen auf.

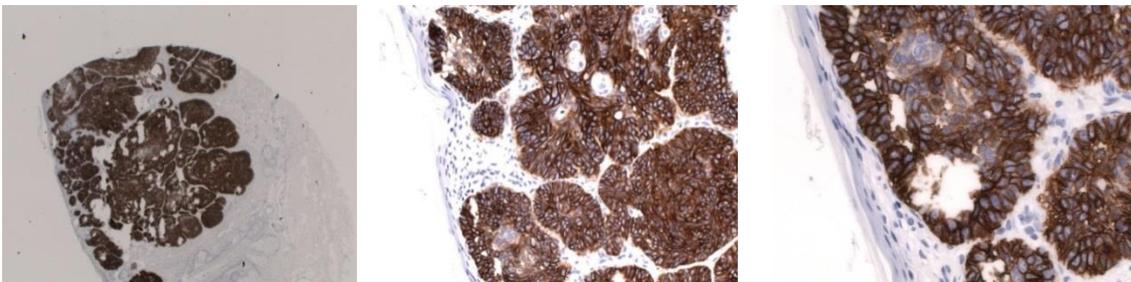


Abbildung 112: Basaliom, Ber- EP4-Färbemuster 6 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

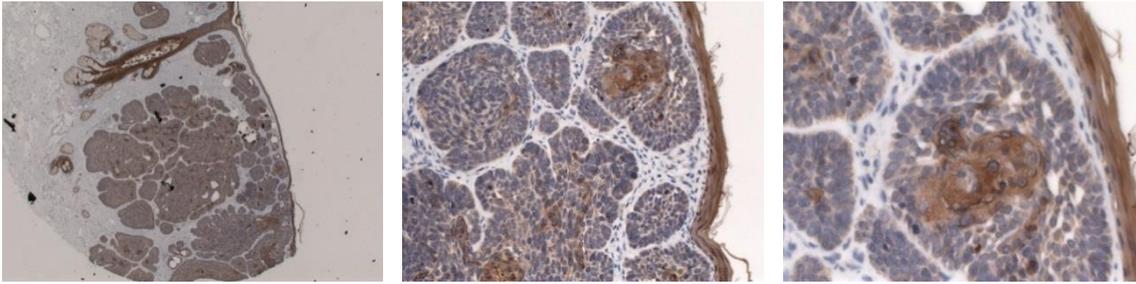


Abbildung 113: Basaliom, KRT 6B-Färbemuster 5 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

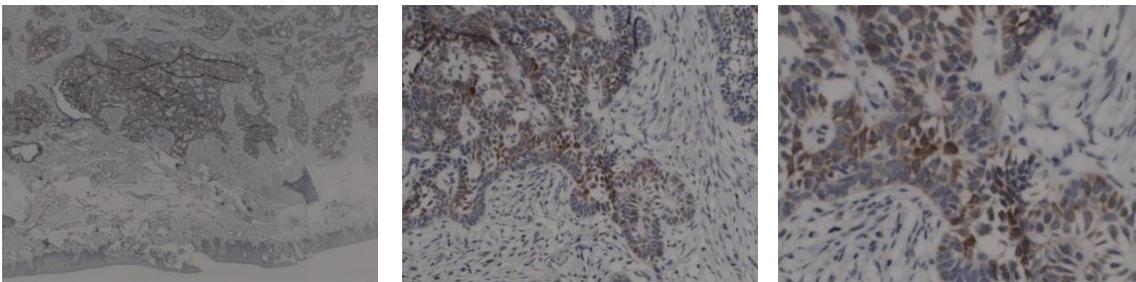


Abbildung 114: Basaliom, CK17-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

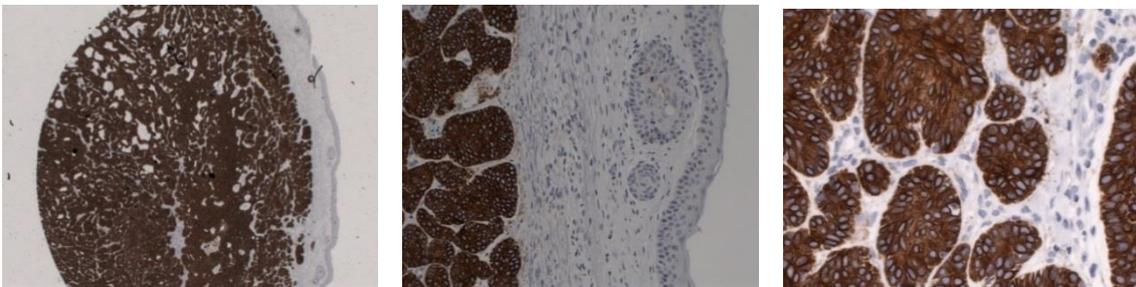


Abbildung 115: Basaliom, CK17-Färbemuster 5 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

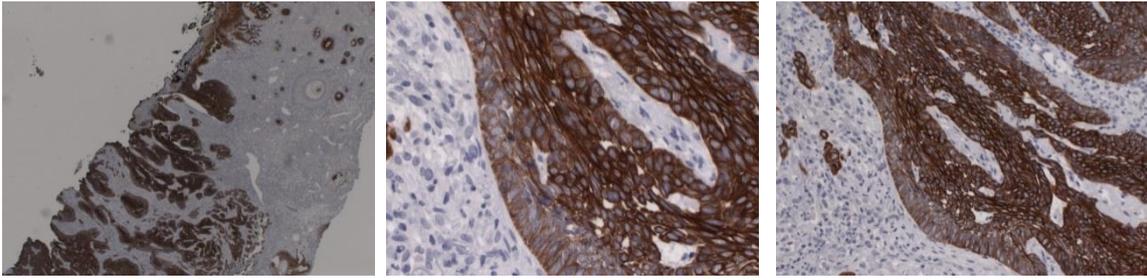


Abbildung 116: Basaliom, CK17-Färbemuster 6 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

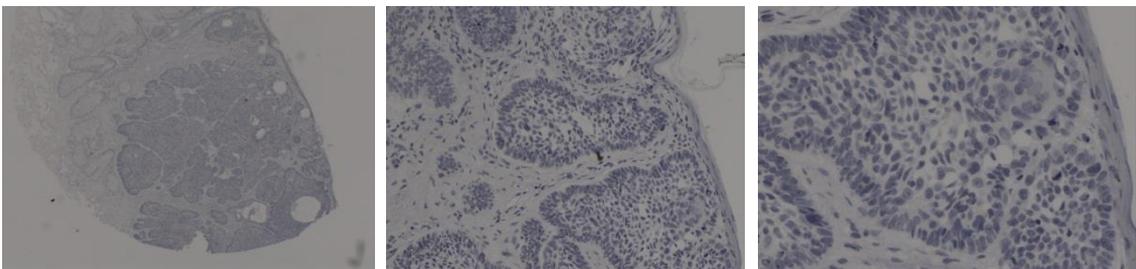


Abbildung 117: Basaliom, CK19-Färbemuster 0 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

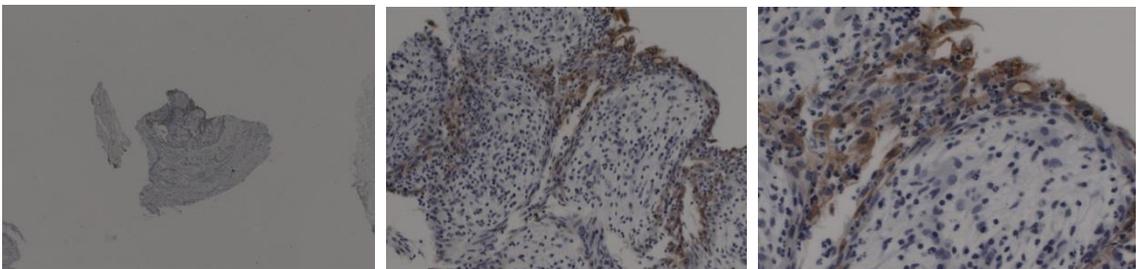


Abbildung 118: Basaliom, CK19-Färbemuster 1 in 2,5-facher, 20-facher und 40-facher Vergrößerung

3.7.6 Übersicht

Zystenart	Radikuläre Zyste	Follikuläre Zyste	KZOT	
Ursprung	Hertwig'sche Epithelscheide Malassezsche Epithelinseln	Schmelzepithel	Malassezsche Epithelnester	
Lokalisation	Wurzelspitze	Hauptsächlich Unterkiefer	Hauptsächlich Unterkiefer	
Epitheliale Auskleidung	Plattenepithel	Plattenepithel, teilweise mit Verhornung	Verhornendes Plattenepithel	
Histologische Merkmale	Reteleisten Entzündungszellen Vielschichtiges Plattenepithel	flaches Epithel, aufgelockertes Stroma, wirre Kernachsen,	Parakeratose, Palisadenartige Basalzellschicht, flaches Epithel,	
Antikörperfärbung	Ber-EP4	-	-	+
	CK19	+	+	-
	CK17	+	+	+
	KRT 6B	+	+	+

Tabelle 7: Übersicht nach Riede und Wehner ergänzt

3.8 Die Färbung mit GLI, Perlecan und Ulex

Die Antikörper GLI, Perlecan und Ulex führten trotz unterschiedlicher Vorbehandlungen (Siehe Kapitel 2.2.3.2) zu keinem auswertbaren Färbeargebnis, da die Antikörperfärbung als unspezifisch gewertet werden musste. Die in der Literatur beschriebenen Färbemethoden führten selbst im für den jeweiligen Antikörper spezifischen Gewebe zu keinem auswertbaren Ergebnis.

