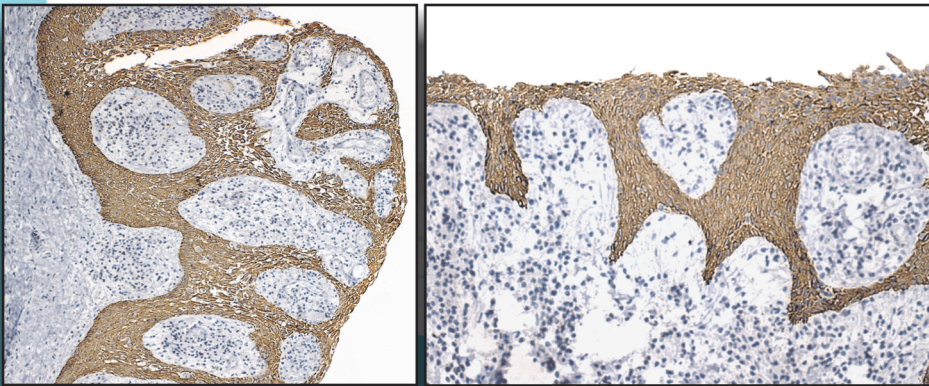


Perfil imunoistoquímico de citoqueratinas em cistos radiculares

Ivens Frischknecht

Orientador: Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez



Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Perfil imunoistoquímico de citoqueratinas em cistos radiculares

Ivens Frischknecht

Orientador: *Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez*

Ribeirão Preto

2010

Ivens Frischknecht

Perfil imunoistoquímico de citoqueratinas em cistos radiculares

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Odontologia – área de concentração Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez

Ribeirão Preto

2010

Ficha catalográfica preparada pelo Centro de Processamento
Técnico da Biblioteca Central da UNAERP

- Universidade de Ribeirão Preto -

F917p Frischknecht, Ivens, 1965 -
Perfil imunistoquímico de citoqueratinas em cistos radiculares /
Ivens Frischknecht. - - Ribeirão Preto, 2010.
93 f.: il. color.

Orientador: Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez.

Tese (Doutorado) - Universidade de Ribeirão Preto,
UNAERP, Odontologia, área de concentração: Endodontia.
Ribeirão Preto, 2010.

1. Odontologia. 2. Endodontia. 3. Cistos odontogênicos.
4. Imunistoquímica - Odontologia. I. Título.

CDD: 617.6342



Este trabalho foi realizado no Laboratório de Pesquisas em Odontologia e no Laboratório de Patologia da Universidade de Ribeirão Preto- UNAERP.



Dedicatórias

A Deus, que está presente em todos os dias da minha vida iluminando-me com sua sabedoria, força e beleza.

À minha **esposa Daisy M. E. Berndt Frischknecht**, aos **meus filhos Rodrigo Henrique Frischknecht e Gabriela Frischknecht** e aos **meus Pais Gert Egon Frischknecht e Marisa Frischknecht** pelo apoio, pela compreensão de minhas ausências e por viabilizarem meus estudos sem nunca medir em esforços.



Agradecimentos

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP, representado pela **Magnífica Reitora, Profa Dra. Elmara Lúcia de Oliveira Bonini Corauci.**

Ao **Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez**, pela sabedoria nos ensinamentos transmitidos, e pela orientação deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Manoel Damião Sousa Neto** pelos ensinamentos e exemplo de dedicação à pesquisa.

A **Profa. Dra. Yara Terezinha Silva Sousa**, coordenadora do Programa de Pós-Graduação de Odontologia da UNAERP; e **a Profa. Dra. Neide Aparecida de Souza Lehfeld**, Pró-Reitora da Pós-Graduação da UNAERP pelos ensinamentos e excelente administração.

Ao **Prof. Dr. Edson Alfredo** pelos ensinamentos, pela retidão, exemplo de moralidade e pela amizade sincera.

Ao **Prof. Dr. Luís Pascoal Vansan** pelos ensinamentos e momentos de reflexão e filosofia.

Aos **Profa. Dra. Cristina Paschoalato, Prof. Dr. Lucas de Souza Lehfeld, Prof. Manoel Henrique Gabarra, Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva, Prof. Dr. Sílvio Rocha Corrêa Silva, Profa. Dra. Aline Evangelista de Souza Gabriel** pela harmonia na transmissão de seus conhecimentos.

Ao **Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida**, da área de Patologia Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/Unicamp, por disponibilizar o laboratório e anticorpos utilizados neste estudo.

A ***Cecília Maria Zanferdini*** secretária da Pós Graduação, e **Rosemary Alexandre**, técnica do Laboratório de Patologia, pela atenção, apoio, disponibilidade, eficiência e dedicação aos seus trabalhos.

Ao ***Prof. Dr. Egon Schramm***, Ex-Reitor da Universidade Regional de Blumenau (FURB), ao ***Prof. Dr. Edésio Luiz Simionatto***, Ex-Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação e Extensão da FURB, ao ***Prof. Romulado Izon Heil*** Ex-Diretor do Centro de Ciências da Saúde da FURB, ***Prof. Marcio Cristiano de Souza Rastelli*** Ex-Coordenador do Colegiado do Curso de Odontologia da FURB e ao colega ***Prof. Luiz Roberto Tiepo*** pelo apoio e incentivos diante dos desafios enfrentados.

A ***Margareth dos Santos Paz Silva*** e ***Sandra Regina Costa***, bibliotecárias da Biblioteca Universitária Campus III da FURB pelo sempre cordial pronto-atendimento.

Ao Cirurgião Dentista ***Ariel José Bona*** pela amizade e auxílio em diversos trabalhos.



Sumário

RESUMO

SUMMARY

INTRODUÇÃO 01

REVISTA DA LITERATURA 11

PROPOSIÇÃO 41

MATERIAL E MÉTODOS 43

RESULTADOS 50

DISCUSSÃO 63

CONCLUSÕES 77

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 79

ANEXOS



Resumo

O objetivo deste estudo foi determinar o perfil de citoqueratinas (CKs) em cistos radiculares por meio da expressão imunoistoquímica das citoqueratinas 34BE12, 5, 8, 10, 14, 16 e 19 e correlacioná-la com a intensidade do infiltrado inflamatório presente na cápsula conjuntiva e a espessura do revestimento epitelial. Para o estudo, foram analisados 56 casos de cisto radicular, oriundos dos arquivos do Laboratório de Patologia Bucal da Universidade de Ribeirão Preto. Os dados clínicos e epidemiológicos foram coletados das fichas de encaminhamento das lesões. Microscopicamente, o epitélio de revestimento cístico foi classificado em hiperplásico ou não-hiperplásico e a intensidade da reação inflamatória na cápsula cística classificada em leve ou intensa. Cortes histológicos de 3 μ m de espessura foram obtidos de blocos de parafina, nos quais foram realizadas reações imunoistoquímicas, utilizando o método estreptavidina-biotina-peroxidase. A leitura das reações foi realizada de forma semi-quantitativa por dois examinadores que fizeram as avaliações de forma separada e independente, em aumento de 200x e 400x, considerando a expressão de citoqueratinas nas células epiteliais do revestimento cístico, adotando os seguintes critérios: negativo: $\leq 10\%$ de células positivas e positivo: $> 10\%$ de células positivas. Além disso, a distribuição das CKs, nas camadas basal ou suprabasal, foi verificada. Para análise estatística, utilizou-se a correlação de coeficientes de Spearman, adotando significância de 5%. Inflamação crônica intensa ocorreu em 60,7% dos casos e epitélio hiperplásico foi observado em 58,9% dos cistos radiculares avaliados. Todos os casos foram positivos para 34BE12, CK5 e CK14. CK19 foi expressa em 91,1% dos casos, sobretudo nas camadas suprabasais. A maioria dos casos foi negativa para CK8 (83,9%), CK10 (89,3%) e CK16 (77,8%). Correlação positiva e estatisticamente significativa foi observada entre inflamação intensa e epitélio hiperplásico. Entretanto, não houve correlação entre o perfil de citoqueratinas, a intensidade da reação inflamatória e a espessura epitelial, exceto para CK19, que apresentou maior expressão nos casos com reação inflamatória intensa ($p=0,05$) e epitélio hiperplásico ($p=0,06$). Concluiu-se que as CKs 5, 14 e 19 são fortemente expressas no revestimento epitelial do cisto radicular e correlação significativa foi observada entre a expressão de CK19 e a intensidade da reação inflamatória e espessura do revestimento epitelial cístico.



Summary

The aim of the study was to determine the cytokeratin (CK) profile in radicular cysts, evaluating the immunohistochemical expression of 34BE12, CK5, 8, 10, 14, 16 and 19, and to correlate with the degree of the inflammatory reaction in the stroma and the thickness of the epithelial lining. For the study, 56 radicular cysts were evaluated, from the Oral Pathology Laboratory, University of Ribeirao Preto. The clinical and epidemiological data were retrieved of the register forms of the lesions sent to Laboratory. Microscopically, the epithelial lining was classified in hyperplasic or non-hyperplasic, and the degree of the inflammation in the conjunctive capsule classified in mild or severe. Histological sections of 3 μ m were obtained from paraffin-embedded tissue blocks, in which the immunohistochemical reactions were carried out, using the streptavidin-biotin-peroxidase method. In order to determine the CK expression, the slides were independently evaluated by 2 observers, in power fields of 200x and 400x), according to following criteria: negative - \leq 10% of positive cells or positive - $>$ 10% of positive cells. Moreover, the CK expression in the suprabasal or basal layers was assessed. For statistical analysis, it was used the Spearman correlation coefficients, considering a significance of 5%. Severe chronic inflammation occurred in 60.7% of the cases and hyperplasic epithelium was observed in 58.9% of the radicular cysts. All cases were positive for 34BE12, CK5 and CK14. CK19 was expressed in 91.1% of the cases, mainly in the suprabasal layers. Most cases were negative for CK8 (83.9%), CK10 (89.3%) and CK16 (77.8%). Positive correlation and statistically significant was observed between severe inflammation and hyperplasic epithelium. However, no correlation between the CK profile, degree of the inflammatory reaction and epithelial thickness was observed, except for CK19, which showed higher expression in the cases with severe chronic inflammation ($p=0.05$) and hyperplasic epithelium ($p=0.06$). In conclusion, CKs 5, 14 and 19 are strongly express in the epithelial lining from the radicular cyst and significant correlation was observed between CK19 expression and the degree of the inflammation and epithelial thickness.



Introdução

Cistos são cavidades patológicas revestidas por tecido conjuntivo epitelial, que contêm no seu interior material líquido ou semissólido. Adjacente ao epitélio de revestimento cístico há uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso, sendo a presença desse revestimento epitelial necessária para o cisto ser considerado verdadeiro. A grande maioria dos cistos ósseos revestidos por epitélio é restrita ao complexo maxilo-mandibular (SHEAR; SPEIGHT, 2007; REGEZI et al., 2008; POOMSAWATS et al., 2009; SUN et al., 2009).

Os cistos e tumores odontogênicos representam uma diversidade de lesões que podem surgir dos tecidos odontogênicos e ocorrem exclusivamente na maxila e mandíbula, ou no tecido gengival que recobre o osso alveolar (KRAMER et al., 1992; BARNES et al., 2005; SHEAR; SPEIGHT, 2007). Cistos odontogênicos são originados no epitélio odontogênico e podem ser subclassificados em cistos de desenvolvimento e inflamatórios. Cistos de desenvolvimento são de causa desconhecida e os cistos odontogênicos inflamatórios resultam de estímulo inflamatório, principalmente originário de canal radicular com polpa necrótica (KRAMER et al., 1992; BARNES et al., 2005; SHEAR; SPEIGHT, 2007; REGEZI et al., 2008; NEVILLE et al., 2009; SUN et al., 2009).

Entre as lesões císticas odontogênicas mais frequentes estão os cistos radicular, dentígero e o queratocisto odontogênico, sendo este último reclassificado pela Organização Mundial da Saúde como neoplasia benigna cística, denominado atualmente tumor odontogênico queratocístico (BARNES et al., 2005). O cisto radicular é a lesão cística mais comum dos maxilares e possui origem inflamatória

(JONES et al., 2006; VARGAS et al., 2007; SHEAR; SPEIGHT, 2007; GROSSMANN et al., 2007; MALCIC et al., 2008).

Os cistos odontogênicos inflamatórios são os cistos radicular e o paradental. O radicular é resultante de processo infeccioso polimicrobiano localizado no interior do sistema de canais radiculares, o que gera resposta inflamatória que estimula os restos epiteliais da odontogênese presentes no ligamento periodontal. (KRAMER et al., 1992; RUIZ et al., 2003; FRISCHKNECHT, 2006; SHEAR; SPEIGHT, 2007; COLIC et al., 2008). Já o cisto paradental é oriundo de episódios inflamatórios gengivais e periodontais como a pericoronarite e resulta da impacção de alimentos, e microorganismos em molares inferiores vitais com erupção parcial (KRAMER et al., 1992; FRISCHKNECHT, 2006; SHEAR; SPEIGHT, 2007).

De acordo com a sua localização anatômica, o cisto radicular pode ser subclassificado em três variantes: periapical, lateral e residual (KRAMER et al. 1992; SHEAR; SPEIGHT, 2007; REGEZI et al., 2008). A etiologia, manutenção e crescimento do cisto radicular estão relacionados com a presença de bactérias e ou produtos tanto no interior do canal radicular, como no interior das lesões (ROCHA et al., 1998; SIQUEIRA-JÚNIOR; RÔÇAS, 2005; RICUCCI et al. 2006; GARCIA, 2007; RICUCCI; SIQUEIRA-JÚNIOR, 2008). Processos inflamatório e imunológico de defesa ocorrem no intuito de conter a infecção endodôntica presente e esse processo inflamatório representa o estímulo para a proliferação epitelial e manutenção da lesão. Vários autores sugerem que, se houver a eliminação do estímulo inflamatório, a lesão cística regredirá (ROCHA, 1991; SIQUEIRA, 1997; SIQUEIRA-JÚNIOR; DANTAS, 2000;

SIQUEIRA-JÚNIOR, 2001; RAMOS; BRAMANTE, 2001; RUIZ et al., 2003; ÇALISKAN, 2004; MARTIN, 2007; SAATCHI, 2007; RICUCCI; SIQUEIRA-JÚNIOR, 2008).