KAPITEL 4 DISKUSSION

Bei der Diagnostik von odontogenen Zysten kommt es auf den verschiedenen Ebenen der Diagnostik, nämlich der Klinik, der Radiologie und der Pathohistologie immer wieder zu unterschiedlichen Diagnosen. In unserer Studie weicht die klinische Diagnose in 39,3% der Fälle von der histologischen Diagnose ab. In 18,3% der Fälle wurde keine klinische Diagnose gestellt.

In Studien von Ngeow et al (2000) schienen klinisch 11,5% der untersuchten odontogenen Zysten follikuläre Zysten zu sein, histologisch handelte es sich jedoch um keratozystische odontogene Tumoren (Ngeow, Zain, Yeo, & Chai 2000). Auch in der Arbeit von Vuhahula et al. wurde von der Gefahr berichtet, dass keratozystische odontogene Tumoren, die an der für follikuläre Zysten typischen Stelle im Kiefer lokalisiert sind, eben falsch als follikuläre Zysten diagnostiziert werden und daraufhin eine fehlerhafte Therapie und damit eine Gefahr der Rezidivierung erfolgt (Vuhahula et al. 1993). Der Grund für die schwierige Differentialdiagnose zwischen follikulären Zysten und keratozystischen odontogenen Tumoren könnte darin liegen, dass sowohl der keratozystische odontogene Tumor als auch die follikuläre Zyste ihren Ursprung in der Zahnentwicklung hat und beide des Öfteren in ihrem Ausbreitungsprozess einen impaktierten Zahn umgeben (Haring & Van Dis 1988). Im Gegensatz zu den follikulären Zysten sind jedoch die keratozystischen odontogenen Tumoren durch einen bindegewebigen Wall vom Zahn getrennt (Browne 1971).

Auch im Falle von radikulären Zysten sind schon gehäuft Fehldiagnosen aufgetreten, weil keratozystische odontogene Tumoren manchmal einen Bezug zur Wurzelspitze eines Zahnes haben können (Brannon 1977, Chuong, Donoff, & Guralnick 1982).

Eine weitere Quelle für Fehldiagnosen sind insbesondere Entzündungsreaktionen, welche per se zu einer Veränderung des Epithelaufbaus der Zystenwand, der in der HE-Färbung beurteilt wird, und zu

einem daran angepassten Immunprofil bei den Keratinfärbungen (MacDonald & Fletcher 1989, Mackenzie & Gao 1993) und bei Ber-EP4 führen.

In dieser Studie wurden Multiblöcke (Tissue Mikroarrays, TMAs) erstellt, um mit einer übersichtlichen, schnellen und kostengünstigen Methode die große Anzahl an Fällen auswerten zu können. In unserer Studie der radikulären Zyste (n = 117), der follikulären Zyste (n = 147), des keratozystischen odontogenen Tumors (n = 128), des Basalzellkarzinoms (n = 44) und des Ameloblastoms (n = 29) lag die Relevanz der immunhistologischen Untersuchung beim Zystenepithel. Der Großteil des Gewebes, wie Zystenstroma und gefüllte Zystenlumina, hatte für die immunhistologische Auswertung keine Bedeutung. Beim Ausstanzen der Gewebezyylinder aus dem Paraffinblock wurde deshalb darauf geachtet, insbesondere Zystenepithel in die TMAs einzustellen. TMAs erlauben eine simultane histologische Testung von mehreren Geweben auf einem Objektträger, wodurch sich erhebliche Mengen an Antikörpern und damit an Geld einsparen lassen. Ferner wird die Studie durch die Verwendung von TMAs vergleichbarer, da die Abweichungen, die durch minimal unterschiedliche Vorbehandlungen in der Immunhistologie auftreten können, minimiert werden (Battifora 1986). Vor allem in der Tumorforschung werden TMAs eingesetzt, um bis zu 1000 Biopsien auf einem Objektträger zu untersuchen. Diese TMAs werden jedoch im Gegensatz zu unserer manuellen Methode zumeist mit einer Maschine, einem sogenannten Tissue Arrayer erstellt: Hierbei wird in einem Paraffinblock, dem sogenannten Rezeptorblock, zuerst ein Loch ausgestanzt, in das dann die Paraffingewebestanzbiopsie eingeführt wird (Kononen et al. 1998). Die molekulare Analyse des Gewebes kann durch TMAs somit viel schneller erfolgen als auf herkömmliche Weise mit einzelnen Schnittpräparaten. Ferner kann der TMA oftmals mit einem Mikrotom geschnitten werden und mehr als 300 Serienschnitte für eine Vielzahl von Testungen ergeben. Ein weiterer Vorteil von TMAs ist der Erhalt des Ursprungsgewebes, denn je kleiner die Stanzung ausfällt, desto mehr Gewebe bleibt vom ursprünglichen Paraffinblock erhalten (Nocito, Kononen, Kallioniemi, & Sauter 2001). Die im Rahmen dieser Studie erstellten TMAs reichten bei weitem aus, um die benötigte Zahl an Schnitten für die immunhistochemischen Untersuchungen zu

erstellen, und stehen für weitergehende Untersuchungen wie z.B. für die Schnitterstellung zur molekularen Analyse des PTCH-Gens zur Verfügung. Die Menge an angeschnittenem Epithel pro Fall in den TMAs reichte zumeist zur differentialdiagnostischen Zystenabklärung aus.

Die Erstellung von Immunprofilen insbesondere unter Einbeziehung der Zytokeratine stellt in der Pathologie ein gängiges Verfahren zur Klärung der Histogenese von Tumoren und Zysten unterschiedlicher Organe dar. Auch für die Zysten des Kiefers hat man bereits versucht, Immunprofile zu erarbeiten, die eine eindeutige Einordnung der verschiedenen Zysten zulassen (Heyden et al. 1992) sollen.

In mehreren Studien wurden unterschiedliche Zytokeratine zur Differenzierung von odontogenen Zysten herangezogen, diese waren aber meistens nicht wegweisend zur Diagnosestellung. Shear hat in einem Review 2001 die in verschiedenen Studien erhobenen Immunprofile der einzelnen Kieferzysten zusammengestellt.

Autor	KZOT	Follikuläre Zyste	Radikuläre Zyste
Hormia et al 1987	CK 7,17,19 in allen Epithelschichten, CK 13,16 in suprabasalen Epithelschichten, CK 8,18,19 in basalen und suprabasalen Epithelschichten CK 1,9,10,11 negativ	CK 7,17,19 in allen Epithelschichten, CK 8,13,16,18,19 heterogen im Epithel verteilt, wenige Positive Fälle für CK 1,9,10,11	CK 7,17,19 in allen Epithelschichten, CK 8,13,16,8,9 heterogen verteilt. CK 1,9,10/11 nicht vorhanden
Morgan PR et al 1987	CK 19 in allen Epithelschichten	CK 19 in allen Epithelschichten	Nicht durchgeführt

Autor	KZOT	Follikuläre Zyste	Radikuläre Zyste
	CK 10 superfiziell		
Matthews et al 1988	CK 19 in allen Schichten, CK 10/11 suprabasal CK 7,8,18 kein Nachweis, CK 13,13/16 pos CEA und EMA fleckig gefärbt	CK 19 in allen Schichten, CK 10/11 schwach exprimiert CK 7,8,18 kein Nachweis CK 13,13/16 pos CEA und EMA pos	CK 19 in allen Schichten CK 10/11 schwach exprimiert CK 7 in 3 Fällen, kein Nachweis von CK 8, 1Fall pos für CK 18 CK 13,13/16 pos CEA und EMA nicht konstant pos
Morgan et al 1988	CK 4,13,14, 19 ,1,10,16 in obersten Zellschichten	CK 4,13,14,19 pos	CK 4,13,14,19 pos
Howell et al 1988	CEA pos	-	Kein CEA Nachweis
Mac Donald and Fletcher 1989	LP34 pos	LP34 pos	Nicht durchgeführt
Matthews and Browne 1990 and Smith and Matthews 1991	Nachweis von Mac Donald and Fletcher konnte nicht erfolgen		
Gao et al 1989	CK 19 in suprabasalen und basalen Epithelschichten CK 3 und CK 13 suprabasal	CK 19 alle Epithelschichten CK 13 suprabasal	Nicht durchgeführt

Autor	KZOT	Follikuläre Zyste	Radikuläre Zyste
	CK 5 und CK 8 Basal CK 16 suprabasal CK 10 schwach		
Smith and Matthews 1991	CK5/8 stark pos CK6/18 stark pos CK1/10/11 stark pos CK13/16stark pos CK 7,8,18 schwach pos CK19 stark pos CK13,14,16 stark pos CEA und EMA schwach pos	CK5/8 stark pos CK 6/18 stark pos CK 10/11 neg CK 13/16 stark pos CK 19 stark pos CK 13,14 stark pos CK 16 schwach pos CEA und EMA mittelstark pos	CK 5/8 stark pos CK6/18 stark pos CK 10/11 neg CK 13/16 strak pos CK 19 stark pos CK 13,14,16 stark pos CEA und EMA mittelstark pos
Wagner et al 1999	CK 7,20 pos CK 19 neg	CK 7,19,20 pos	CK 7,19,20 pos
August et al 2000	CK 10 pos	CK 10 neg	CK10 neg
Meara et al 2000	CK 17 stark pos CK 13 oberflächliche Epithelschicht pos CK 18 neg	CK 17,13,18 schwache und variierende Reaktivität	nicht durchgeführt

Tabelle 8 Immunochemische Expression von Zytokeratinen und anderen Epithelzellmarkern im KZOT verglichen mit der follikulären und radikulären Zyste

aus: „The aggressive nature of the odontogenic keratocyst: Is it an benign cystic neoplasm? Part 3. Immunocytochemistry of cytokeratin and other epithelial cell markers“ (Shear 2002)

Schon allein diese kurze Übersicht macht deutlich, dass es bisher nicht möglich war, ein Zytokeratin oder eine Kombination aus Zytokeratinen zu finden, die eindeutig und konstant die jeweilige Zystenart definiert (Shear 2002).

Zytokeratin 5/6 kann in allen Zystenarten zu nahezu 100% in allen Schichten des Zystenepithels nachgewiesen werden (Smith et al. 1991).

Zytokeratin 7 (CK7) wurde laut Shuler und Shriever in KZOTs nachgewiesen, laut Matthews jedoch nicht (Matthews et al. 1988, Shuler & Shriver 1987). Andere Autoren konnten wiederum CK 7 in allen Kieferzysten nachweisen, was dazu führt, dass eine Zystendifferenzierung durch CK 7 nicht möglich ist (Hormia et al. 1987, Wagner, Filippi, Kirschner, & Dreyer 1999). Betrachtet man die Studienlage zur Expression von Zytokeratin 10 (CK10), so gelingt Hormia et al. kein Nachweis des Zytokeratin 10 in jeglicher Art von Kieferzysten (Hormia et al. 1987), Morgan et al. beschreiben die fehlende Expression von CK 10 bei follikulären und radikulären Zysten und sieht darin die Abgrenzung zum keratozystischen odontogenen Tumor, der CK10 exprimiert (Morgan et al. 1987). Auch in der Studie von Tsuneki et al. wird CK 10 als wichtiger Marker zur Zystendifferenzierung genannt, da ein Nachweis dieses Antikörpers nur bei keratozystischen odontogenen Tumoren und follikulären Zysten erfolgt und unterschiedlich ausgeprägt ist (Tsuneki et al. 2010). Widersprüchlich erscheint hier das Fazit von Hormia et al., dass durch die fehlende Ausprägung einer CK10 Färbung in keratozystischen odontogenen Tumoren davon ausgegangen werden kann, dass keine echte Keratinisierung stattfindet, da CK 10 ein Hinweis auf ausgereifte Keratinozyten ist und diese in KZOT bei fehlender CK 10 Ausprägung wohl nicht vorkommen (Hormia et al. 1987). Dafür wegweisend könnte auch die Aussage der neuen WHO Klassifikation sein, dass eine orthokeratinisierte Zyste kein keratozystischer odontogener Tumor ist (Kramer et al. 1992). CK 10 als spezifisches Antigen für geordnetes Epithel konnte in der Arbeit von Stoll et al. fokal nicht nur in KZOTs und follikulären Zysten, sondern

auch in radikulären Zysten nachgewiesen werden (Stoll et al. 2005). Grund dafür könnte sein, dass eine Metaplasie des Epithels unter anderem durch Entzündungsmediatoren ausgelöst wird, wodurch es zum Nachweis von CK 10 kommen kann (Morgan et al. 1987). Als Differenzierungsmarker zum Nachweis des Zystentyps kommt CK 10 somit aufgrund der sehr unterschiedlichen Datenlage in der Literatur nicht in Frage.

Zytokeratin 13 (CK 13) könnte zur Abgrenzung neoplastischer Läsionen dienen, da der Nachweis in keratozystischen odontogenen Tumoren und Ameloblastomen hauptsächlich im superfiziellen Epithelanteil erfolgt (Tsuneki et al. 2010) im Allgemeinen kann CK 13 jedoch in allen Zystenepithelien vorkommen, weshalb eine Differenzierung allein durch CK 13 nicht möglich ist (Hormia et al. 1987, Matthews et al. 1988).

Zytokeratin 17 (CK 17), (ein saures Typ I Zytokeratin, ist in der Differenzierung der Zystentypen wegweisend. Schon Tsuneki et al. und Hormia et al. beschreiben CK 17 als repräsentatives Zytokeratin zur Diagnose der KZOT, da es im gesamten Tumorepithel eindeutig bzw. sehr stark exprimiert wird. Auch in unserer Studie konnte ein CK 17-Nachweis in 100% der keratozystischen odontogenen Tumoren (n= 128) erfolgen wobei 91,4% (n= 117) CK 17 in allen Epithelschichten exprimierten; bei den restlichen Tumoren gelang der Nachweis nur fokal. Wie in der Studie von Hormia et al. erfolgte auch in unserer Arbeit ein Nachweis von CK 17 in 81,8% der follikulären Zysten und in 63,9% der radikulären Zysten, wobei sich das Expressionsmuster jedoch meist schon deutlich von dem des KZOT unterschied, da nur einzelne Epithelanteile gefärbt waren. Nur in 3,6% der follikulären Zysten und in 2% der radikulären Zysten konnte CK 17 in 100% des Zystenepithels nachgewiesen werden. Auch Maera et al kamen zu ähnlichem Ergebnis und wiesen eine sporadische CK 17-Färbung in suprabasalen und superfiziellen Epithelschichten nach (Meara, Shah, Li, & Cunningham 1998). Dadurch wird eindeutig klar, dass es sich bei CK 17 um einen nützlichen Antikörper vor allem zur Differentialdiagnose des KZOT handelt.

Zytokeratin 19 (CK19), ein saures Intermediärfilament, konnte in unserer Studie in 74,2% (n=95) der keratozystischen odontogenen Tumoren nicht nachgewiesen werden. Alle anderen KZOTs waren fokal in unterschiedlichen Epithelanteilen positiv. 18,2% der follikulären Zysten zeigten kein Zytokeratin 19 und 36,1% der radikulären Zysten waren negativ für Zytokeratin 19. Auch Wagner et al. und Stoll et al. konnten Zytokeratin 19 nicht in KZOT, aber in allen anderen Zysten nachweisen (Stoll et al. 2005, Wagner et al. 1999). In anderen Studien wurde Zytokeratin 19 in allen odontogenen Zysten nachgewiesen (Hormia et al. 1987, Morgan et al. 1987).

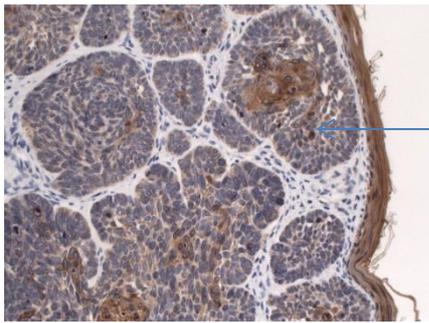
Laut Stoll et al. liegt in nahezu 100% der Fälle ein KZOT vor, wenn die Zytokeratin 17-Färbung positiv und die Zytokeratin 19-Färbung negativ ausfällt (Stoll et al. 2005). In unserer Studie zeigte sich jedoch nur in 61% der keratozystischen odontogenen Tumoren dieses Färbemuster (CK17+, CK19-). In allen anderen Fällen fiel das Ergebnis für CK 17 und CK 19 nicht so eindeutig positiv oder negativ aus. Einzelne Plattenepithelzellen der Zystenwand zeigten eine Färbung, wenn eigentlich eine fehlende Expression zu erwarten gewesen wäre und umgekehrt. Die gemeinsame Betrachtung beider Färbungen im Hinblick auf die Diagnostik des keratozystischen odontogenen Tumors ist jedoch hilfreich, in der Routinediagnostik durchführbar und somit ein wichtiger Parameter zur Differentialdiagnostik der Kieferzysten. Dabei muss man jedoch beachten, dass die Färbung oder Nicht-Färbung mit den beiden Antikörper nicht alleine zur Diagnosestellung herangezogen werden kann, da keine 100% Sicherheit besteht und es zu falsch positiven und falsch negativen Ergebnissen kommen kann. Laut Bartek et al. bedeutet eine Negativität in der Zytokeratin 19-Färbung nur, dass es sich hierbei um Epithelzellen mit hoher Proliferationsrate handelt, was bei keratozystischen odontogenen Tumoren durchaus der Fall ist, und dass es sich nicht um eine Zystenepithel-spezifische Färbung oder Nicht-Färbung handelt (Bartek et al. 1986).

Leider bleibt es jedoch schwierig, einen keratozystischen odontogenen Tumor, der aufgrund einer Entzündung sein typisches histologisches Bild verloren hat,

von anderen odontogenen Zysten zu unterscheiden, die ein keratinisiertes Epithel aufgrund von Metaplasie aufweisen (Matthews et al. 1988).

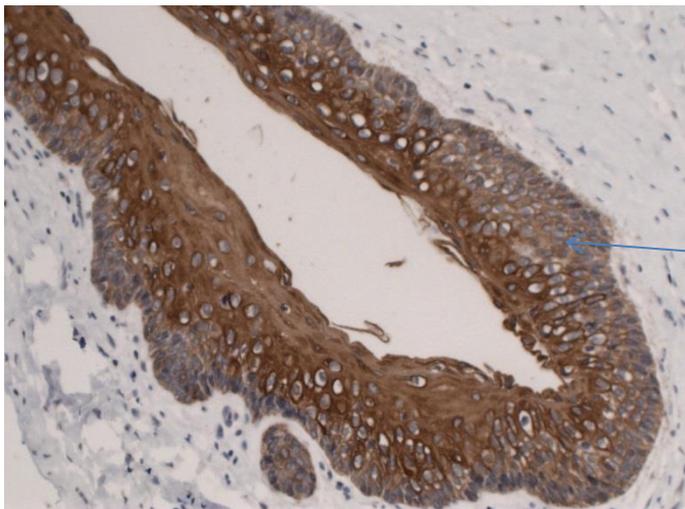
Zytokeratin 6B (KRT 6B) ist das am meisten exprimierte Gen in sporadisch auftretenden keratozystischen odontogenen Tumoren, wie durch die Polymerase Kettenreaktion (RT-PCR) nachgewiesen werden konnte (Heikinheimo et al. 2007).