Assim, a transformação cística da inflamação crônica radicular apical ou lateral ocorre por estimulação dos restos epiteliais de Malassez presentes no ligamento periodontal (SHEAR; SPEIGHT, 2007). Os mecanismos responsáveis pela indução à proliferação epitelial, bem como pelo processo de crescimento e expansão cística estão associados a eventos imunopatológicos em resposta a infecção bacteriana e são temas bastante estudados atualmente, em destaque o epitélio, suas alterações e componentes moleculares no intuito de elucidar a etiopatogênese e comportamento biológico (PIATTELLI et al., 2004; LEONARDI et al., 2005; LUKIC et al., 2006; KUSAFUKA et al., 2006; MENEZES et al., 2006; MOLDAUER et al., 2006; IEZZI et al., 2007; HAYASHI et al., 2008; MUGLALI et al., 2008; NADALIN, 2008; COLIC et al., 2008; ALI, 2008; LIMA, 2009; GARCIA et al., 2009; POOMSAWAT et al., 2009).

O epitélio cístico é formado por queratinócitos, uniões celulares e membrana basal. Todas as células dos mamíferos possuem citoesqueleto que é constituído por três unidades: microfilamentos de actina, microtúbulos de tubulina e filamentos intermediários (OMARY et al., 2006). Citoesqueleto é uma rede de fibras protéicas que funciona como uma armação, responsável por manter a consistência e forma da célula, as junções celulares e auxiliar nos movimentos celulares (CHU; WEISS, 2002; OMARY et al., 2006).

Os filamentos intermediários (FI) são extremamente insolúveis, de composição protéica, completamente diferente da encontrada nos microfilamentos e nos

microtúbulos. Por possuírem o diâmetro entre 7 e 11 nm foram denominados filamentos intermediários, isto é, com diâmetro entre os microtúbulos (20-25 nm) e os microfilamentos de actina (5-6 nm). (MACHADO; FIGUEIREDO, 1996). São constituídos de subunidades de proteínas fibrosas de cadeia longa, denominadas monômeros, dois enrolados formam um dímero, dois dímeros enrolados formam um tetrâmero, tetrâmeros enrolados numa arquitetura semelhante a um cabo formam um FI, sendo que o FI pode conter entre 20 a 40 monômeros (CHU; WEISS, 2002). Os FI formam rede que dá resistência mecânica e estrutural às células, mas não estão relacionados com os movimentos celulares, a exemplo, dos microfilamentos de actina, microtúbulos de tubulina. (CHU; WEISS, 2002). Há 6 tipos de FI: filamentos de queratina (citoqueratinas (CKs)- tipos I e II), desmina, vimentina, proteína ácida da glia e neurofilamentos (OMARY et al., 2006).

As CKs são os filamentos intermediários mais abundantes nas células eucarióticas epiteliais (FRANKE et al., 1981). As CKs podem ser classificadas em alto e baixo peso molecular, ácidas ou básicas dependendo do seu ponto isoelétrico. Essas proteínas compõem exclusivamente o citoesqueleto de células epiteliais, consistindo de uma família altamente conservada com cerca de 20 polipeptídeos diferentes, distintos entre si pelo peso molecular e imunorreatividade, cujos pesos moleculares variam entre 40 e 70 kDa. Constituem-se em diferentes tipos de polipeptídeos expressos em vários tipos de epitélio, com sua localização intercelular variando de acordo com o estágio de desenvolvimento, o tipo celular, a diferenciação tecidual e as alterações patológicas (CHU; WEISS, 2002; LOPES et al., 2005).

As estruturas embrionárias envolvidas na odontogênese, lâmina dentária e posteriormente a formação do órgão dentário, são formadas por células epiteliais, as quais são caracterizadas pela presença de grupos específicos de CKs. As CKs são marcadores teciduais específicos e determinam o estágio de diferenciação do epitélio. Algumas CKs são expressas aos pares ou são complementares, ácidas e básicas, como a CK1/10, CK3/12, CK4/13, CK5/14, CK6/16 e CK8/18 (MATA, 2007).

Estudos têm sido realizados para determinar a expressão e o perfil de CKs em várias doenças epiteliais, com o objetivo de estabelecer a patogênese, as alterações estruturais no epitélio submetido a traumas ou estímulos nocivos e auxiliar no diagnóstico (AUGUST et al., 2000; KAMINAGAKURA et al., 2006; BONAN et al., 2006; VARGAS et al., 2007). Particularmente nos cistos odontogênicos, o perfil de expressão de citoqueratinas tem sido estudado com os mesmos objetivos (WAGNER et al., 1999; MEARA et al., 2000; AUGUST et al., 2000; LU et al., 2002; SILVA et al., 2002), além de avaliar a alteração nos padrões de expressão de CKs na metaplasia do epitélio de revestimento cístico associada a diferentes tratamentos propostos para essas lesões, como a marsupialização (AUGUST et al., 2003).

Estudos prévios não identificaram a expressão das CK1, CK2, CK3, CK9, CK11, CK12, CK15, CK18 e CK20 nos cistos radiculares. As CK1 e CK2 foram apenas encontradas, embora incomuns, no cisto dentígero e tumor odontogênico queratocístico. As CK3 e CK12 são encontradas no epitélio da córnea humana, não sendo encontradas no epitélio oral. A CK9 é encontrada na epiderme, não sendo relatada no epitélio da mucosa oral, enquanto a CK11 é encontrada nos epitélios da

gingiva e palato duro. As CK9 e CK11 não foram relatadas em cistos radiculares e tumores odontogênicos queratocísticos, porém ambas foram raramente observadas no cisto dentífero. Em relação à CK15, não há estudos que avaliaram essa proteína no cisto radicular. A CK18 não foi identificada no cisto radicular (HORMIA et al., 1987; PIRES et al., 2004), mas apresenta rara expressão no tumor odontogênico queratocístico (SHEAR, 2002) e cisto dentífero (SHEAR, 2002; PIRES et al., 2004). Já a CK20 é encontrada no epitélio do intestino humano, e na mucosa bucal está presente nas papilas gustativas e células de Merkel (HORMIA et al., 1987; MORGAN et al., 1988; WAGNER et al., 1999; BARRETT et al., 2000; SHEAR, 2002; SILVEIRA et al., 2002; ALMEIDA JR, 2004).

A CK17 apresenta pouca expressão nos cistos radiculares, cistos dentíferos e ameloblastoma, porém apresenta expressão frequente nos tumores odontogênicos queratocísticos, sendo um importante marcador no diagnóstico desta lesão (MEARA et al., 2000; STOLL et al., 2005).

A CK10 é incomum nos cistos radiculares e cisto dentíferos. Entretanto, a CK10 é frequentemente encontrada na camada superior e na paraqueratina superficial do tumor odontogênico queratocístico. A punção aspirativa por agulha fina (PAAF) tem sido descrita como ferramenta importante na coleta de células das camadas superficiais, permitindo a obtenção de esfregaços citológicos e posterior reação imunocitoquímica para CKs (AUGUST et al., 2000). A CK10 tem sido sugerida como proteína importante para o diagnóstico do tumor odontogênico queratocístico em esfregaços citológicos, sendo achado significante na distinção citológica entre as

lesões císticas odontogênicas mais frequentes (AUGUST et al., 2000; STOLL et al., 2005)

As CK4, CK5, CK6, CK7, CK8, CK13, CK14 apresentam expressão comum e variável nas lesões císticas odontogênicas mais frequentes, como o cisto radicular, o cisto dentífero e o tumor odontogênico queratocístico. A CK5 é uma CK básica, de alto peso molecular, que é expressa principalmente nas células epiteliais das glândulas mamárias normais (MATA, 2007). Há muito poucos estudos que avaliaram a expressão de CK5 em cistos radiculares (PIRES et al., 2004; STOLL et al., 2005). Já a CK7 tem demonstrado expressão comum para as camadas suprabasal do cisto dentífero e tumor odontogênico queratocístico, mas uma expressão variável no cisto radicular (WAGNER et al., 1999; PIRES et al., 2004; STOLL et al., 2005; GARCIA et al., 2009). Embora a CK8 não seja observada em epitélios odontogênicos embrionários, alguns estudos encontraram alta porcentagem de expressão em cistos radiculares (LU et al., 2002; PIRES et al., 2004).

A CK14 é comumente expressa na camada basal de tecidos epiteliais estratificados queratinizados e não-queratinizados, como ocorre no tumor odontogênico queratocístico. (MORGAN et al., 1988; GAO et al., 1989; MEARA et al., 2000; SHEAR, 2002; SILVA et al., 2002; SILVEIRA et al., 2002; ALMEIDA JR, 2004; VARGAS et al., 2007). Adicionalmente, é encontrada na camada basal de epitélio glandular e mioepitélio (MATA, 2007). Em cistos radiculares, CK14 é frequentemente expressa (PIRES et al., 2004).

Alguns estudos avaliaram a expressão de coquetéis de CKs em lesões císticas odontogênicas, cujos coquetéis são compostos por grupos de citoqueratinas distintas (HORMIA et al., 1987; GAO et al., 1988). O clone 34BE12 é formado por um coquetel de CKs de alto peso molecular que compreende as CKs 1, 5, 10 e 14, enquanto o clone AE1/AE3 é composto por um coquetel de CKs de baixo peso molecular (MATA, 2007). Embora não permita a avaliação individual de cada CK, os coquetéis são úteis para confirmar a origem epitelial e certificar a viabilidade das células epiteliais.

A CK19 apresenta expressão variável nos cistos odontogênicos mais comuns, sendo expressa apenas nas camadas mais superficiais dos tumores odontogênicos queratocísticos (WAGNER et al., 1999; MEARA et al., 2000; STOLL et al., 2005; VARGAS, et al. 2007). Esta citoqueratina se mostrou importante na distinção entre o cisto odontogênico glandular e o carcinoma mucoepidermóide central, lesões de comportamento biológico e prognóstico completamente distintos, mas que podem apresentar características histopatológicas semelhantes (PIRES et al., 2004).

Percebe-se que as pesquisas de expressão de citoqueratinas em relação aos cistos odontogênicos mais comuns direcionam maior ênfase ao tumor odontogênico queratocístico. Adicionalmente, o perfil de CKs pode ser modificado em tecidos epiteliais submetidos à constante irritação devido à reação inflamatória no tecido conjuntivo adjacente (KAMINAGAKURA et al., 2006). Como em cistos inflamatórios, em especial nos cistos radiculares, há frequentemente a presença de infiltrado inflamatório de intensidade variável, a expressão de CKs no epitélio de revestimento eventualmente pode ser alterada. Entretanto, não há estudos avaliando tal hipótese.

Assim, torna-se relevante avaliar comparativamente a expressão das diversas CKs no cisto radicular, bem como verificar a influência da inflamação no perfil de CKs.



Revista da Literatura

HORMIA et al. (1987) compararam imunistoquimicamente a expressão de citoqueratinas (CKs) em lesões císticas odontogênicas e amostras epitélio gengival marginal normal. As lesões císticas estudadas compreenderam 4 cistos radiculares periapicais, 2 cistos radiculares residuais, 4 cistos foliculares, 5 queratocistos odontogênicos e 1 ameloblastoma. Utilizaram os anticorpos monoclonais: PKK1 que apresenta reatividade normal no epitélio simples e glandular, contra as CKs 8, 18 e 19; PKK2 que é reativo em células mioepiteliais, epitélio folicular e camada basal da epiderme, contra as CKs 7, 17 e 19; PKK3 e Ks18.18 reativos em epitélio simples, contra CK18; KA1 reativo em todos epitélios escamosos estratificado não queratinizado e em células basais da epiderme; Ks8.12 reativo em epitélio escamoso estratificado não queratinizado, em células basais de epitélio pseudoestratificado e epitélio de transição, contra as CK13 e CK16; Km4.62 reativo em células basais de epitélios de transição e epitélios simples contra a CK19; KA5 reativo em epitélios queratinizados, contra as CK1, CK9, CK10 e CK11; e Kk8.6 reativo em epitélios queratinizados, contra CK10 e CK11. Os resultados revelaram que os anticorpos PKK2 e KA1 foram expressos uniformemente em todos os cistos e no epitélio gengival, entretanto a KA1 não foi expressa no ameloblastoma. Os anticorpos PKK1, Km4.62 e Kk8.6 foram expressos nos cistos radiculares e foliculares de maneira heterogênea. Nos queratocistos e no epitélio gengival os anticorpos PKK1 e Km4.62 reagiram principalmente com as células basais, enquanto o Kk8.6 na camada suprabasal. Os anticorpos PKK3 e Ks18.18 foram expressos no ameloblastoma e em dois cistos foliculares. Também foi expresso em células solitárias compatíveis com células de

Merkel. Os anticorpos KA5 e Kk8.8 não foram expressos em cistos radiculares, queratocistos e ameloblastomas, mas reagiram com intensidade em 2 cistos foliculares que foram negativos para PKK3 e Ks18.18. Os autores concluíram que os cistos odontogênicos tem diferenças distintas em relação a expressão de CKs. Com a exceção de alguns cistos foliculares não estavam presentes sinais de diferenciação de queratinização. Sugeriram que apenas alguns cistos foliculares parecem compartilhar com o ameloblastoma a expressão de CK18.

GAO et al. (1988) avaliaram por meio de técnica imunoistoquímica a expressão de citoqueratinas 4, 5, 7, 8, 10, 13, 14, 15, 16, 17 e 18 no epitélio de 5 folículos dentais, 7 cistos dentígeros, 5 queratocistos odontogênicos, 3 cistos nasopalatinos e 1 cisto epidermóide. Relataram que o epitélio dos folículos dentais e dos cistos odontogênicos de desenvolvimento expressaram com forte intensidade as citoqueratinas 5 e 19 e fraca expressão para as demais citoqueratinas comuns a epitélio estratificado não queratinizado e epitélio simples. O cisto nasopalatino apresentou forte intensidade de expressão para as citoqueratinas de epitélio simples e o cisto epidermóide foi fortemente expresso para os anticorpos para de epitélios queratinizados. Os autores concluíram que os cistos odontogênicos apresentaram perfil diferente de citoqueratinas, comparados a cistos não odontogênicos e sugeriram que a expressão de citoqueratinas em lesões derivadas do epitélio odontogênico apresenta perfil similar de citoqueratinas.

NAIR et al. (1998) avaliaram *in vitro*, o papel dos cristais de colesterol no retardo do processo de reparação. Cristais de colesterol puros foram inseridos em

copos de teflon e implantados em tecido subcutâneo de cobaias. As análises histológicas foram realizadas nos períodos de 2, 4 e 32 semanas após a implantação dos cristais. Os cristais de colesterol foram circundados por numerosos macrófagos e células gigantes multinucleadas de corpo estranho, formando área bem circunscrita de reação tecidual. Após 8 meses, as células não conseguiram eliminar os cristais. Os autores concluíram que, como a coleção de macrófagos e células gigantes multinucleadas de corpo estranho são a maior fonte de inflamação apical, os achados sugerem que o acúmulo de cristais de colesterol em certas lesões periapicais crônicas pode ser fator de insucesso do tratamento endodôntico.

WAGNER et al. (1999) investigaram imunoistoquimicamente a expressão de citoqueratinas 7, 19, 20 e da proteína p53 em 20 cistos radiculares (CR), 20 cistos dentígeros (CD) e 17 queratocistos odontogênicos (QO). Os resultados demonstraram que a CK7 apresentou expressão variável em todos os tipos de cistos e a CK20 não foi expressa em nenhum tipo de cisto. A CK19 foi expressa em 68% dos CR e 70% dos CD, mas 100% negativa para o QO. A expressão de p53 foi 100% negativa para o CR e CD e 88% positiva para o QO. Os autores sugeriram que é possível diagnosticar o QO pela ausência da CK19 e presença da proteína p53.

AUGUST et al. (2000) avaliaram a eficácia da punção aspirativa por agulha fina (PAAF) e do marcador imunoistoquímico para citoqueratina 10 (CK10) na diferenciação do queratocisto odontogênico (QO) em relação ao cisto dentígero e outros cistos não queratinizados. Realizaram estudo prospectivo de 18 PAAFs realizadas em lesões císticas odontogênicas no Hospital Geral de Massachusetts entre

1995 e 1998. Descreveram técnica consistente e padronizada para obter o material citológico. A marcação imunoistoquímica foi com anticorpo monoclonal contra a CK10. Os resultados revelaram que as células de 10 das 18 PAAFs exibiram imunoreação positiva e marcada acentuadamente para CK10, suportando diagnóstico de QO. Em todos os 10 casos, o diagnóstico definitivo foi confirmado por histopatologia. Seis dos 18 casos exibiram ausência de marcador e foram interpretados como negativo para CK10. Em 2 casos, a marcação com CK10 foi fraca sendo em ocasionais células escamosas, interpretados como padrão negativo para QO e diagnosticados como cistos não queratinizados. Em todos os 8 casos o diagnóstico de QO foi excluído baseado no resultado imunoistoquímico e o diagnóstico histopatológico final revelou 4 cistos dentígeros e 4 cistos radiculares.

BARRETT et al. (2000) avaliaram a expressão imunoistoquímica de citoqueratina 20 (CK20) em espécimes de mucosa bucal humana normal de quatro locais distintos, displasias epiteliais bucais, carcinomas espinocelulares bucais, cistos odontogênicos, incluindo casos de cistos radiculares, tumores odontogênicos, epitélio normal e neoplásico de glândulas salivares, epitélio gastrintestinal e mucosa bucal normal de outras espécies animais. Células positivas para CK20 localizadas basalmente, apresentando forma angular ou arredondada, compatíveis com células de Merkel foram observadas em 75% das amostras de mucosa normal de gengiva mandibular, 78,1% das localizadas em palato duro e 21,9% daquelas situadas na mucosa jugal, enquanto nenhuma amostra de epitélio bucal localizada na borda de língua foi positiva para CK20. Além das células de Merkel, papilas gustativas também

expressaram CK20. Não havia expressão de CK20 nas outras lesões avaliadas e na mucosa bucal de outras espécies animais. Células luminais da mucosa gastrintestinal mostraram positividade para CK20. Os autores concluíram que na mucosa bucal, CK20 é marcador específico para células de Merkel e papilas gustativas e que as células de Merkel são mais frequentemente presentes em mucosa bucal queratinizada do que na mucosa não queratinizada.

MEARA et al. (2000) objetivaram identificar expressão diferencial de citoqueratinas em lesões císticas mandibulares utilizando marcadores imunoistoquímicos. Vinte e quatro espécimes em parafina foram selecionados aleatoriamente para investigação com 5 marcadores imunoistoquímicos. As quatro categorias de diagnóstico incluíram ameloblastoma (AB), cisto dentífero (CD), queratocisto odontogênico (QO) e queratocisto odontogênico recorrente em pacientes com síndrome do carcinoma nevóide de células basais (QO/SCNCB). Os cinco marcadores imunoistoquímicos incluíram anticorpos para citoqueratinas 13, 17 e 18; CAM 5.2; AE 1/3; e o antígeno carcinoembrionário (CEA). O CEA é uma glicoproteína sintetizada durante o desenvolvimento normal no trato gastrintestinal e pâncreas e é secretada no sistema circulatório. É utilizado como marcador de câncer gastrintestinal. A CAM 5.2 representa os anticorpos para CK7/8. AE1 representam anticorpo para CKs ácidas e AE3 para CKs neutras e básicas, logo AE1/AE3 representam todas as Cks de baixo peso molecular. Os resultados revelaram que CEA foi expresso em todos QOs, QOs/SCNCB, e ABs. Nos CDs, somente um apresentou expressão, a qual foi fraca e focal. Todos os tipos de lesões apresentaram expressão

variável para a CAM 5.2. Todas as lesões expressaram AE1/AE3. A CK13 também foi expressa em todas as lesões. A CK18 foi expressa em apenas 1 QO, apresentando expressão variável nos demais tipos de lesões. A CK17 foi expressa em todos os QOs QOs/SNB e em apenas alguns CDs e ABs. A intensidade da marcação foi fraca a moderada nos CDs e ABs e moderada a intensa nos QOs e intensa nos QOs/SNBC. A CK17 foi expressa em todas as camadas de todos os casos de QOs/SNBC, em todas as camadas de alguns QOs, e nas camadas superiores ou focalmente nos ABs e CDs. Estes resultados sugerem que a CK17 pode auxiliar no diagnóstico de QOs e pode ser utilizado também para subdividir essas lesões baseadas na presença ou ausência de SNBCC.

SILVA et al. (2002) compararam o perfil imunoistoquímico do cisto odontogênico ortoqueratinizado (COO) e do queratocisto odontogênico (QO). Os autores utilizaram 12 casos de COOs e 12 casos de QOs que foram submetidos à painel de anticorpos anti-CKs 10, 13 e 14, assim como para proteínas da matriz extracelular: fibronectina, colágeno I e III e tenascina. A CK10 para o QO esteve presente nas camadas intermediária (IN) e superficial (SU), já na COO esteve presente não só nas camadas IN e SU, como também na suprabasal (SB). A CK13 esteve presente no QO nas camadas IN e SU, porém no COO só ocasionalmente na SB e IN. A CK14 esteve presente somente na camada basal (BA) do QO enquanto que no COO esteve presente nas camadas BA e SB. Todas as proteínas extracelulares estudadas estiveram presentes nos QOs. Entretanto nos COOs a proteína tenascina não esteve presente. Os autores sugeriram que o perfil imunoistoquímico do QO é

compatível com perfil biológico mais agressivo quando comparado ao COO e portanto, são lesões distintas.

SILVEIRA et al. (2002) realizaram revisão de literatura sobre citoqueratinas e sua aplicação na patologia bucal. Relataram que as citoqueratinas são um tipo de filamento intermediário, presente no citoplasma de células epiteliais animais eucarióticas, que ajudam a manter o citoesqueleto, conferindo estabilidade e resistência a estresses mecânicos. As citoqueratinas são divididas de acordo com seus pesos moleculares, pH e determinantes antigênicos. Existem pelo menos 20 citoqueratinas nas células epiteliais humanas. As citoqueratinas do tipo I cuja constituição bioquímica é ácida são numeradas de 9 a 20 e as citoqueratinas do tipo II cuja constituição bioquímica é neutra ou básica são numeradas de 1 a 8. A expressão normal das citoqueratinas geralmente se dá aos pares. Assim, a maioria das citoqueratinas ácidas forma par com citoqueratina básica, definindo assim a sua expressão. Essas proteínas têm considerável grau de especificidade tecidual, variando de acordo com o tipo de célula, com a diferenciação tecidual e com alterações patológicas. Os autores relataram a distribuição anatômica e topográfica das citoqueratinas no epitélio oral normal conhecida. Relataram que existem alterações no padrão de citoqueratinas em lesões de desenvolvimento, displásicas e neoplásicas. Citam o carcinoma epidermóide que representa 90% das neoplasias orais, quando pobremente diferenciado, apresenta redução dos pares de citoqueratinas 1-10, 4-13 e aumento das citoqueratina 7, e do par de citoqueratinas 8-18. Explicam que algumas alterações patológicas expressam mudanças no padrão de citoqueratinas,

mas não no perfil destas. Os autores concluíram que o padrão de citoqueratinas como marcadores da diferenciação epitelial tem importância no diagnóstico diferencial entre neoplasias epiteliais e mesenquimais sediadas na cavidade oral, na distinção de diferentes tipos celulares dentro do mesmo tecido, no reconhecimento de tumores metastáticos, em estudos histogenéticos e na classificação de neoplasias malignas pobremente diferenciadas.

CHU et al. (2002) realizaram revisão de literatura sobre a expressão de citoqueratinas em tecidos humanos e neoplásicos. Relataram que as citoqueratinas constituem os tipos I e II dos filamentos intermediários. Existem 20 subtipos de citoqueratinas (CKs) nomeados de 1 a 20. As CKs 1 a 9 são básicas e representam o tipo II, enquanto as CKs 10 a 20 são ácidas e representam o tipo I. O seu peso molecular varia entre 40 a 70 kDa. Poucas citoqueratinas são expressas somente em tecidos humanos normais. Vários tecidos foram subclassificados de acordo com o modelo de expressão de citoqueratinas. Os epitélios simples geralmente expressam mais as CK7, CK18, CK19 e CK20. As CK8 e CK18 são mais encontradas em células secretoras e parenquimatosas. A CK7 e CK19 são encontradas nos epitélios de ductos da bile, do pâncreas, renal e epitélio gastrointestinal. A CK20 é encontrada em epitélio gastrointestinal, nas células de Merkel da pele e nas papilas gustativas da mucosa oral. Já os epitélios complexos expressam mais as CK5, CK6, CK10, CK14 e CK15. A CK5 e a CK14 são expressas nas células basais de epitélios escamosos e glandulares, em mioepitélios e no folheto embrionário denominado mesotélio. A CK15 é expressa em epitélios escamosos. A CK8, CK18 e CK19 são expressas em epitélios

escamosos estratificados não-cornificados. A CK1, CK10 e CK11 são expressas nas epidermes, com marcação em toda a camada suprabasal. A CK9 é expressa na epiderme da palma das mãos e pés, camada suprabasal. A CK2 é expressa na epiderme nas camadas superficiais e no epitélio da gengiva e palato duro, na camada suprabasal. A CK3 e a CK12 são expressas no epitélio da córnea, na camada suprabasal. A CK4 e a CK14 são expressas no epitélio escamoso estratificado não queratinizado de órgão internos, na camada suprabasal. A CK6, a CK16 e a CK17 são expressas em epitélios escamosos hiperproliferativos, na camada suprabasal. As mutações nas citoqueratinas causam determinadas doenças conhecidas. As mutações conhecidas nas citoqueratinas e as respectivas doenças são: nas CK1 e CK10 a eritrodermia ictiosiforme congênita bolhosa, a hiperkeratose epidermolítica, queratodermia palmo-plantar difusa não epidermolítica; na CK2 a ictiose bolhosa de Siemens; nas CK3 e CK12 a distrofia corneana de Meesmann's; nas CK5 e CK14 a epidermólise bolhosa simples; nas CK6 e CK16 a paquioniquia congênita-1, keratoderma palmoplantar não-epidermolítico focal; na CK8 e CK18 a cirrose criptogênica; na CK9 o keratoderma palmoplantar epidermolítico; na CK17 a paquioniquia congênita-2; nas CK7, CK15, CK19 e CK20 ainda não são conhecidas doenças por mutação. Os autores realizaram ampla revisão sobre a expressão de citoqueratinas em neoplasmas relatando que quando o epitélio sofre malignização o seu perfil de CKs usualmente permanece constante.