Das Gen ist auf dem Chromosom 12q13 in der Typ II Keratin Domain lokalisiert (Rogers et al. 2005). Immunhistochemisch kann man KRT 6B in suprabasalen Zellschichten der KZOT nachweisen. Auch in unserer Studie erfolgte in 85,2% (n=117) der Nachweis von KRT 6B vermehrt in suprabasalen Zellschichten oder dort zumindest mit einer höheren Intensität. Die restlichen 14,8% der KZOT zeigten eine Färbung mit KRT 6B in allen Epithelschichten und in der Basalzellschicht mit gleichmäßiger Intensität. Das Expressionsmuster entsprach dem der follikulären und radikulären Zysten. Man geht davon aus, dass die Transkription des Zytokeratin 6 Gens durch Zytokine und epidermale Wachstumsfaktoren stimuliert wird und die vermehrte Expression des KRT 6B eine zytoskelettale Antwort auf das Epithelzellwachstum ist (Komine et al. 2000). Da alle Kieferzysten aus proliferierenden Epithelzellen bestehen und sich nur in ihrer Differenzierung und in ihrem Wachstum unterscheiden, erklärt sich auch, warum alle Zysten KRT 6B im gesamten Epithel exprimieren. Auch das Epithel von Ameloblastomen und Basalzellkarzinomen ist komplett mit Anti-KRT 6B gefärbt. Die Gesamtintensität ist jedoch schwächer als die der Kieferzysten. Die Gesamtintensität der Epithelfärbung mit KRT 6B bei Basalzellkarzinomen entspricht der oben beschriebenen abgeschwächten KRT 6B-Färbung der Basalzellschicht bei KZOTs.



Epithel des Basalzellkarzinoms

Abbildung 119 Basaliom, KRT 6B- Färbung, 20fache Vergrößerung



Färbung der
Basalzellschicht bei KZOT

Abbildung 120 KZOT, KRT 6B Färbemuster 1, 20fache Vergrößerung

Der Grund dafür könnte sein, dass Basaliome nicht so ein ausgereiftes Epithel (Plattenepithel mit partieller Verhornung) wie keratozystische odontogene Tumoren haben. Beobachtet werden konnte nämlich auch, dass die Intensität der Färbung steigt, sobald ausgereiftes Epithel in Basaliomen zum Beispiel in der Mitte der Tumorzellballen vorhanden ist. Die Färbung mit KRT 6B ist im Allgemeinen bei allen Zysten im gesamten Zystenepithel positiv und unterscheidet sich nur in der Intensität der Färbung der Basalzellschicht. Somit ist die Färbung differentialdiagnostisch nicht zielführend und erlaubt in der Routinediagnostik keine definitive Zystendiagnose.

Ber-EP4 (EpCam) ist der differentialdiagnostisch wichtigste Antikörper zur Differenzierung des Plattenepithelkarzinoms und des Basalzellkarzinoms. Da multiple keratozystische odontogene Tumoren vor allem beim Gorlin-Goltz-

Syndrom auftreten und in solchen Fällen auch eindeutig als diese histologisch zu erkennen sind, liegt die Vermutung nahe, dass aufgrund eines genetischen Zusammenhangs zwischen Basalzellkarzinomen und keratozystischen odontogenen Tumoren beim Gorlin-Goltz-Syndrom auch die Antigene ähnlich exprimiert werden. Das Basalzellkarzinom zeigt einen Ber-EP4 Nachweis von 100%. Auch in keratozystischen odontogenen Tumoren liegt der Antigennachweis bei 89% (n= 114). Ber-EP4 wird dort hauptsächlich in basalen und suprabasalen Zellschichten nachgewiesen. Diese Lokalisation ist relevant für die differentialdiagnostische Abgrenzung gegenüber follikulären Zysten, die, wenn sie das Antigen für den Antikörper Ber-EP4 exprimieren (30% Positivität), dies meist in superfiziellen und in weniger als 1% der Epithelzellen zeigen. 99% der radikulären Zysten sind negativ für Ber-EP4. Beim multipel vorkommenden keratozystischen odontogenen Tumoren (Gorlin-Goltz-Syndrom) liegt die Ber-EP4 Positivität bei 93%. Vor allem bei entzündlich überlagerten Zysten und bei hyperorthokeratotischen Zysten gelingt der Ber-EP4 Nachweis nicht eindeutig oder gar nicht. Dies könnte wiederum ein Hinweis für die Metaplasie des Epithels durch Entzündung oder für die Hypothese sprechen, dass Zysten mit Orthokeratose keine keratozystischen odontogene Tumoren sind (Matthews et al. 1988 WHO,2005).

Ein großes Problem der Diagnostik von odontogenen Zysten ist die Epithelveränderung durch Entzündungsfaktoren. Die klassischen Epithelmerkmale sind durch Einwanderung von Entzündungszellen nur noch selten zu erkennen, wodurch die Typisierung der Zysten nahezu unmöglich wird. In einer Studie von Hirshberg et al. wurde in 64% der untersuchten odontogenen Zysten fokal metaplastisches, nicht-keratinisiertes Plattenepithel festgestellt, wobei 90% dieser Epithelveränderungen bei entzündeten Zysten auftraten (Kaplan & Hirshberg 2004). Die hierfür verantwortlichen Entzündungsfaktoren führen zu einer Transformation von keratinisiertem in nicht keratinisiertes Epithel, wodurch sich nicht nur die komplette Epithelmorphologie, sondern vermutlich auch das proliferative Potential des Zystenepithels ändert. Vor allem in der Diagnostik des keratozystischen odontogenen Tumors führen Epitheltransformationen zu falschen Befunden,

weshalb keine adäquate Therapie erfolgt und Rezidive auftreten können. In unserer Untersuchung zeigten 20% der KZOTs (25 von 128 Fällen) starke fokale Entzündungszeichen, weshalb der Nachweis von Ber-EP4 in diesen Fällen zu 92% negativ ausfiel. Eine fehlende Färbung mit Ber-EP4 schloss damit jedoch keinen KZOT aus. Grundsätzlich gilt, dass nur entzündungsfreie Epithelabschnitte für die Zysten- und Tumordiagnostik herangezogen werden sollten.

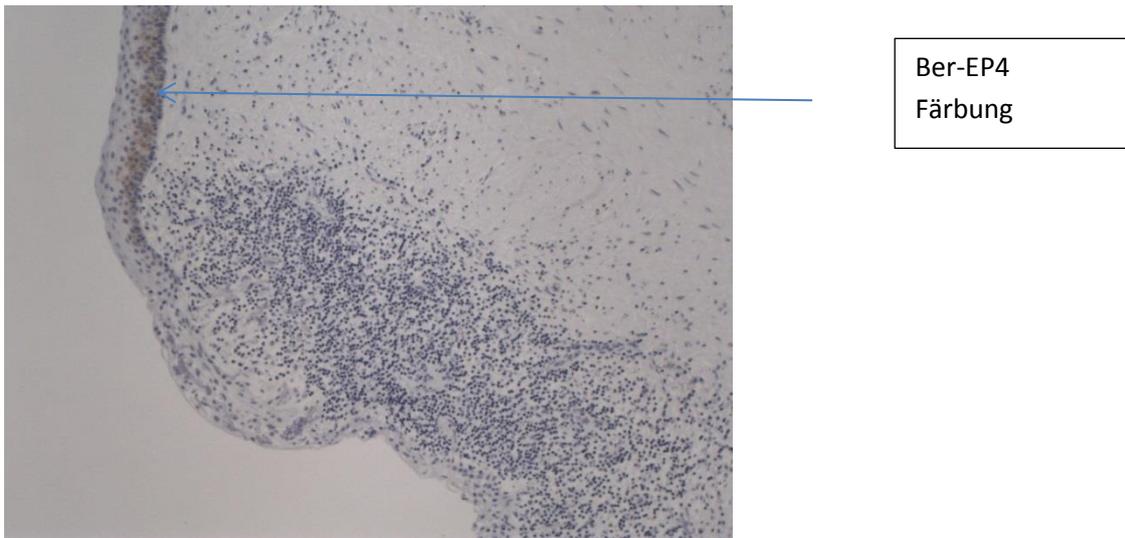


Abbildung 121 KZOT mit fokaler Entzündung:

Die im oberen Bildabschnitt sichtbare Ber-EP4 Färbung verschwindet in dem Epithelbereich, indem Entzündungszellen vorhanden sind.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass keiner der vier Antikörper eine 100%ige diagnostische Sicherheit liefert. Die Zystendiagnostik wird somit weiterhin bei oftmals unspezifischem Zystenepithel auf der Zusammenschau von Klinik, Radiologie und Histologie beruhen, wobei jedoch bei Verdacht auf einen keratozystischen odontogenen Tumor die Färbung mit Ber-EP4 und mit den Zytokeratinen 17 und 19 in der Diagnosestellung unterstützend wirken kann.

Neben der Variabilität des Immunprofils aufgrund der plattenepithelialen Differenzierung der Epithelzellen (z.B. parakeratotisch, unverhornt, mit Reteleistenbildung etc.) dürften die in der Literatur beschriebenen, teilweise

widersprüchlichen Immunprofile bei den einzelnen Zysten auch auf die Variabilität der Färbequalität zurückzuführen sein. Auch innerhalb der vorliegenden Studie schwankt die Färbequalität dahingehend. So zeigen zum Beispiel manche KZOTs eine stark positive Färbung und andere eine schwach positive Färbung bei Ber-EP4 und den Zytokeratinen. Gründe hierfür könnten die Überfixierung des Gewebes mit Formalin und einer damit verbundenen Antigenmaskierung oder eine Unterfixierung mit verstärkter Autolyse und Antigenzerstörung sein. Eine mögliche Entkalkung des Gewebes mit Ameisensäure bei im Gewebe enthaltenen Kieferknochen könnte auch zu einem verringerten, wenn nicht fehlenden Nachweis der Antigene führen. Auch die tabellarische Übersicht von Shear 2001 macht in mehreren Punkten deutlich, dass die Ergebnisse oft nicht reproduzierbar sind, da zumeist kein standardisiertes Verfahren in der Gewebepreparation und der Antikörperfärbung verwendet wurde. Insbesondere bei der Vorbehandlung des Gewebeschnittes im Rahmen der immunhistochemischen Färbung gibt es verschiedene Techniken zur Antigendemaskierung nach Fixierung und möglicher Überfixierung.

Neben den Zytokeratinen und dem Ber-EP4 könnten noch andere Antigene in der Zystendiagnostik wertvoll sein. Der Nachweis von Antigenen der GLI-Familie ist im Rahmen dieser Studie jedoch nicht gelungen. Der Antikörper wurde zwar nach Herstellerangaben eingesetzt, führte aber zu keiner Immunreaktion weder mit Kontrollgewebe noch mit dem Zystengewebe. Die Antikörper Perlecan und UEA lieferten in unserer Studie trotz Anwendung nach den Vorgaben der Arbeitsgruppe Tsuneki et al. ebenfalls keinerlei Ergebnisse.

Die wichtigste Ursache für falsch-positive und falsch-negative Ergebnisse soll jedoch die Subjektivität des Betrachters sein. Deshalb wurde in manchen Studien auch die Forderung nach einem unabhängigen Betrachter diskutiert, der das Krankheitsbild und die Entität nicht kennt (Schmidt BL 2003).

Ein anderer Versuch zur Erhöhung der diagnostischen Sicherheit beim keratozystischen odontogenen Tumor könnte der Nachweis von überexprimierten Genen wie zum Beispiel ERBB3, DDIT3, GAPD3 und HBEGF,

welche auf dem Chromosom 12q13 lokalisiert sind, darstellen (Heikinheimo et al. 2007). In unserer Studie wurde KRT 6B, ein überexprimiertes Gen am Locus 12q13, beim KZOT im Tumorepithel zwar sehr stark exprimiert, half aber nicht bei der Differentialdiagnostik, da auch die anderen Zystenarten eine starke Expression im Zystenepithel zeigten.

In einer weiterführenden Arbeit könnten GLI und andere Antigene der Sonic Hedgehog Signalkette, wie zum Beispiel SMO, nachgewiesen werden. Wie im Kapitel 1 unter 1.3.1 oder unter 1.1.4.4 kurz beschrieben, wird vermutet, dass der Entstehung von keratozystischen odontogenen Tumoren insbesondere beim Gorlin-Goltz-Syndrom eine gestörte Sonic Hedgehog Signalkette zu Grunde liegt. So wurde beim Gorlin-Goltz-Syndrom eine Mutation im PTCH-Gen nachgewiesen, welche auch in einigen sporadisch aufgetretenen keratozystischen odontogenen Tumoren nachgewiesen werden konnte und meistens in einer abnormalen Zellproliferation endet (Pan & Li 2009).

Das PTCH 1- Gen, ein menschliches Homolog zum Drosophila Gen patched, kodiert für ungefähr 1500 Aminosäuren und ist Bestandteil der Sonic-Hedgehog Signalkette, welche sowohl an der embryonalen Gewebsentwicklung als auch an der Tumorgenese beteiligt ist. In vielen Neoplasien ist eine abweichende Aktivität der Sonic Hedgehog Signalkette nachgewiesen worden (Pan & Li 2009).

Die Bindung des Liganden Sonic Hedgehog (der für die Namensgebung des Signalweges verantwortlich ist) an den Transmembranrezeptor Patched (PTCH) führt zur Inaktivierung von PTCH und dadurch zur Aktivierung (Enthemmung) von Smoothend (SMO). Normalerweise wird SMO durch PTCH in Abwesenheit von SHH gehemmt. Dadurch wird das intrazelluläre Ende von SMO phosphoryliert und bewirkt die Aktivierung des Transkriptionsfaktors GLI. Das hat zur Folge, dass das regulatorische Protein Ci (Cubitus interruptus) nicht mehr abgebaut wird, in den Zellkern diffundiert und dort als Transkriptionsfaktor letztlich zu ungehindertem Zellwachstum führt (Sun et al. 2008). Störungen in dieser Signalkette führen z.B. zu erblich bedingten (z.B.

Gorlin-Goltz-Syndrom) oder sporadisch auftretenden Erkrankungen
(Reifenberger et al. 1998).

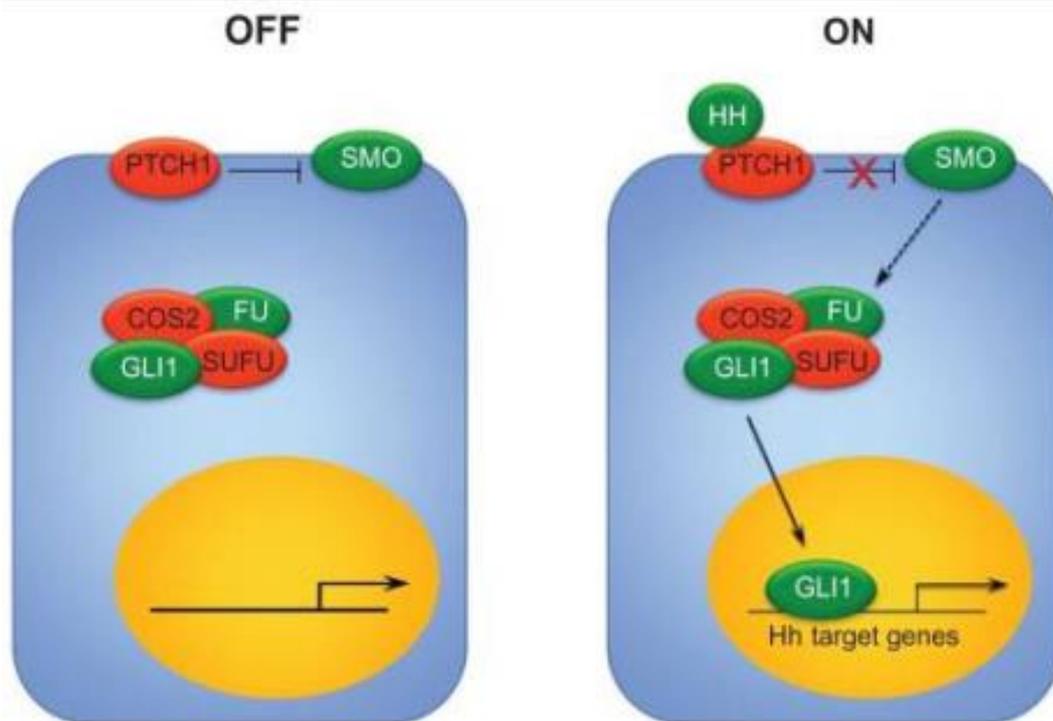


Abbildung 122 SHH-Signalkette Hemmung und Enthemmung der Signalkette

aus: **Manuel Valdebran M.D.** , *Onco Targets Ther*: 2012; 5: 47–58. Published online 2012 March 9. doi: 10.2147/OTT.S21957

SMO ist ein Transmembran Protein der SHH Signalkette, das mit dem PTCH-Gen im Sinne einer Inhibition gekoppelt ist. Seine Bedeutung in der Tumorentstehung ist noch nicht so gut untersucht wie die von SHH und PTCH. Es existiert jedoch die Hypothese, dass eine Punktmutation im SMO-Gen ebenfalls an der Entstehung des Gorlin-Goltz-Syndroms und an der Entwicklung von Medulloblastomen und Basaliomen beteiligt sein kann. Vermutlich führt die Mutation im SMO-Gen zu einer konstitutiven Veränderung des Proteins, woraufhin die Signalkette nicht wie gewohnt ablaufen kann (Reifenberger et al. 1998). Der genaue Mechanismus, wie es zur SMO-Aktivierung und damit zur Neoplasmbildung kommt, ist noch ungeklärt, postuliert wird eine Veränderung der Interaktion zwischen SMO und PTCH. Reifenberger et al. beschrieben in ihrer Studie jedoch wenige Fälle von Gorlin-Goltz oder Medulloblastomen, die aufgrund einer Punktmutation von SMO entstanden sind.

Der Nachweis der Gene GLI, SMO und PTCH sowie des Wachstumsfaktors ERBB3 könnte die Tumorphagenese des keratozystischen odontogenen Tumors beschreiben, weil eine fehlerhafte Integration und kreuzweise Aktivierung der Sonic Hedgehog Signalkette und der Kette der Wachstumsfaktoren für das Krankheitsbild mitverantwortlich sind (Heikinheimo et al. 2007). Wie bereits beschrieben, konnte in dieser Studie jedoch GLI immunhistochemisch nicht nachgewiesen werden.

Die möglicherweise jedoch einzige sichere, entzündungsunabhängige Diagnostik beim keratozytischen odontogenen Tumor dürfte auf dem Nachweis einer Mutation im Sonic Hedgehog-Signalweg mittels Genanalyse des Zystenepithels beruhen (Barreto et al. 2000).

Dieses Nachweisverfahren wird jedoch aufgrund des Verfahrensaufwands und der dadurch verbundenen Kosten wohl eher nicht in der Routinediagnostik eingeführt werden.