LU et al. (2002) estudaram os padrões de CK8, CK13 e CK18 e dos respectivos RNAm-CK do epitélio de cistos radiculares comparados ao epitélio colunar

ciliado do epitélio nasal e epitélio escamoso da mucosa oral. Foram analisados 52 cistos radiculares. Para controle foram obtidas 5 amostras intactas de epitélio respiratório nasal e 5 amostras de epitélio escamoso queratinizado gengival. A expressão de CK8, CK13 e CK18 foi investigada POR imunistoquímica. Por meio de hibridização *in situ* a expressão de RNAm-CK18 foi investigada em 24 cistos maxilares e 13 mandibulares e nos grupos controles. E em 24 cistos maxilares e nos grupos controles a expressão de RNAm-CK13 e de RNAm-CK18 foi investigada pela reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR). A CK8 foi expressa em 30 cistos radiculares enquanto as CK13 e CK18 foram expressas em 49 e 30 casos, respectivamente. Dos 37 cistos radiculares que foram avaliados por meio de hibridização *in situ*, o RNAm-CK18 não foi expresso em nenhuma das lesões que eram negativas para CK18. Nos 24 cistos avaliados pela RT-PCR para RNAm-CK18, observou-se expressão positiva em 23 deles. Para a RNAm-CK13, 19 cistos expressaram marcação intensa e 5 cistos com marcação moderada. Os autores concluíram que a RNAm-CK13 e a RNAm-CK18 são constitutivamente expressos nas células epiteliais colunares e escamosas e que a variação do modelo de expressão das citoqueratinas e a expressão de RNAm-CK18 são indicativas da possibilidade de transformação do fenótipo dos cistos radiculares.

NAIR et al. (2002) descreveram três casos de cistos radiculares com revestimento epitelial formado por células ciliadas e também apresentaram um caso de cisto radicular infectado por *Actinomyces*. Para o estudo, cortes histológicos seriados de 256 ápices radiculares com lesões periapicais crônicas foram avaliados

para identificar a presença de cisto radicular com revestimento epitelial composto por células ciliadas. As lesões que apresentavam tal revestimento foram avaliadas em microscópio eletrônico de transmissão. Três cistos com revestimento epitelial formado por células cilíndricas colunares foram identificados. Duas dessas lesões também continham epitélio estratificado escamoso. Todas as lesões afetavam premolares superiores. O lúmen de um dos cistos continha colônias de *Actinomyces*. Os autores concluíram que embora o epitélio estratificado escamoso provavelmente seja derivado dos restos epiteliais de Malassez e as células ciliadas podem ser de origem sinusal. Microrganismos localizados no canal radicular podem alcançar os cistos radiculares, particularmente nas lesões superiores posteriores, disseminando para o seio maxilar.

SHEAR et al. (2002) realizaram revisão de literatura com o objetivo de discutir a natureza agressiva do queratocisto odontogênico (QO), por meio de meta-análise de estudos imunoistoquímicos realizados com vários marcadores, incluindo as de citoqueratinas. Relataram que numerosos estudos de expressão das citoqueratinas foram realizados nos cistos odontogênicos mais comuns com o objetivo de determinar se o perfil de citoqueratinas poderia fornecer dados para diagnóstico preciso. Além disso, avaliaram experimentos comparativos entre o epitélio cístico e a mucosa oral para verificar o desenvolvimento do epitélio odontogênico e se este poderia explicar a patogênese da lesão, e se os perfis de citoqueratinas poderiam explicar a natureza agressiva do QO. Os autores concluíram que os estudos não avançaram ou demonstraram utilização para o diagnóstico seguro, nem elucidaram a

patogênese dos cistos. Em relação à natureza agressiva do QO, verificaram que a CK16 é associada à alta atividade proliferativa, mas estudos também demonstraram a expressão de CK16 em cistos dentígeros (CDs) e cistos radiculares (CRs).

AUGUST et al. (2003) avaliaram a alteração na expressão da CK10, presente na camada supra basal do queratocisto odontogênico (QO), frente ao procedimento de descompressão cística e irrigações domiciliares com clorexidina a 0,12%. Foram selecionados 14 casos clínicos de QOs com diagnóstico definitivo obtido por biópsia. O protocolo de tratamento constituiu de descompressão cística pela remoção da mucosa e tecido ósseo permitindo a colocação de dispositivo inserido na cavidade cística e suturado na mucosa adjacente, mantendo a cavidade aberta, permitindo a irrigação domiciliar com clorexidina a 0,12% 2 vezes por dia. Foram obtidas radiografias e amostras de células epiteliais antes e em intervalos de 3 em 3 meses. Foram avaliados o tamanho da radiolucência e a expressão imunoistoquímica de CK10. Após a média de 8,4 meses, os pesquisadores observaram diminuição média de 65% do tamanho da radiolucência da lesão e metaplasia celular com perda da produção de CK10 em 64% dos casos. Os autores concluíram que ocorre metaplasia celular e perda da produção de CK10 após o procedimento de descompressão cística e irrigações domiciliares com clorexidina a 0,12% por 9 meses.

CRIVELINI et al. (2003) avaliaram a expressão imunoistoquímica de citoqueratinas (CK) 7, 8, 10, 13, 14, 18, 19 e vimentina nos tecidos epiteliais de germes dentários e 5 tipos de tumores odontogênicos. Todas as células dos germes dentários foram positivas para CK14, exceto pré-ameloblastos e ameloblastos

secretores, nos quais a CK14 foi gradualmente substituída por CK19. CK7 foi especialmente expressa nas células da bainha radicular de Hertwig e no retículo estrelado. A lâmina dentária foi a única estrutura a expressar CK13. O epitélio reduzido do órgão dentário expressou CK14 e ocasionalmente CK13. Células semelhantes ao retículo estrelado, presentes no ameloblastoma e fibroma ameloblástico, foram positivas para CK13, o que indica origem diferente do retículo estrelado do germe dentário normal. A expressão de CK14 e os aspectos ultra-estruturais do tumor odontogênico adenomatóide provavelmente indicam origem no epitélio reduzido do órgão dentário. Odontomas apresentaram perfil imunistoquímico similar ao germe dentário. Os autores concluíram que a citoqueratina típica do epitélio odontogênico é CK14, enquanto CK8, 10 e 18 estavam ausentes. As CKs 13 e 19 marcaram epitélio com diferenciação escamosa ou células epiteliais próximas à superfície.

FREGNANI et al. (2003) avaliaram a expressão imunistoquímica das CKs 8, 14, 19, AE1/AE3 e 34 β E12, além da expressão de Mel-CAM (CD146), bcl-2, PCNA e Ki-67 em 10 casos de cisto odontogênico calcificante (COC), o qual foi reclassificado como tumor odontogênico cístico calcificante. Todos os 10 casos afetaram a maxila, sendo 8 intra-ósseos 2 periféricos. Cinco casos centrais eram císticos e 3 estavam associados a odontoma. Os 2 casos periféricos mostravam padrão sólido. Todos os casos foram positivos para as CKs 8, 14, 19, AE1/AE3 e 34 β E12, além de bcl-2, enquanto Mel-CAM foi expresso em 6 casos. Atividade proliferativa foi maior no epitélio da cavidade cística central em relação ao COC associado à odontoma e as

lesões periféricas. Não houve recorrência das lesões, independente da atividade proliferativa. Em resumo, os COCs mostraram padrão de citoqueratinas presentes no epitélio odontogênico e a expressão de bcl-2 e Mel-CAM indica que estas proteínas podem estar envolvidas no desenvolvimento do COC.

ALMEIDA JR (2004) realizou revisão de literatura sobre citoqueratinas e relatou que as citoqueratinas são constituintes do citoesqueleto das células epiteliais, pertencendo aos filamentos intermediários. A distribuição dessas proteínas é específica para cada subtipo de epitélio, permitindo que sejam utilizadas como importantes marcadores de diferenciação. Anticorpos monoclonais permitem sua localização nos tecidos e são utilizados no diagnóstico de tumores. Relatou que, na última década, inúmeras mutações foram descritas em seus genes, levando à alteração na sua estrutura molecular, esclarecendo várias enfermidades cutâneas, como epidermólise bolhosa simples associadas a CK5 e CK14, a hiperqueratose epidermolítica associada a CK1 ou CK10, a hiperqueratose palmoplantar epidermolítica associada a CK1 e CK9, paquioníquia congênita associadas a CK6, CK16 ou CK17, a distrofia corneana associadas a CK3 e CK12, a cirrose criptogênica associadas a CK8 e CK18, o nevo branco esponjoso associado a CK4 e CK13, a paquioníquia congênita e o esteatocistoma multiplex associados a CK17.

NAIR (2004) realizou revisão dos fatores relacionados à etiopatogênese da periodontite apical e as causas relacionadas às falhas no tratamento endodôntico, com persistência da lesão periapical. O autor postulou que a periodontite apical é seqüela originada de infecção endodôntica e se manifesta como resposta de defesa

própria do hospedeiro aos microrganismos patogênicos. Considerou essas lesões como uma reação dinâmica entre fatores relacionados aos microrganismos e à resposta de defesa do hospedeiro na interface entre a polpa radicular infectada e o ligamento periodontal, resultando em inflamação local, reabsorção de tecidos duros, destruição de outros tecidos periapicais e eventual formação de lesões periapicais. O tratamento da periodontite apical, caracterizada como doença proveniente do canal radicular infectado, consiste na eliminação ou redução significativa dos microrganismos, e obturação do canal radicular para evitar reinfecção. Embora o tratamento endodôntico tenha altas taxas de sucesso, ele pode falhar. A maioria das falhas no tratamento é de natureza técnica, não conseguindo controlar e eliminar a infecção no canal radicular. Além disso, outros fatores também podem contribuir para a persistência da periodontite apical, como a formação de reação inflamatória granulomatosa de corpo estranho associada a cristais de colesterol ou a materiais ou substâncias exógenas.

PIRES et al. (2004) avaliaram o perfil de citoqueratinas em cistos odontogênicos glandulares e carcinomas mucoepidermóides centrais, e compararam os resultados com a expressão de CKs em carcinomas mucoepidermóides de glândulas salivares, cistos e tumores odontogênicos. Oitenta e oito casos foram avaliados, incluindo 6 casos de carcinomas mucoepidermóides centrais, 23 carcinomas mucoepidermóides de glândulas salivares, 10 cistos odontogênicos glandulares, 34 cistos odontogênicos (10 cistos radiculares) e 12 ameloblastomas. Os cistos radiculares apresentaram maior número de casos positivos para as CKs 5, 7, 8,

13, 14 e 19. Comparando a expressão dos cistos odontogênicos glandulares e os carcinomas mucoepidermóides centrais, verificou que a CK18 foi mais expressa nos carcinomas mucoepidermóides, enquanto a expressão CK19 foi muito mais comum nos cistos odontogênicos glandulares. Os autores concluíram que o cisto odontogênico glandular e o carcinoma mucoepidermóide central são provavelmente entidades distintas com perfil de CKs semelhante a lesões de origem odontogênica e glandular, respectivamente. Adicionalmente, a expressão das CKs 18 e 19 podem ser úteis na distinção histopatológica dessas lesões.

KICHI et al. (2005) avaliaram a expressão imunohistoquímica da proteína p53, Ki-67 e bcl-2, além da técnica TUNEL no revestimento epitelial de tumores odontogênicos queratocísticos e cistos dentígeros. Células TUNEL-positivas foram observadas na camada superficial e em células basais e intermediárias dos tumores odontogênicos queratocísticos e cistos dentígeros. Nos tumores odontogênicos queratocísticos, as células da camada intermediária foram significativamente mais positivas para Ki67 e proteína p53. Bcl-2 foi positivo somente nas células da camada basal de tumores odontogênicos queratocísticos. Estes resultados sugerem que a proliferação e morte celular são reguladas em associação com as proteínas relacionadas à apoptose no revestimento epitelial de tumores odontogênicos queratocísticos. Assim, eles se apresentam como lesões císticas e não como massas tumorais.

STOLL et al. (2005) avaliaram a expressão de CKs 5/6, 7, 10, 13, 17, 19 e 20 em QO, CD e CR e adicionalmente mensuraram a proliferação celular pela detecção

de Ki-67. Foram utilizados 15 QOs, 30 CDs e 30 CRs. A expressão de CKs 5/6, 7, 10, 13, 17, 19 e 20 e Ki-67 foi determinada por imunistoquímica. A expressão de CKs 5/6 para os 3 tipos de cistos estudados foi acima de 80%. A expressão de CK13 foi próxima a 80% nos três cistos. A expressão de CK7 foi abaixo de 40% para o CR, próximo a 60% para o QO e acima de 60% para o CD. A expressão de CK10 foi de 50% para o QO, abaixo de 20% para o CD e abaixo de 10% para o CR. A expressão de CK17 foi mais de 90% para o QO, acima de 20% para o CR e abaixo de 20% para o CD. A expressão de CK19 foi de 0% para QO e de próximo a 50% para o CD e CR. A CK20 não foi expressa em nenhum tipo de cisto. Ki-67 foi expresso em 100% para o QO e próximo a 80% para os CR e CD. Os autores concluíram que a detecção imunistoquímica de CKs 17 e 19 pode representar parâmetro adicional no diagnóstico diferencial do QO de outros cistos, em especial do CD.

TAKEDA et al. (2005) avaliaram a prevalência de células ciliadas e mucosas no revestimento epitelial de cistos radiculares, dentígeros e tumores odontogênicos queratocísticos. As células mucosas foram encontradas em 20,8% de todos os cistos examinados, enquanto as células ciliadas foram encontradas em 11,4% dos casos. As células ciliadas foram quase sempre acompanhadas por células mucosas. A prevalência de células mucosas nos cistos radicular e dentígero, e de células ciliadas no cisto radicular foram maiores na maxila do que na mandíbula. Por outro lado, a prevalência de células mucosas e ciliadas nos tumores odontogênicos queratocísticos e de células ciliadas nos cistos dentígeros foram maiores na mandíbula que na maxila. Os resultados do presente estudo indicam origem metaplásica das células

mucosas e ciliadas no revestimento epitelial das lesões císticas estudadas, mas a causa e o significado biológico deste fenômeno ainda são desconhecidos.

OMARY et al. (2006) realizaram revisão de literatura sobre a fosforilação dos filamentos intermediários, abordando regiões e importâncias funcionais. Relataram que os filamentos intermediários são os maiores componentes do citoesqueleto dos mamíferos. Eles estão entre as mais abundantes fosfoproteínas celulares. Os monômeros de muitas proteínas que formam os filamentos são moléculas fibrosas e alongadas que possuem cabeça amino-terminal globular, cauda carboxi-terminal globular e domínio-bastão. A fosforilação tipicamente envolve múltiplas regiões em repetição ou motivos únicos, preferencialmente dentro dos domínios de "cabeça" ou "cauda" dos filamentos intermediários. Relataram que a fosforilação e desfosforilação são essenciais para regulação da dinâmica de biomodulação do filamento intermediário, de suas propriedades intrínsecas de solubilidade, de forma e de organização de filamento, e, em adição, a regulação de outros filamentos. Essas fenômenos regulados ditam as propriedades generalizadas e contexto-dependente dos filamentos intermediários e refletem sua função e expressão específica em cada tecido. Citam que a mais importante função da fosforilação é a de regulação da compartimentalização celular e subcelular, de nivelção e de mudanças ligadas a proteínas associadas, disponibilizando a célula para estresses dentro de suas funções específicas em cada tecido.

BONAN et al. (2006) estudaram a expressão de CKs em mucosites bucais radio-induzidas iniciais. Para o estudo, os autores utilizaram 11 casos de mucosite

radio-induzida inicial e 9 espécimes de mucosa bucal normal, os quais foram submetidos a reações imunoistoquímicas para CKs 1, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 18 e 19, utilizando o método da imunoperoxidase. A expressão de CKs 1, 6, 10 e 16 foi mais forte na mucosite do que na mucosa normal. As CKs 7, 8 e 18 foram negativas tanto nos espécimes de mucosite quanto nos de mucosa bucal normal. As CKs 5, 13 e 14 foram positivas para ambos os grupos, entretanto a expressão suprabasal para CK14 foi mais evidente na mucosite que na mucosa bucal normal. Expressão eventual de CK19 foi observada em 1 caso de mucosite e em 2 casos controle. Com esses resultados, os autores concluíram que a expressão aumentada de CKs pode estar associada à proliferação reativa do epitélio e ao aumento da resistência da mucosa bucal durante as fases iniciais da radioterapia.

KAMINAGAKURA et al. (2006) avaliaram a expressão de CK1, CK6, CK10, CK14 e CK16 em 28 casos de paracoccidiodomicose oral que envolviam a mucosa vestibular, lábio, gengiva e palato duro. A paracoccidiodomicose oral é caracterizada inflamação granulomatosa e por hiperplasia epitelial pseudoepiteliomatosa. Os autores compararam a expressão de CKs do epitélio hiperplásico pseudoepitelimatoso da paracoccidiodomicose oral com o epitélio normal. Os resultados revelaram que na camada basal não ocorrem alterações importantes, mas que nas camadas escamosas e superficiais existem alterações significativas. A CK1 e CK10 não foram expressas no epitélio hiperplásico pseudoepitelimatoso, sendo comuns ao epitélio oral normal. Em contraste, houve a expressão da CK14 que é ausente no epitélio normal. A expressão de CK6 foi mais frequente, enquanto a expressão de CK16 foi diminuída na

hiperplasia epitelial pseudoepiteliomatosa. Os autores concluíram que a hiperplasia epitelial pseudoepiteliomatosa da paracoccidioidomicose oral apresenta modelo diferente de expressão de CKs, particularmente das CKs 1, 10 e 14 comparado ao epitélio oral normal.

MATA (2007) avaliou o perfil de citoqueratinas e a expressão de bcl-2 em 66 casos de tumores odontogênicos queratocísticos (TOQ), 26 casos de TOQ associados à síndrome de Gorlin-Goltz e 8 casos de cisto odontogênico ortoqueratinizado. Os casos apresentaram expressão das Cks AE1/AE3, CK5, CK10, CK14 e CK19 em diferentes intensidades. A expressão de Bcl-2 foi estatisticamente significante maior para o TOQ associado à síndrome e TOQ solitário, quando comparados ao cisto odontogênico ortoqueratinizado. O autor concluiu que o TOQ solitário, TOQ associado à síndrome de Gorlin-Goltz e o cisto odontogênico ortoqueratinizado apresentaram perfil semelhante de CKs, mas com padrão distinto para CK5 e CK14.

VARGAS et al. (2007) avaliaram a efetividade da punção aspirativa por agulha fina (PAAF) no diagnóstico de QO, comparando a expressão de CKs 14 e 19 nos esfregaços citológicos e espécimes de biópsia. Oito pacientes com diagnóstico de QO foram submetidos à PAAF e também à biópsia. O material aspirado foi centrifugado, blocos de células foram preparados, e secções de 3 µm foram submetidas à reação imunoistoquímica com anticorpos contra CKs 14 e 19. O mesmo foi realizado para as amostras provenientes da biópsia. Marcação abaixo de 5% da expressão de CKs na lamela de queratina foi classificada como negativa. Os autores observaram que as lamelas de queratina obtidas na PAAF expressavam CK19, mas

eram negativas para CK14, coincidindo com os achados imunoistoquímicos dos espécimes de biópsia, onde verificaram expressão de CK19 somente na camada de queratina superficial, enquanto CK14 era expressa em camadas mais inferiores. Concluíram que a PAAF é método útil e seguro para o estabelecimento do diagnóstico pré-operatório do QO.

VARINAUSKAS et al. (2006) avaliaram a prevalência de cistos maxilo-mandibulares dos arquivos da Universidade de Kaunas durante o período de 1986-2004, e outros aspectos de interesse clínico e terapêutico, tais como suas características clínicas, mudanças que causaram nas estruturas faciais e os dentes que tinham causado a patologia. Oitocentos e cinquenta casos foram estudados, sendo 455 homens e 395 mulheres. A idade dos pacientes variou de 4 a 87 anos, com média de 35,8. Mais da metade dos cistos diagnosticados (63%) localizavam na maxila e restante (37%) deles na mandíbula. As queixas comuns dos pacientes eram aumento de volume, dor, presença de fistula, mobilidade aumentada dos dentes e parestesia. Ao comparar os grupos, foram encontrados (em ordem da direita à esquerda): molares - 1:1, pré-molares 1.3:1, dentes anteriores superiores - 3.3:1, dentes anteriores inferiores 3.8:1, pré-molares inferiores 1.2:1, molares inferiores 0.7:1. Foi observado que os cistos odontogênicos podem se apresentar em ambos os sexos; os cistos maxilares são 1.5 vezes mais frequentes que os cistos mandibulares. Essa patologia pode igualmente afetar ambos os lados das maxilas, mas a maioria dos cistos que são diagnosticados são da região anterior da maxila.

GROSSMANN et al. (2007) determinaram o perfil demográfico de cistos odontogênicos e não odontogênicos em população brasileira, diagnosticados histologicamente num período de 50 anos. As informações clínicas foram obtidas dos prontuários dos pacientes, arquivados no Serviço de Patologia Oral da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brasil, durante o período de 1953-2003. Entre 19.064 biopsias orais, 2.905 (15.2%) apresentaram critérios diagnósticos de cistos odontogênicos (CO) e não-odontogênicos (NCO). Destes, 2.812 espécimes (14.7%) foram diagnosticados como CO e 93 (0.5%) representaram NCO. Os 3 CO mais frequentemente diagnosticados foram o cisto radicular (61.0%), cisto dentígero (25.3%), e o queratocisto odontogênico (7.2%). O NCO mais frequente foi o cisto do ducto nasopalatino (2.2%). Os resultados demonstram que há larga escala de CO e de NCO, com alguns cistos que têm predileção por idade, o gênero, e a localização. Também foram apresentados aspectos demográficos e características clínicas destes cistos.

NADALIN (2008) avaliou a expressão imunoistoquímica de syndecan-1 (CD138), Ki-67, p53, α -actina de músculo liso e MMP-2 em cistos radiculares, cistos dentígeros e tumores odontogênicos queratocísticos. Além disso, avaliou também a intensidade de expressão de syndecan-1. O tumor odontogênico queratocístico apresentou positividade estatisticamente superior para Ki-67 na camada suprabasal ($p < 0,001$) em relação às outras lesões estudadas. Nos cistos radiculares, observou-se correlação positiva entre a expressão da proteína p53 e Ki-67 basal ($p = 0,03$), expressão ($p = 0,02$) e intensidade ($P = 0,0001$) de syndecan-1, além de correlação

positiva entre a expressão de Ki-67 e intensidade de syndecan-1 ($p=0,01$) e entre a expressão e intensidade de syndecan-1 ($p<0,001$). Diferente do que ocorreu nos cistos radiculares, nos tumores odontogênicos queratocísticos a positividade de Ki-67 na camada suprabasal correlacionou positivamente com expressão ($p=0,01$) e intensidade ($p=0,01$) de syndecan-1. A expressão de α -actina de músculo liso foi observada em 34,2% dos cistos radiculares, 36,3% dos cistos dentígeros e 46,9% dos tumores odontogênicos queratocísticos, enquanto a expressão de MMP-2 foi positiva em praticamente todos dos casos, sendo 97% dos CRs, 90,9% dos CDs e 94% dos TOQs. A expressão de MMP-2 foi significativamente mais forte nos CRs ($p=0,009$). O autor concluiu que, nos cistos radiculares e tumores odontogênicos queratocísticos, syndecan-1, miofibroblastos e MMP-2 parecem ter papel importante na progressão das lesões.

XAVIER et al. (2008) relataram caso clínico de carcinoma odontogênico de células claras, tumor odontogênico raro de comportamento clínico agressivo, metástase, e baixa sobrevida. O caso clínico foi de homem com 39 anos de idade afetando a mandíbula. O tumor apresentou padrão bifásico, composto de ninhos de células claras misturadas com células eosinofílicas e separados por estroma colagenoso. Apresentou imunoreatividade para o coquetel de citoqueratinas AE1 e AE3 e para citoqueratinas 8, 14, 18 e 19, e também bem para antígeno de membrana epitelial. As células do tumor eram negativas para a proteína S100, CK13, vimentina, actina de músculo liso, laminina e colágeno tipo IV. Em virtude de apresentar baixos índices para os marcadores de proliferação celular Ki-67 e para proteína p53, os

autores sugeriram prognóstico favorável para a lesão. A ressecção cirúrgica foi realizada, seguida de radioterapia adjuvante. Após 2 anos de controle não mostrou sinais de recidiva. A importância da imunohistoquímica e recursos para o diagnóstico correto foram discutidos.

GARCIA et al. (2009) avaliaram as diferenças na expressão de citoqueratinas em lesões periapicais epitelizadas císticas e não císticas. Foram utilizadas amostras de setenta lesões que haviam sido removidas anteriormente por cirurgia apical. Destas amostras, apenas 16 lesões se revelaram epitelizadas e foram incluídas neste estudo, sendo 6 cistos radiculares e 10 granulomas periapicais epitelizados. Secções seriadas foram preparadas e submetidas a reações imunohistoquímicas utilizando anticorpos contra as citoqueratinas CK7, AE1, AE3, AE1-3, e CAM52. A reação foi avaliada de acordo com a intensidade da marcação, se foi intensa, moderada, fraca ou se não houve marcação. Os resultados revelaram que para os cistos e granulomas epitelizados intensa marcação para AE1 e AE1-3, moderada para AE3 e fraca na camada superficial para CK7. A CAM52 revelou fraca intensidade de marcação para os granulomas epitelizados e marcação moderada para o cisto. Os autores concluíram que, embora existam diferenças de distribuição e da intensidade de marcação, os cistos radiculares e granulomas periapicais epitelizados apresentam a mesma expressão de citoqueratinas.

LIMA (2009) avaliou a expressão imunohistoquímica comparativa de PTHrP e seu receptor PTH/PTHrP tipo I no revestimento epitelial e na cápsula fibrosa de 35 cistos radiculares, 22 cistos dentígeros e 17 tumores odontogênicos queratocísticos.

Comparando a expressão de PTHrP no epitélio cístico das 3 lesões estudadas, não se observou diferença estatística significativa ($p=0,9$), o mesmo observado quanto a expressão do receptor PTH/PTHrP ($p=0,3$). Entretanto, as intensidades de expressões de PTHrP ($p=0,01$) e receptor de PTH/PTHrP ($p=0,007$) no epitélio cístico foram significativamente mais fracas nos cistos radiculares, quando comparadas aos cistos dentígeros e tumores odontogênicos queratocísticos. Na cápsula fibrosa, as diferenças na expressão ($p=0,1$) e intensidade da expressão ($p=0,9$) de PTHrP entre as lesões não foram estatisticamente significantes, o mesmo sendo observado na intensidade de expressão do receptor PTH/PTHrP ($p=0,7$). A expressão do receptor PTH/PTHrP na cápsula fibrosa dos cistos radiculares foi significativamente mais forte ($p=0,04$), quando comparada à expressão nos cistos dentígeros e tumores odontogênicos queratocísticos. Com esses achados, concluiu-se que a intensidade de expressão de PTHrP e do seu receptor PTH/PTHrP-1R é significativamente mais fraca no revestimento epitelial do cisto radicular, quando comparada ao cisto dentígero e tumor odontogênico queratocístico. Além disso, a expressão de PTHrP e seu receptor PTH/PTHrP-1R em quase todos os casos analisados sugere papel importante dessas proteínas no desenvolvimento e crescimento dessas lesões.