KAPITEL 5 ZUSAMMENFASSUNG

Das Epithel der odontogenen Kieferzysten hat seinen Ursprung in Residuen der Zahnentwicklung. Man unterscheidet zwischen entwicklungsbedingten und entzündlich bedingten Kieferzysten. Aufgrund ihrer Klinik, Radiologie und konventionell-morphologischer Histopathologie sind die Kieferzysten oftmals nicht sicher voneinander zu unterscheiden. Histologisch gibt es Kriterien, die zur Differentialdiagnostik beitragen, jedoch nicht in allen Zystentypen zur definitiven Diagnose führen. Vor allem bei entzündlicher Überlagerung des Zystenepithels verliert dieses mögliche zystentyp-spezifische Merkmale. Dadurch entstehen Fehldiagnosen und inadäquate Therapien. So kann der befundende Pathologe bisweilen nur eine Mutmaßung des Zystentyps äußern und oft die Pathologie und Klinik nicht in Übereinstimmung bringen. Schon seit vielen Jahren werden in der Histopathologie immunhistochemische Verfahren angewendet, um die Histogenese und Dignität eines Tumors beurteilen und somit die Diagnose stellen zu können. Zur Detektion von differentialdiagnostisch hilfreichen Immunprofilen wurden in dieser Studie insgesamt 128 keratozystische odontogene Tumoren, 147 follikuläre Zysten, 117 radikuläre Zysten, 44 Basaliome und 29 Ameloblastome mit der Streptavidin-Peroxidase-Technik und den Antikörpern gegen die Antigene EpCAM (Antikörper-Klon: Ber-Ep4), CK17, CK19 und KRT 6B untersucht. Basaliome wurden aufgrund des gemeinsamen Auftretens mit keratozystischen odontogenen Tumoren beim Gorlin-Goltz-Syndrom in die Studie aufgenommen und Ameloblastome aufgrund der insbesondere bei unizystischen Ameloblastomen bisweilen klinisch, radiologisch und histologisch schweren differentialdiagnostischen Abgrenzung von den anderen Zysten und Tumoren. Das Antigen KRT 6B ist in allen Zysten und Tumoren nachweisbar; eine Differenzierung insbesondere der Zystenarten gelingt somit nicht. Die Kombination aus extrem starker Expression von CK 17 bei weitgehend fehlender Expression von CK19 spricht für einen keratozystischen odontogenen Tumor und entspricht dem Immunprofil eines Basalioms. Im Falle der follikulären und radikulären Zysten kann mit Antikörpern gegen CK17 und CK19

keine differentialdiagnostische Abklärung erfolgen. Das Ameloblastom zeigt zumeist eine Coexpression von CK17 und CK19.

Der Antikörper Ber-EP4 färbt in abnehmender Färbeintensität und Häufigkeit Basalzellkarzinome, keratozystische odontogene Tumoren, Ameloblastome und in wenigen Fällen auch follikuläre Zysten mit jedoch typischem Expressionsmuster. Radikuläre Zysten zeigen keine Expression von Ber-EP4.

Durch die Kombination aus Ber-EP4, CK17 und CK19 lässt sich die diagnostische Sicherheit für einen KZOT insbesondere bei der Abgrenzung zu follikulären Zysten erhöhen, da KZOTs eine basale und parabasale Anfärbung, follikuläre Zysten eine superfizielle Expression von EpCAM (Klon Ber-EP4) zeigen.

Durch die korrekte Diagnostik eines KZOT kann die Rezidivgefahr durch die adäquate Therapie und geplante Nachsorge geringgehalten werden.

Bei entzündlich überlagertem Zystenepithel erscheint zur sicheren Identifizierung eines KZOT die Immunhistologie eher nicht geeignet und sollte durch molekulargenetische Untersuchungen zu Mutationen im Sonic Hedgehog Signalweg ergänzt werden.

Geräte und Materialliste

Antikörper

Monoclonal Mouse Anti-Human Epithelial Antigen, Clone **Ber-EP 4**, Dako, Glostrup, Denmark

Monoclonal Mouse Anti-Human **Cytokeratin 17**, Clone E3, Dako, Glostrup, Denmark

Monoclonal Mouse Anti-Human **Cytokeratin 19**, Clone RCK 108, Dako, Glostrup, Denmark

Rabbit Anti **KRT 6B** Polyclonal Antibody, Proteintech, USA

Rabbit polyclonal to **Gli1**, Abcam, Cambridge, UK

Mouse Monoclonal to **heparan Sulfate Proteoglycan 2**, Abcam, Cambridge, UK

Rabbit polyclonal to **Ulex Europaeus Lectin 1**, Abcam, Cambridge, UK

Akten und Arztbriefe

handschriftlich zur Durchsicht aus dem ZZMK Tübingen

Blockdrucker

Tissue Block System TBS 88 Cool Unit, SN 903122064

Leica IPC, Printer for Tissue Cassettes, SN 1346, Leica Microsystems

Computer	Fujitsu Siemens Esprimo, S/N YKLVO19560
Digitale Fotokamera	Pentax Optio RX18
Doppelseitiges Klebeband	Tesafix 4934, Tesa, 35mmx25m
Gewebeschnitte	circa 10µm auf Objektträgern (76mm x26mm) geschützt mit Deckglas
Hautbiopsiestanze	4mm Durchmesser
Microm Cool-Cut	HM 355 S, S/N 30946, Microm GmbH Walldorf, Germany
Microm Section Transfer System	S/N 41509
Orthopantomogramme	aus ZZMK Tübingen mit den Maßen ..mm x...mm
Paraffinausgießgerät	PSI Gruenenwald, Typ No 3411.55/80, SN 123305
Pas.Net Patientendatei	Firma Nexus AG, Krankenhausinformationssysteme,Medizin Software, Villingen-Schwennigen, GER
Röntgenbildbetrachter	Dentsply RINN, USA, Modell 670442, S/N 16443
Wärmeplatte	Firma Braun

Ventana BenchMark XT	Firma Ventana/Roche, Schweiz
Zeiss Mikroskop	Axio Imager A1, Carl Zeiss Microimaging GmbH, Göttingen, GER, S/N: 3517002198
Zeissmikroskop Kamera	Jenoptix, Laser Optik Systems GmbH, Jena, GER Typ ProgResC10plus, S/N 2706-00-0784

Literaturverzeichnis

Ahlfors, E., Larsson, A. & Sjogren, S. (1984) The odontogenic keratocyst: a benign cystic tumor? *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 42(1): 10-19.

Allgemeine und spezielle Pathologie, (1986) Thieme.

Altini, M., Lurie, R. & Shear, M. (1976) A case report of keratoameloblastoma. *International journal of oral surgery* 5(5): 245-249.

Altmeyer, P. (2003) *Klinikleitfaden Dermatologie*, Urban & Fischer.

Altmeyer, P. & Paech, V. (2010) *Enzyklopädie Dermatologie, Allergologie, Umweltmedizin*, Springer-Verlag GmbH.

Ansai, S., Takayama, R., Kimura, T. & Kawana, S. (2012) Ber-EP4 is a useful marker for follicular germinative cell differentiation of cutaneous epithelial neoplasms. *The Journal of dermatology* 39(8): 688-692.

Austermann, K. H. (2002) *Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde: 41 Tabellen. Spezielle Chirurgie*, Thieme.

Ayoub, M. S., Baghdadi, H. M. & El-Kholy, M. (2011) Immunohistochemical detection of laminin-1 and Ki-67 in radicular cysts and keratocystic odontogenic tumors. *BMC clinical pathology* 11: 4.

Bale, A. E. (1997) The nevoid basal cell carcinoma syndrome: genetics and mechanism of carcinogenesis. *Cancer investigation* 15(2): 180-186.

Barreto, D. C., Gomez, R. S., Bale, A. E., Boson, W. L. & De Marco, L. (2000) PTCH gene mutations in odontogenic keratocysts. *Journal of dental research* 79(6): 1418-1422.

Bartek, J., Bartkova, J., Taylor-Papadimitriou, J., Rejthar, A., Kovarik, J., Lukas, Z. & Vojtesek, B. (1986) Differential expression of keratin 19 in normal human epithelial tissues revealed by monospecific monoclonal antibodies. *The Histochemical journal* 18(10): 565-575.

Battifora, H. (1986) The multitumor (sausage) tissue block: novel method for immunohistochemical antibody testing. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 55(2): 244-248.

- Beer, T. W., Shepherd, P. & Theaker, J. M. (2000) Ber EP4 and epithelial membrane antigen aid distinction of basal cell, squamous cell and basosquamous carcinomas of the skin. *Histopathology* 37(3): 218-223.
- Bourdon, J. C., Laurenzi, V. D., Melino, G. & Lane, D. (2003) p53: 25 years of research and more questions to answer. *Cell death and differentiation* 10(4): 397-399.
- Brannon, R. B. (1977) The odontogenic keratocyst. A clinicopathologic study of 312 cases. Part II. Histologic features. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology* 43(2): 233-255.
- Browne, R. M. (1971) The odontogenic keratocyst. Histological features and their correlation with clinical behaviour. *British dental journal* 131(6): 249-259.
- Chao, D. T. & Korsmeyer, S. J. (1998) BCL-2 family: regulators of cell death. *Annual review of immunology* 16: 395-419.
- Chauhan, D. S. & Guruprasad, Y. (2011) Plexiform ameloblastoma of the mandible. *Journal of clinical imaging science* 1: 61.
- Chuong, R., Donoff, R. B. & Guralnick, W. (1982) The odontogenic keratocyst. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 40(12): 797-802.
- Crowley, T. E., Kaugars, G. E. & Gunsolley, J. C. (1992) Odontogenic keratocysts: a clinical and histologic comparison of the parakeratin and orthokeratin variants. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 50(1): 22-26.
- Dasgeb, B., Mohammadi, T. M. & Mehregan, D. R. (2013) Use of Ber-EP4 and Epithelial Specific Antigen to Differentiate Clinical Simulators of Basal Cell Carcinoma. *Biomarkers in cancer* 5: 7-11.
- de Jong, E. M., van Vlijmen, I. M., van Erp, P. E., Ramaekers, F. C., Troyanovski, S. M. & van de Kerkhof, P. C. (1991) Keratin 17: a useful marker in anti-psoriatic therapies. *Archives of dermatological research* 283(7): 480-482.
- de Oliveira, M. G., Lauxen Ida, S., Chaves, A. C., Rados, P. V. & Sant'Ana Filho, M. (2011) Odontogenic epithelium: immunolabeling of Ki-67, EGFR and survivin in pericoronal follicles, dentigerous cysts and keratocystic odontogenic tumors. *Head and neck pathology* 5(1): 1-7.