JACQUES et al. (2009) avaliaram o perfil das citoqueratinas no Liquen Plano Oral (LPO) e sua possível associação com alterações displásicas. Utilizaram anticorpos monoclonais para as citoqueratinas 10, 13, 14 e 19 em 26 amostras de LPO. Os resultados revelaram expressão suprabasal da citoqueratina 10 em 16 de 17 amostras, expressão suprabasal da citoqueratina 13 em 18 de 23 amostras;

expressão basal e suprabasal da citoqueratina 14 em todas as amostras; e expressão basal focal da citoqueratina 19 em 4 de 21 amostras. A expressão das citoqueratinas 10, 13 e 14 apresentou-se alterada em lesões de LPO. O processo inflamatório e hiperqueratose ou paraqueratose parecem ter interferido com a expressão dessas CKs. A citoqueratina 19 foi expressa nas lesões, em padrão semelhante ao mencionado na literatura para epitélios não-queratinizado da mucosa oral. A presença de displasia leve não alterou a expressão das citoqueratinas estudadas. Não houve diferenças no padrão de expressão observadas entre epitélios queratinizado e não-queratinizado nas regiões de LPO.

GARZON et al. (2009) avaliaram o perfil da expressão de citoqueratinas na mucosa oral humana artificial desenvolvida *in vitro* por engenharia de tecidos em diferentes estádios de maturação, a partir de imaturo para bem estágios bem desenvolvidos, com os níveis de proteína e do mRNA. A mucosa oral humana artificial foi gerado em laboratório, utilizando biomateriais de fibrina e agarose. Como controles foram utilizadas amostras da mucosa humana oral normal e de tecidos orais embrionárias. Os resultados demonstraram que em embriões humanos os tecidos orais tendem a expressar CK8 e de CK19. Em contraste, a mucosa produzida por bioengenharia não demonstrou qualquer expressão de CK por meio de imunistoquímica. As camadas produzidas epiteliais de mucosa oral artificial demonstraram vários marcadores para epitélios estratificados, mas não expressaram a CK10. Os autores sugeriram que o padrão de expressão de CKs é fortemente dependente do estado de maturação dos tecidos artificiais e que o perfil de expressão

CKs do modelo de mucosa oral artificial foi parcialmente semelhante ao do epitélio não-queratinizado da mucosa oral humana adulta. A expressão de CK8 pela mucosa oral artificial sugere que estas amostras correspondem a fase inicial do desenvolvimento *in vitro*.

SANTOS et al. (2009) avaliaram pela técnica de imunistoquímica a expressão das citoqueratinas 7, 8, 10, 13, 14, 18 e 19 em 25 casos de tumor odontogênico queratocístico (TOQ), incluindo tumores solitários, recorrentes e aqueles associados à síndrome do carcinoma nevóide basocelular. Os resultados revelaram que a CK13 foi expressa nas camadas suprabasais. CK14 foi evidenciada em todas as camadas e naquelas projeções epiteliais com inflamação adjacente. CK18 foi observada principalmente na camada basal e a CK19 se mostrou predominantemente presente nas camadas subbasais. As demais CKs foram negativas. Concluíram que o padrão de maturação de CKs parece ser alterado nos TOQs e isso não é diferente quando diferentes tumores são comparados.

PARK et al. (2010) investigaram a possibilidade de determinar o local do tumor primário, utilizando painel de imuno-diagnóstico para linfonodos cervicais metastáticos. Perfis de expressão de citoqueratinas, 5/6, 8/18, 10, 13, 14, e 19, e a expressão de p16 e de pRb foram avaliados em 101 pacientes com metástase cervical submetidos a esvaziamento cervical para o tratamento do carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. As principais localizações foram 16 na cavidade oral, 38 na orofaringe; 26 na hipofaringe e 21 na laringe. A citoqueratina 10 foi mais freqüentemente expressa em tumores de cavidade oral primária, enquanto a

citoqueratina 19 foi mais freqüentemente observada em tumores com origem na faringe e laringe. A expressão de p16 e pRb foram mais freqüentemente observada em tumores primários de orofaringe. Os autores sugeriram que o método de classificação utilizando perfis de imunomarcção de p16, citoqueratinas 10 e 19, ou pRb pode ser útil na localização do sítio primário oculto de carcinoma metastático.

LUKANDU et al. (2010) investigaram o efeito da mastigação de folhas de *catha edulis*, estimulante popularmente conhecida como "khat", avaliando os efeitos da exposição de "khat" sobre a mucosa oral humana *in vitro*. O uso de "khat" tem sido associado com lesões orais, incluindo câncer oral, mas os mecanismos que conduzem ao seu desenvolvimento não são conhecidos. Os autores verificaram que "khat" diminuiu a proliferação celular, espessura epitelial e a expressão da citoqueratina 13, induziu a expressão prematura de p21, de transglutaminases, de involucrin e de filagrina. Estas alterações induzidas foram acompanhadas de aumento dos níveis de p38. Sugeriram que "khat" é capaz de induzir a diferenciação anormal do epitélio bucal, demonstrando pela primeira vez que "khat" induz alterações patológicas na mucosa bucal humana, levantando preocupações sobre os efeitos da mastigação de "khat" para com a saúde bucal.

ROSENBERG et al. (2010) investigaram aspectos histopatológicos e imaginológicos na distinção entre cistos e granulomas periapicais. Tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC) foi comparada com o padrão existente, a histopatologia. Para o estudo, 45 pacientes programados para uma apicectomia, foram submetidos a TCFC do arco envolvido. Dois radiologistas bucais maxilo-faciais,

trabalhando de forma independente e usando os mesmos critérios, categorizaram as imagens de TCFC como cisto, semelhante a cisto, semelhante a granuloma ou granuloma. Após as apicectomias, dois patologistas bucais, trabalhando de forma independente e usando os mesmos critérios, diagnosticaram os espécimes cirúrgicos como cisto radicular ou granuloma periapical. Os autores avaliaram a concordância entre os patologistas, radiologistas e a acurácia do diagnóstico imaginológico usando a histopatologia como padrão. Os achados mostraram forte concordância entre os patologistas e fraca concordância entre os radiologistas. Acurácia para os dois radiologistas foi 51% e 63%. Com estes resultados, os autores concluíram que a TCFC não é um método de diagnóstico adequado para a diferenciação entre cistos e granulomas periapicais. Biópsia e análise histopatológica ainda é o procedimento padrão na diferenciação entre essas duas condições.



Proposição

O objetivo deste estudo foi determinar o perfil de citoqueratinas em cistos radiculares por meio da expressão imunohistoquímica do coquetel de citoqueratinas de alto peso molecular (34BE12), das citoqueratinas 5, 8, 10, 14, 16 e 19 e correlacionar a expressão com a intensidade do infiltrado inflamatório presente na cápsula conjuntiva e a espessura do revestimento epitelial.



Material e Métodos

Seleção da Amostra

Foi realizado estudo retrospectivo, cujos dados clínicos e epidemiológicos foram obtidos dos formulários clínicos de encaminhamento de 56 casos de cisto radicular, do arquivo do Laboratório de Patologia Bucal da Universidade de Ribeirão Preto, São Paulo, diagnosticados entre 1994 e 2006. O projeto de pesquisa deste estudo foi aprovado sem restrições, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Ribeirão Preto (Anexo).

Consideraram-se como critérios de inclusão no estudo: 1 - os casos de cisto radicular que apresentaram cavidade cística bem formada, com tecido epitelial de revestimento se mostrando bem diferenciado, pavimentoso e estratificado; 2 – disponibilidade de material arquivado em parafina suficiente para confirmação histopatológica e para novos cortes histológicos, os quais foram utilizados nas reações de imunistoquímica.

Análise Histopatológica

A partir do material existente nos blocos de parafina, realizaram-se cortes com 5 µm de espessura, os quais foram corados com hematoxilina-eosina (HE) e posteriormente analisados para descrição morfológica e confirmação do diagnóstico. Na descrição microscópica, foram avaliados diferentes aspectos nas lesões císticas estudadas:

1. Intensidade da reação inflamatória na cápsula cística foi classificada em leve (escassas células inflamatórias focais ou dispersas no tecido conjuntivo) ou intensa (grande quantidade de células inflamatórias difusas ou dispersas no tecido conjuntivo adjacente ao revestimento epitelial).

2. Espessura do epitélio de revestimento cístico – hiperplásico ou não-hiperplásico, considerando como epitélio não-hiperplásico aqueles com até 10 camadas celulares.

Reações imunoistoquímicas

Após a revisão histopatológica e confirmação do diagnóstico, selecionaram-se os casos de cistos radiculares. Para o preparo do material a ser submetido às reações de imunoistoquímica, foram realizados cortes histológicos de 3 μm de espessura, os quais foram colocados sobre lâminas devidamente revestidas com organo-silano (Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, EUA).

Estes cortes foram submetidos à técnica imunoistoquímica descrita a seguir, pelo método da estreptavidina-biotina-peroxidase. Os cortes foram desparafinados deixando-os por 24 horas em estufa a 60°C, xilol a 60°C por 20 minutos, xilol à temperatura ambiente por 20 minutos e, em seguida, hidratados em etanol 100%, 95%, 70% e água corrente e destilada. A recuperação antigênica foi realizada fervendo-se a solução tampão de citrato 10 mM pH 6,0, em panela de pressão (Eterna[®], Nigro, Araraquara, São Paulo, Brasil) destampada. Após isso, as lâminas foram mergulhadas e a panela lacrada com a válvula de segurança aberta. Ocorrendo

a saída do vapor saturado, abaixou-se a válvula de segurança e aguardou-se a despressurização total. Transcorridos 04 minutos, a panela ainda fechada ficou sob água corrente até a despressurização total, seguido por sua abertura e lavagem das lâminas em água corrente e destilada.

O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado com H₂O₂ 3%, com 4 trocas de 5 minutos cada e por lavagem em água destilada e com solução salina tamponada com fosfatos (PBS-*phosphate buffered saline*) 10 mM, pH 7,4 por 5 minutos. Posteriormente, realizou-se incubação com anticorpos primários diluídos em títulos previamente estabelecidos em tampão PBS contendo albumina sérica bovina (BSA) 1% (Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, EUA) e azida sódica 0,1%, por 18 horas a 4°C em câmara úmida. Foram realizadas três lavagens em tampão PBS com 3 trocas de 3 minutos cada (Tabela I).

Tabela I – Anticorpos utilizados no experimento, com os respectivos clones, diluição e tipo de recuperação antigênica.

<i>Anticorpos</i>	<i>Clone</i>	<i>Origem</i>	<i>Diluição</i>	<i>Recuperação antigênica</i>
Anti-cytokeratin 5	XM26	Novocastra	1:400	Panela de pressão
Anti-cytokeratin 8	35βH11	DakoCytomation	1:200	Panela de pressão
Anti-cytokeratin 10	DE-K10	DakoCytomation	1:200	Panela de pressão
Anti-cytokeratin 14	LL002	DakoCytomation	1:200	Panela de pressão
Anti-cytokeratin 16	LL025	Novocastra	1:200	Panela de pressão
Anti-cytokeratin 19	RCK108	DakoCytomation	1:200	Panela de pressão
Anti-pan-cytokeratins	34βE12	DakoCytomation	1:200	Panela de pressão

Seguiu-se a técnica com o sistema de amplificação, onde as lâminas foram incubadas por 30 minutos a 37° C com Post Primary Block (NovoLink Max Polymer, Newcastle Upon Tyne, Tyne and Wear, Reino Unido), seguido por três lavagens com

tampão PBS com 3 trocas de 3 minutos cada. Posteriormente, foram incubadas com o NovoLink Polymer por 30 minutos a 37°C e, novamente levados a lavagens em tampão PBS com 3 trocas de 3 minutos cada.

As lâminas foram então reveladas em solução substrato contendo 60 mg de 3,3' tetrahidrocloro de diaminobenzidino (DAB) (Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, EUA), 1 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) e 1 mL de H₂O₂ 6% (água oxigenada 20 vol) em 100 mL de PBS incubadas por 5 minutos a 37°C, ao abrigo da luz.

As lâminas foram lavadas em água destilada, sendo contra-coradas com hematoxilina de Harris por 1 minuto. Posteriormente, foram lavadas em água destilada e imersas duas vezes em água amoniacal (hidróxido de amônio 0,5%), lavando em seguida em água corrente e destilada. Os cortes foram então desidratados em banhos de etanol 80%, 95% e 100% por duas vezes de 30 segundos cada, 2 banhos de xilol (5 minutos cada) e procedeu-se a montagem das lâminas com Entellan neu (Merck, Darmstadt, Hessen, Alemanha) e lamínulas. Controles positivos e negativos foram incluídos em todas as reações.

Análise das reações imunoistoquímicas

Para a avaliação da reação imunoistoquímica foi utilizado microscópio óptico modelo Eclipse E600 (Nikon, Tóquio, Japão), com as objetivas de 20 e 40x. A leitura das reações foi realizada de forma semi-quantitativa por dois examinadores calibrados, que fizeram as avaliações de forma separada e independente,

considerando a expressão de citoqueratinas nas células epiteliais do revestimento cístico, de acordo com os critérios que serão descritos a seguir.

A porcentagem de células positivas em 10 campos de maior aumento (400x) foi utilizada para classificar cada lesão cística, utilizando os seguintes valores: negativo: $\leq 10\%$ de células positivas e positivo: $> 10\%$ de células positivas. Além disso, a distribuição das CKs, nas camadas basal ou suprabasal foi verificada. Nos casos em que não foi possível avaliar fragmento representativo da lesão, o caso foi considerado não avaliável. Considerou-se célula positiva aquela que apresentava coloração acastanhada no citoplasma, conferida pelo cromógeno DAB.

Análise Estatística

Inicialmente foi feita análise descritiva dos marcadores, identificando a frequência absoluta e relativa das respostas obtidas. A partir da análise descritiva, foram atribuídos escores de acordo com a intensidade da reação inflamatória no estroma, a espessura epitelial e a expressão das CKs estudadas (Tabela II). Para reação inflamatória leve, epitélio não-hiperplásico e ausência de expressão das CKs foi atribuído escore 1; ao contrário, reação inflamatória intensa, epitélio hiperplásico e expressão das CKs, foi atribuído escore 2. Vale ressaltar, que em cada caso, foi atribuído um escore específico para cada uma das características citadas.

Depois foi realizada correlação entre o tipo de epitélio e a intensidade da reação inflamatória e entre essas duas características e as expressões imunohistoquímicas das citoqueratinas estudadas, por meio da correlação de

coeficiente de Spearman, adotando significância de 5%, por meio do software SAS (Cary, Carolina do Norte, EUA).



Resultados

Características Clínicas e Histopatológicas

Dos 56 casos de cistos radiculares, 30 (53,6%) ocorreram no gênero feminino e 26 (46,4%) no gênero masculino. A idade média dos pacientes foi de 39,9 anos (variando de 14 a 78 anos), a maxila acometida em 32 casos (64%) e a mandíbula em 18 casos (36%). Em 6 casos, a informação do local acometido não estava disponível.

Microscopicamente, observou-se revestimento epitelial estratificado, pavimentoso, não queratinizado e com espessura variável. Na cápsula de tecido conjuntivo fibroso, 34 casos (60,7%) apresentavam reação inflamatória crônica intensa (difusa) e 22 (39,3%) inflamação leve (focal). Trinta e três casos (58,9%) apresentaram revestimento epitelial hiperplásico e 23 (41,1%) não hiperplásicos. Adicionalmente, 2 casos (3,6%) apresentaram células mucosas no revestimento epitelial e em 1 caso (1,8%) células cilíndricas ciliadas também foram observadas.

Os dados referentes às características clínicas e histopatológicas estão dispostos na Tabela II.

Tabela II – Características clínicas e histopatológicas

Características clínicas e histopatológicas	n (%)
Gênero	
Masculino	26 (46,4)
Feminino	30 (53,6)
Local*	
Maxila	32 (64)
Mandíbula	18 (36)
Reação inflamatória	
Leve	22 (39,3)
Intensa	34 (60,7)
Revestimento epitelial	
Não Hiperplásico	23 (41,1)
Hiperplásico	33 (58,9)

* Em 6 casos, o local da lesão não estava disponível

Expressão Imunoistoquímica do Coquetel de Citoqueratinas de Alto Peso Molecular (34 β E12)

Em todos os casos avaliados, as células epiteliais do revestimento cístico apresentavam forte expressão de 34 β E12 nas camadas basal e suprabasal, independentemente da espessura do revestimento epitelial e da intensidade do infiltrado inflamatório presente no estroma (Figura 1).

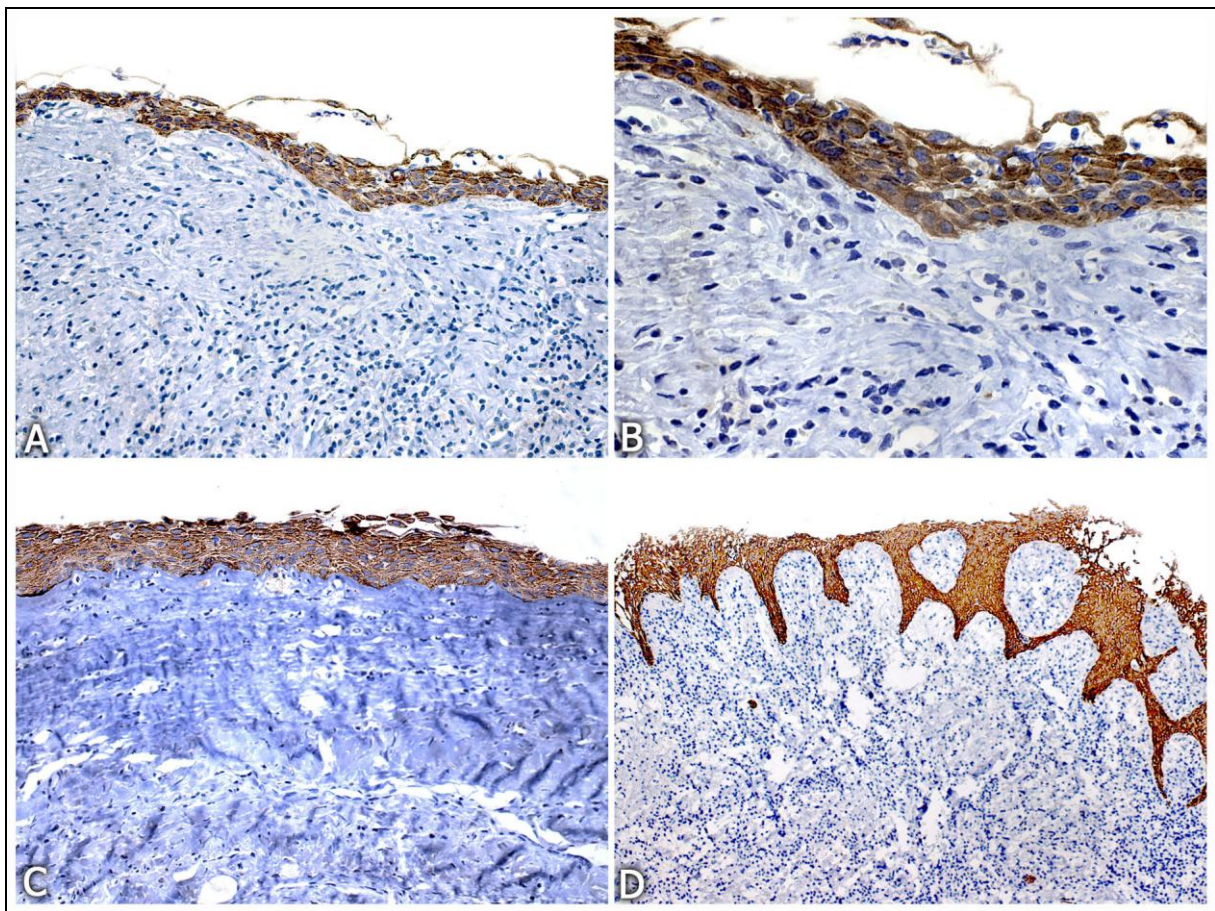


Figura 1 – Expressão de 34 β E12 em cistos radiculares. (A) Forte expressão em epitélio não hiperplásico, com reação inflamatória leve (100x). (B) Maior aumento da fotomicrografia anterior (200x). (C) Forte expressão no revestimento epitelial não hiperplásico, com reação inflamatória leve (200x). (D) Epitélio hiperplásico mostrando forte de expressão, associado à reação inflamatória crônica intensa (100x) (estreptavidina-biotina-peroxidase).

Expressão Imunoistoquímica de Citoqueratina 5 (CK5)

Avaliando a expressão de CK5 nos cistos radiculares, observou-se que em todos os casos as células epiteliais apresentavam forte positividade, tanto na camada basal quanto na camada suprabasal. Além disso, houve expressão de CK5 nos revestimentos epiteliais hiperplásicos e não hiperplásicos, independentemente da intensidade da reação inflamatória crônica presente na cápsula cística (Figura 2).

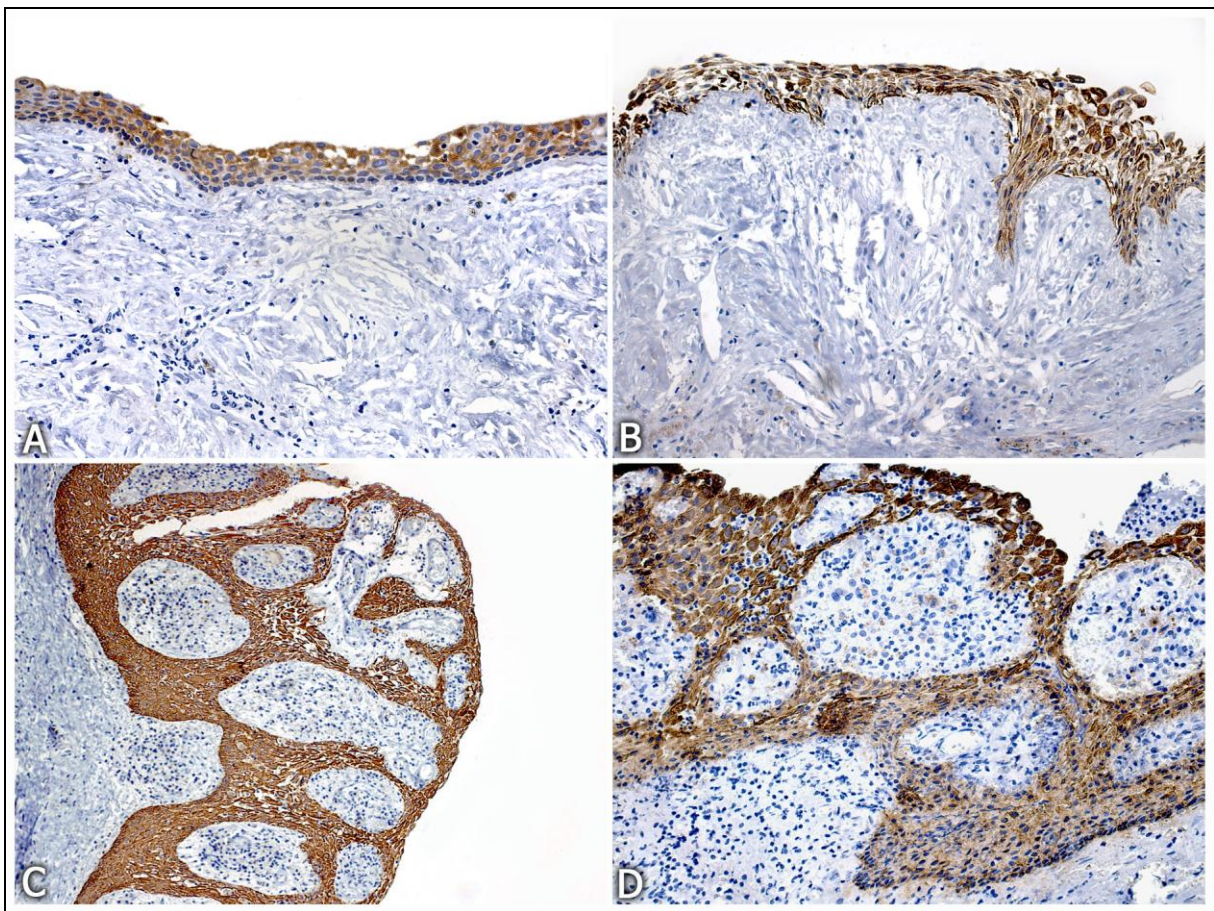


Figura 2 - Expressão de CK5 em cistos radiculares. (A), (B) Forte expressão nas camadas basal e suprabasal de epitélio não hiperplásico, com reação inflamatória leve (100x). (C) Epitélio hiperplásico mostrando forte intensidade de expressão em todas as camadas celulares, associado à reação inflamatória crônica intensa (100x). (D) Outro caso com forte expressão no revestimento epitelial hiperplásico e com reação inflamatória intensa (200x) (estreptavidina-biotina-peroxidase).

Expressão Imunoistoquímica de Citoqueratina 8 (CK8)

Dos 56 casos avaliados, 47 (83,9%) apresentaram células negativas para CK8 (Figura 3A), enquanto apenas 9 deles (16,1%) se apresentavam positivos, predominantemente na camada suprabasal, independente da intensidade da reação inflamatória e da espessura do revestimento epitelial. Curiosamente, em um dos casos positivos, as células do revestimento cístico se apresentavam colunares e aparentemente secretoras, com padrão apócrino (Figuras 3 B, 3C e 3D).

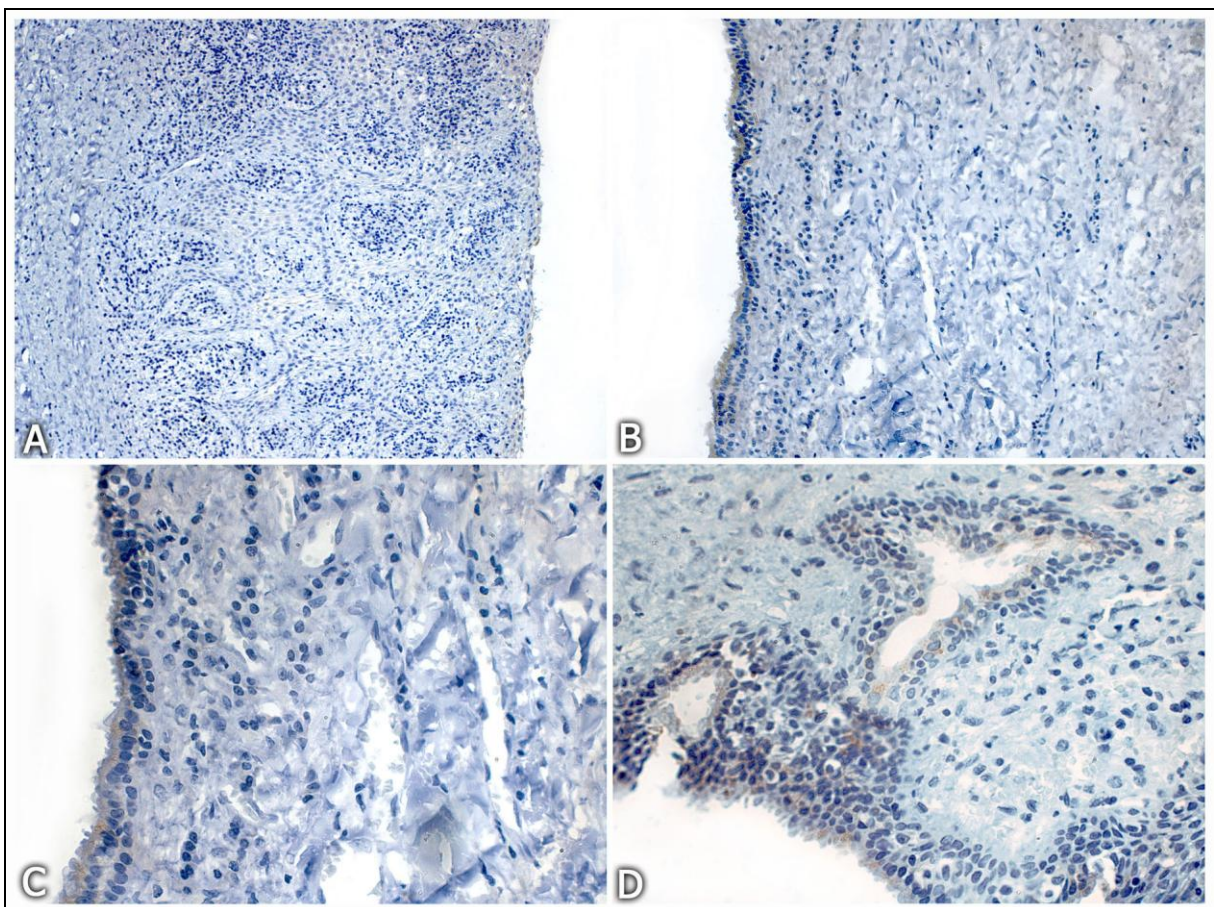


Figura 3 - Expressão de CK8 em cistos radiculares. (A) Ausência de expressão em epitélio hiperplásico associado à inflamação intensa (100x). (B) Expressão de CK8 em epitélio colunar (100x). (C), (D) Epitélio colunar, secretor, do tipo apócrino, mostrando expressão na camada superficial, o qual estava associado à inflamação leve (200x) (estreptavidina-biotina-peroxidase).