- Depianto, D., Kerns, M. L., Dlugosz, A. A. & Coulombe, P. A. (2010) Keratin 17 promotes epithelial proliferation and tumor growth by polarizing the immune response in skin. *Nature genetics* 42(10): 910-914.
- Donath, K. (1982) [Teratogenic aspects in the origin of odontogenic tumors]. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie* 66: 133-141.
- Ebhardt, H. & Reichart, P. A. (2009) *Curriculum spezielle Pathologie für Zahnmediziner*, Quintessenz Verl.-GmbH.
- Gomes, C. C., Diniz, M. G. & Gomez, R. S. (2009) Review of the molecular pathogenesis of the odontogenic keratocyst. *Oral oncology* 45(12): 1011-1014.
- Gorlin, R. J. (1987) Nevoid basal-cell carcinoma syndrome. *Medicine* 66(2): 98-113.
- Gumgum, S. & Hosgoren, B. (2005) Clinical and radiologic behaviour of ameloblastoma in 4 cases. *Journal* 71(7): 481-484.
- Haring, J. I. & Van Dis, M. L. (1988) Odontogenic keratocysts: a clinical, radiographic, and histopathologic study. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology* 66(1): 145-153.
- Heikinheimo, K., Jee, K. J., Morgan, P. R., Nagy, B., Knuutila, S. & Leivo, I. (2007) Genetic changes in sporadic keratocystic odontogenic tumors (odontogenic keratocysts). *Journal of dental research* 86(6): 544-549.
- Heyden, A., Huitfeldt, H. S., Koppang, H. S., Thrane, P. S., Bryne, M. & Brandtzaeg, P. (1992) Cytokeratins as epithelial differentiation markers in premalignant and malignant oral lesions. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology* 21(1): 7-11.
- Hormia, M., Ylipaavalniemi, P., Nagle, R. B. & Virtanen, I. (1987) Expression of cytokeratins in odontogenic jaw cysts: monoclonal antibodies reveal distinct variation between different cyst types. *Journal of oral pathology* 16(7): 338-346.
- Ishida-Yamamoto, A., Takahashi, H. & Iizuka, H. (2002) Lessons from disorders of epidermal differentiation-associated keratins. *Histology and histopathology* 17(1): 331-338.

- Jacques, C. M., Pereira, A. L., Maia, V., Cuzzi, T. & Ramos-e-Silva, M. (2009) Expression of cytokeratins 10, 13, 14 and 19 in oral lichen planus. *Journal of oral science* 51(3): 355-365.
- Jordan, R. C. (2003) Histology and ultrastructural features of the odontogenic keratocyst. *Oral and maxillofacial surgery clinics of North America* 15(3): 325-333.
- Kaplan, I. & Hirshberg, A. (2004) The correlation between epithelial cell proliferation and inflammation in odontogenic keratocyst. *Oral oncology* 40(10): 985-991.
- Komine, M., Rao, L. S., Kaneko, T., Tomic-Canic, M., Tamaki, K., Freedberg, I. M. & Blumenberg, M. (2000) Inflammatory versus proliferative processes in epidermis. Tumor necrosis factor alpha induces K6b keratin synthesis through a transcriptional complex containing NFkappa B and C/EBPbeta. *The Journal of biological chemistry* 275(41): 32077-32088.
- Kononen, J., Bubendorf, L., Kallioniemi, A., Barlund, M., Schraml, P., Leighton, S., Torhorst, J., Mihatsch, M. J., Sauter, G. & Kallioniemi, O. P. (1998) Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nature medicine* 4(7): 844-847.
- Kramer, I. R., Pindborg, J. J. & Shear, M. (1992) The WHO Histological Typing of Odontogenic Tumours. A commentary on the Second Edition. *Cancer* 70(12): 2988-2994.
- Latza, U., Niedobitek, G., Schwarting, R., Nekarda, H. & Stein, H. (1990) Ber-EP4: new monoclonal antibody which distinguishes epithelia from mesothelial. *Journal of clinical pathology* 43(3): 213-219.
- Lehmann, K. M. & Hellwig, E. (2005) *Zahnärztliche Propädeutik*, Elsevier, Urban und Fischer.
- Levanat, S., Pavelic, B., Crnic, I., Oreskovic, S. & Manojlovic, S. (2000) Involvement of PTCH gene in various noninflammatory cysts. *Journal of molecular medicine* 78(3): 140-146.
- Li, T. J., Browne, R. M. & Matthews, J. B. (1994) Quantification of PCNA+ cells within odontogenic jaw cyst epithelium. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology* 23(4): 184-189.
- MacDonald, A. W. & Fletcher, A. (1989) Expression of cytokeratin in the epithelium of dentigerous cysts and odontogenic keratocysts: an aid to diagnosis. *Journal of clinical pathology* 42(7): 736-739.

- Mackenzie, I. C. & Gao, Z. (1993) Patterns of cytokeratin expression in the epithelia of inflamed human gingiva and periodontal pockets. *Journal of periodontal research* 28(1): 49-59.
- Madras, J. & Lapointe, H. (2008) Keratocystic odontogenic tumour: reclassification of the odontogenic keratocyst from cyst to tumour. *Texas dental journal* 125(5): 446-454.
- Matthews, J. B., Mason, G. I. & Browne, R. M. (1988) Epithelial cell markers and proliferating cells in odontogenic jaw cysts. *The Journal of pathology* 156(4): 283-290.
- Meara, J. G., Shah, S., Li, K. K. & Cunningham, M. J. (1998) The odontogenic keratocyst: a 20-year clinicopathologic review. *The Laryngoscope* 108(2): 280-283.
- Moll, R., Franke, W. W., Schiller, D. L., Geiger, B. & Krepler, R. (1982) The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 31(1): 11-24.
- Moll, R., Franke, W. W., Volc-Platzer, B. & Krepler, R. (1982) Different keratin polypeptides in epidermis and other epithelia of human skin: a specific cytokeratin of molecular weight 46,000 in epithelia of the pilosebaceous tract and basal cell epitheliomas. *The Journal of cell biology* 95(1): 285-295.
- Morgan, P. R., Shirlaw, P. J., Johnson, N. W., Leigh, I. M. & Lane, E. B. (1987) Potential applications of anti-keratin antibodies in oral diagnosis. *Journal of oral pathology* 16(4): 212-222.
- Murdoch, A. D., Dodge, G. R., Cohen, I., Tuan, R. S. & Iozzo, R. V. (1992) Primary structure of the human heparan sulfate proteoglycan from basement membrane (HSPG2/perlecan). A chimeric molecule with multiple domains homologous to the low density lipoprotein receptor, laminin, neural cell adhesion molecules, and epidermal growth factor. *The Journal of biological chemistry* 267(12): 8544-8557.
- Murdoch, A. D., Liu, B., Schwarting, R., Tuan, R. S. & Iozzo, R. V. (1994) Widespread expression of perlecan proteoglycan in basement membranes and extracellular matrices of human tissues as detected by a novel monoclonal antibody against domain III and by in situ hybridization. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society* 42(2): 239-249.
- Neumann, H., Wex, T., Monkemüller, K., Vieth, M., Fry, L. C. & Malfertheiner, P. (2008) Lectin UEA-I-binding proteins are specifically increased in the squamous epithelium of patients with Barrett's esophagus. *Digestion* 78(4): 201-207.
- Neville, B. W. (2009) *Oral and maxillofacial pathology*, Saunders.

- Ngeow, W. C., Zain, R. B., Yeo, J. F. & Chai, W. L. (2000) Clinicopathologic study of odontogenic keratocysts in Singapore and Malaysia. *Journal of oral science* 42(1): 9-14.
- Nocito, A., Kononen, J., Kallioniemi, O. P. & Sauter, G. (2001) Tissue microarrays (TMAs) for high-throughput molecular pathology research. *International journal of cancer. Journal international du cancer* 94(1): 1-5.
- Ogden, G. R., Chisholm, D. M., Kiddie, R. A. & Lane, D. P. (1992) p53 protein in odontogenic cysts: increased expression in some odontogenic keratocysts. *Journal of clinical pathology* 45(11): 1007-1010.
- Oh, S. W., Kim, M. Y., Lee, J. S. & Kim, S. C. (2006) Keratin 17 mutation in pachyonychia congenita type 2 patient with early onset steatocystoma multiplex and Hutchinson-like tooth deformity. *The Journal of dermatology* 33(3): 161-164.
- Ozawa, M., Aiba, S., Kurosawa, M. & Tagami, H. (2004) Ber-EP4 antigen is a marker for a cell population related to the secondary hair germ. *Experimental dermatology* 13(7): 401-405.
- Pan, S. & Li, T. J. (2009) PTCH1 mutations in odontogenic keratocysts: are they related to epithelial cell proliferation? *Oral oncology* 45(10): 861-865.
- Piattelli, A., Fioroni, M. & Rubini, C. (1998) Differentiation of odontogenic keratocysts from other odontogenic cysts by the expression of bcl-2 immunoreactivity. *Oral oncology* 34(5): 404-407.
- Piattelli, A., Fioroni, M., Santinelli, A. & Rubini, C. (2001) P53 protein expression in odontogenic cysts. *Journal of endodontics* 27(7): 459-461.
- Pillai, K. R., Remani, P., Kannan, S., Sujathan, K., Mathew, B., Vijayakumar, T., Nair, M. K. & Menon, V. P. (1996) Lectin histochemistry of oral premalignant and malignant lesions: correlation of JFL and PNA binding pattern with tumour progression. *European journal of cancer. Part B, Oral oncology* 32B(1): 32-37.
- Proby, C. M., Churchill, L., Purkis, P. E., Glover, M. T., Sexton, C. J. & Leigh, I. M. (1993) Keratin 17 expression as a marker for epithelial transformation in viral warts. *The American journal of pathology* 143(6): 1667-1678.
- Pschyrembel, W. (2010) *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch*(262. Auflage), Gruyter, Walter de GmbH.

- Reed, J. C., Miyashita, T., Takayama, S., Wang, H. G., Sato, T., Krajewski, S., Aime-Sempe, C., Bodrug, S., Kitada, S. & Hanada, M. (1996) BCL-2 family proteins: regulators of cell death involved in the pathogenesis of cancer and resistance to therapy. *Journal of cellular biochemistry* 60(1): 23-32.
- Reifenberger, J., Wolter, M., Weber, R. G., Megahed, M., Ruzicka, T., Lichter, P. & Reifenberger, G. (1998) Missense mutations in SMOH in sporadic basal cell carcinomas of the skin and primitive neuroectodermal tumors of the central nervous system. *Cancer research* 58(9): 1798-1803.
- Rogers, M. A., Edler, L., Winter, H., Langbein, L., Beckmann, I. & Schweizer, J. (2005) Characterization of New Members of the Human Type II Keratin Gene Family and a General Evaluation of the Keratin Gene Domain on Chromosome 12q13.13. *J Investig Dermatol* 124(3): 536-544.
- Savithri, V., Janardhanan, M., Suresh, R. & Kumar, R. V. (2013) Desmoplastic ameloblastoma with osteoplasia: Review of literature with a case report. *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP* 17(2): 298-301.
- Scholl, R. J., Kellett, H. M., Neumann, D. P. & Lurie, A. G. (1999) Cysts and cystic lesions of the mandible: clinical and radiologic-histopathologic review. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc* 19(5): 1107-1124.
- Scholzen, T. & Gerdes, J. (2000) The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *Journal of cellular physiology* 182(3): 311-322.
- Schroeder, H. E. (1976) *Orale Strukturbiologie: Entwicklungsgeschichte, Struktur u. Funktion normaler Hart- u. Weichgewebe d. Mundhöhle*, Thieme.
- Schroeder, H. E. (1987) *Orale Strukturbiologie: Entwicklungsgeschichte, Struktur und Funktion normaler Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle und des Kiefergelenks*, Thieme.
- Sharma, V. M. & Stein, S. L. (2007) A Novel Mutation in K6b in Pachyonychia Congenita Type 2. *The Journal of investigative dermatology* 127(8): 2060-2062.
- Shear, M. (2002) The aggressive nature of the odontogenic keratocyst: is it a benign cystic neoplasm? Part 3. Immunocytochemistry of cytokeratin and other epithelial cell markers. *Oral oncology* 38(5): 407-415.
- Shear, M. (2003a) Odontogenic keratocysts: clinical features. *Oral and maxillofacial surgery clinics of North America* 15(3): 335-345.

- Shear, M. (2003b) Odontogenic keratocysts: natural history and immunohistochemistry. *Oral and maxillofacial surgery clinics of North America* 15(3): 347-362.
- Shuler, C. F. & Shriver, B. J. (1987) Identification of intermediate filament keratin proteins in parakeratinized odontogenic keratocysts. A preliminary study. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology* 64(4): 439-444.
- Sobral, A. P., Rego, M. J., Cavalacanti, C. L., Carvalho, L. B., Jr. & Beltrao, E. I. (2010) ConA and UEA-I lectin histochemistry of parotid gland mucoepidermoid carcinoma. *Journal of oral science* 52(1): 49-54.
- Soluk Tekkesin, M., Mutlu, S. & Olgac, V. (2012) Expressions of bax, bcl-2 and Ki-67 in odontogenic keratocysts (Keratocystic Odontogenic Tumor) in comparison with ameloblastomas and radicular cysts. *Turk patoloji dergisi* 28(1): 49-55.
- Song, Y. L., Zhang, W. F., Peng, B., Wang, C. N., Wang, Q. & Bian, Z. (2006) Germline mutations of the PTCH gene in families with odontogenic keratocysts and nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 27(4): 175-180.
- Stiewe, T. (2007) The p53 family in differentiation and tumorigenesis. *Nature reviews. Cancer* 7(3): 165-168.
- Stoelinga, P. J. (2001) Long-term follow-up on keratocysts treated according to a defined protocol. *International journal of oral and maxillofacial surgery* 30(1): 14-25.
- Stoelinga, P. J. (2003) Etiology and pathogenesis of keratocysts. *Oral and maxillofacial surgery clinics of North America* 15(3): 317-324.
- Stoll, C., Stollenwerk, C., Riediger, D., Mittermayer, C. & Alfer, J. (2005) Cytokeratin expression patterns for distinction of odontogenic keratocysts from dentigerous and radicular cysts. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology* 34(9): 558-564.
- Sun, L. S., Li, X. F. & Li, T. J. (2008) PTCH1 and SMO gene alterations in keratocystic odontogenic tumors. *Journal of dental research* 87(6): 575-579.
- Toller, P. A. (1972) Newer concepts of odontogenic cysts. *International journal of oral surgery* 1(1): 3-16.

- Tope, W. D., Nowfar-Rad, M. & Kist, D. A. (2000) Ber-EP4-positive phenotype differentiates actinic keratosis from superficial basal cell carcinoma. *Dermatologic surgery : official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al.]* 26(5): 415-418.
- Tsuji, T., Shrestha, P., Yamada, K., Takagi, H., Shinozaki, F., Sasaki, K., Maeda, K. & Mori, M. (1992) Proliferating cell nuclear antigen in malignant and pre-malignant lesions of epithelial origin in the oral cavity and the skin: an immunohistochemical study. *Virchows Archiv. A, Pathological anatomy and histopathology* 420(5): 377-383.
- Tsuneki, M., Yamazaki, M., Cheng, J., Maruyama, S., Kobayashi, T. & Saku, T. (2010) Combined immunohistochemistry for the differential diagnosis of cystic jaw lesions: its practical use in surgical pathology. *Histopathology* 57(6): 806-813.
- Vuhahula, E., Nikai, H., Ijuhin, N., Ogawa, I., Takata, T., Koseki, T. & Tanimoto, K. (1993) Jaw cysts with orthokeratinization: analysis of 12 cases. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology* 22(1): 35-40.
- Wagner, Y., Filippi, A., Kirschner, H. & Dreyer, T. (1999) [Cytokeratin and p53 expression of odontogenic cysts]. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie : MKG* 3(5): 263-269.
- Woolgar, J. A., Rippin, J. W. & Browne, R. M. (1987) A comparative study of the clinical and histological features of recurrent and non-recurrent odontogenic keratocysts. *Journal of oral pathology* 16(3): 124-128.
- Yamada, S., Matsuo, T., Yanamoto, S., Suyama, K., Mizuno, A. & Fujita, S. (2005) Ameloblastoma. *Pathology international* 55(2): 92-94.
- Yeo, J. F., Rosnah, B. Z., Ti, L. S., Zhao, Y. Y. & Ngeow, W. C. (2007) Clinicopathological study of dentigerous cysts in Singapore and Malaysia. *The Malaysian journal of pathology* 29(1): 41-47.
- Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde : Lehrbuch zur Aus- und Fortbildung. Band 3: Zahnärztliche Chirurgie*, (2000) Thieme.
- Zhang, L., Sun, Z. J., Zhao, Y. F., Bian, Z., Fan, M. W. & Chen, Z. (2006) Inhibition of SHH signaling pathway: molecular treatment strategy of odontogenic keratocyst. *Medical hypotheses* 67(5): 1242-1244.

Erklärung zum Eigenanteil

Teile der hier vorliegenden Arbeit wurden in Kooperation mit mehreren Personen und Abteilungen erstellt.

Johannes Fröhlich: Patientenrekrutierung, Datenakquisition, Block und Schnittaquisition, Auswertung der HE-Färbung, Auswertung der klinischen Daten und Röntgenbilder, Erstellen der Tissue Mikroarrays (TMAs).

Immunhistochemisches Labor des Institutes für Pathologie der Universität Tübingen: Nachschneiden der Blöcke, Schneiden der TMAs, Färben der Schnitte mit den Antikörpern.

Dorothea Straub: Literaturrecherche, Patientenrekrutierung, Datenakquisition, Block und Schnittaquisition, Auswertung der HE-Färbung, Auswertung der klinischen Daten und Röntgenbilder, Erstellen der TMAs, Auswertung der Antikörperfärbungen.

„Ich, Dorothea Straub, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Die Expressionsprofile des Epithels von odontogenen Zysten unter besonderer Berücksichtigung des keratozystischen odontogenen Tumors und des epithelialen Zelladhäsionsmoleküls EpCAM bei Nachweis mittels Antikörperklon Ber-EP4“ ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst, keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum:

Unterschrift:

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Ganz herzlich bedanke ich mich in allererster Linie bei Herrn PD Dr. Vogel für die Überlassung des Themas, die Korrektur des Manuskriptes und die vorbildliche Betreuung dieser Arbeit.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Prof. Dr. Fend, bedanken, dass ich am Institut für Pathologie die Doktorarbeit erstellen durfte.

Besonderer Dank gebührt Johannes Fröhlich für die gute und stets motivierende Zusammenarbeit.

Weiterhin möchte ich mich bei Frau Adam und dem gesamten Team des immunhistochemischen Labors des Institutes der Pathologie der Universität Tübingen für die Unterstützung beim Schneiden und Färben der histologischen Präparate bedanken.

Vor allem bedanke ich mich bei Stefan Feldmann, meinen Brüdern Philipp und Lukas und meinen Freunden, die mir stets mit Rat und Tat zur Seite stehen.

Zu guter Letzt gilt mein tiefer Dank und Respekt meinen Eltern, die mir das Zahnmedizinstudium ermöglicht haben und mich in allen meinen Ideen und Vorhaben unterstützen.