Expressão Imunoistoquímica de Citoqueratina 10 (CK10)

Como ocorreu na expressão da CK8, a maioria dos casos apresentou células negativas para CK10 (50 casos -89,3%), com apenas 6 casos (10,7%) se apresentando positivos tanto na camada basal quanto na suprabasal. A expressão de CK10 foi negativa nos epitélios hiperplásicos e não-hiperplásicos, associados ou não a reação inflamatória crônica intensa (Figura 4).

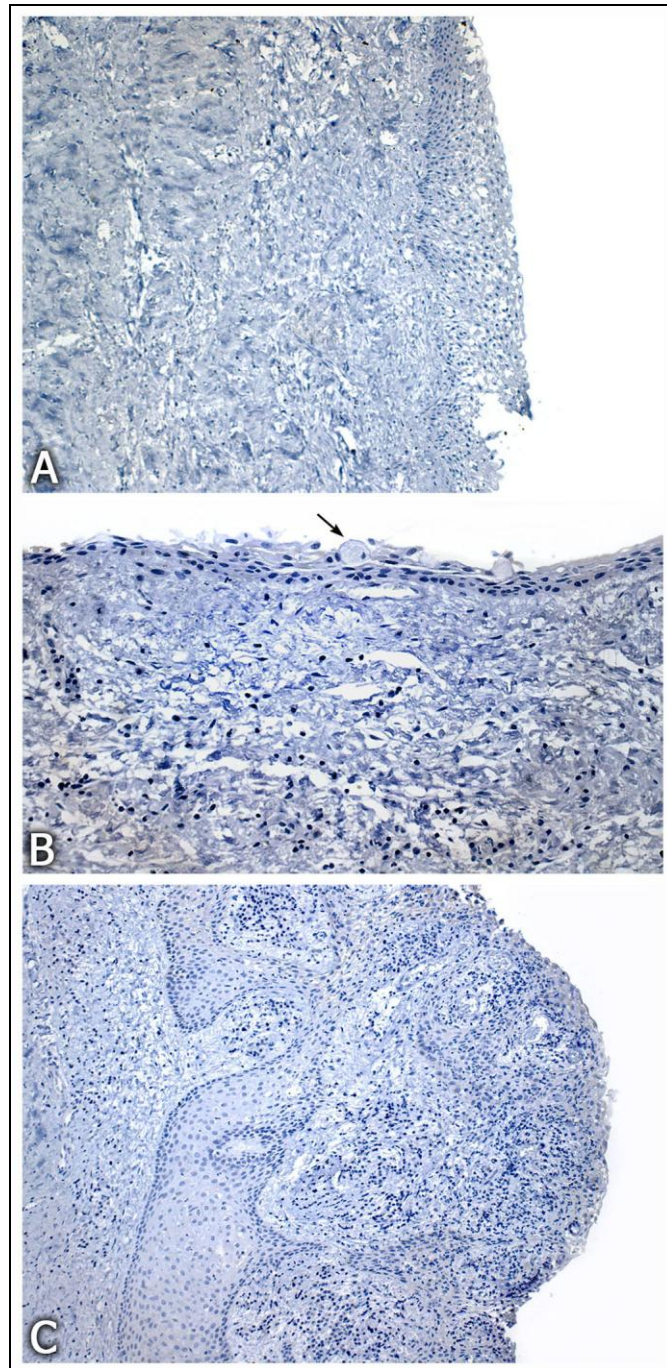


Figura 4 – (A), (B) Ausência de expressão de CK10 em epitélio não hiperplásico, associado à reação inflamatória leve. Em (B) note a presença de células mucosa na camada superficial (seta) (100x). (C) Ausência de expressão de CK10 em epitélio hiperplásico, associado à reação inflamatória intensa (100x, estreptavidina-peroxidase).

Expressão Imunoistoquímica de Citoqueratina 14 (CK14)

A expressão de CK14 foi avaliada em 26 casos, todos com células fortemente positivas para CK14 nas camadas basal e suprabasal, independente da intensidade da reação inflamatória presente na cápsula de tecido conjuntivo e da espessura do epitélio de revestimento, hiperplásico ou não-hiperplásico (Figura 5).

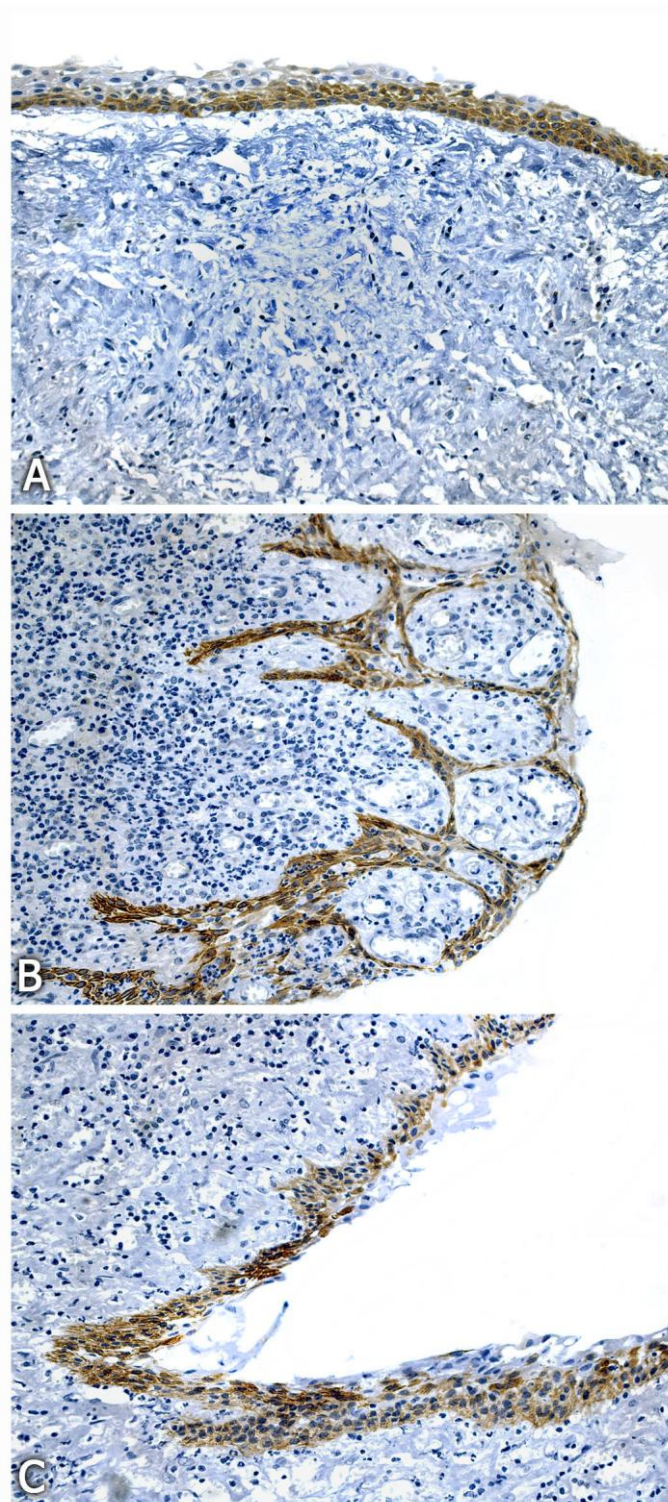


Figura 5 - Expressão de CK14 em cistos radiculares. (A) Expressão em epitélio não hiperplásico associado à inflamação leve. Note maior intensidade de expressão na camada basal (100x). (B) Forte expressão em epitélio hiperplásico (100x). (C) Expressão acentuada de CK14 no epitélio não hiperplásico. A

camada superficial é negativa (200x). (estreptavidina-biotina-peroxidase).

Expressão Imunoistoquímica de Citoqueratina 16 (CK16)

A expressão de CK16 foi avaliada em 27 casos, dos quais 21 (77,8%) apresentavam células negativas para CK16 e 6 casos (22,2%) eram positivos para esta citoqueratina, com fraca intensidade de expressão (Figura 6), independente da intensidade da reação inflamatória e da espessura do epitélio cístico.

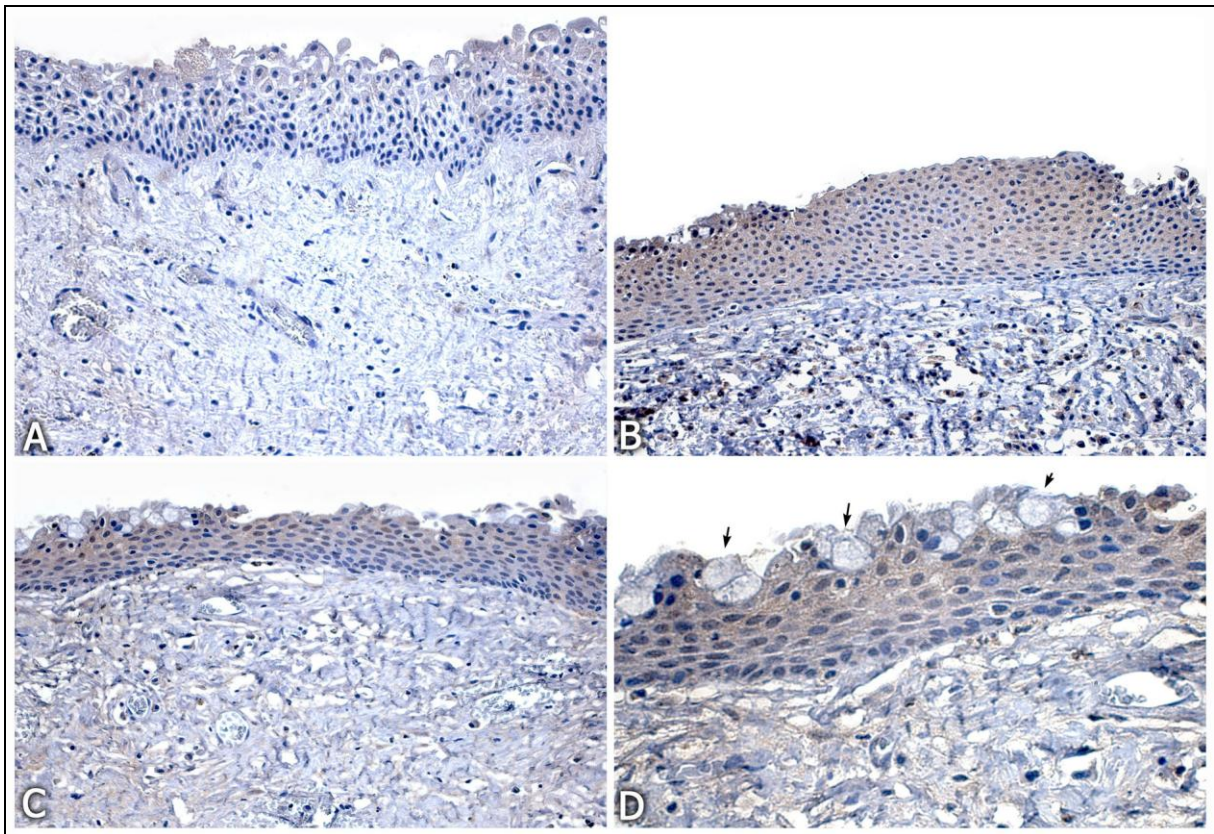


Figura 6 - Expressão de CK16 em cistos radiculares. (A) Ausência de expressão em epitélio não hiperplásico associado à inflamação leve (100x). (B) Epitélio hiperplásico mostrando fraca positividade de CK16 em todas as camadas celulares (100x). (C) Expressão de CK16 em epitélio não hiperplásico (100x). (D) Maior aumento da fotomicrografia (C), revelando positividade de CK16 em todas as camadas celulares, com presença de metaplasia mucosa associada (setas) (200x) (estreptavidina-biotina-peroxidase).

Expressão Imunoistoquímica de Citoqueratina 19 (CK19)

A maioria dos casos foi positiva para CK19 (51 - 91,1%), principalmente na camada suprabasal, enquanto apenas 5 casos (8,9%) se mostraram negativos (Figura 7).

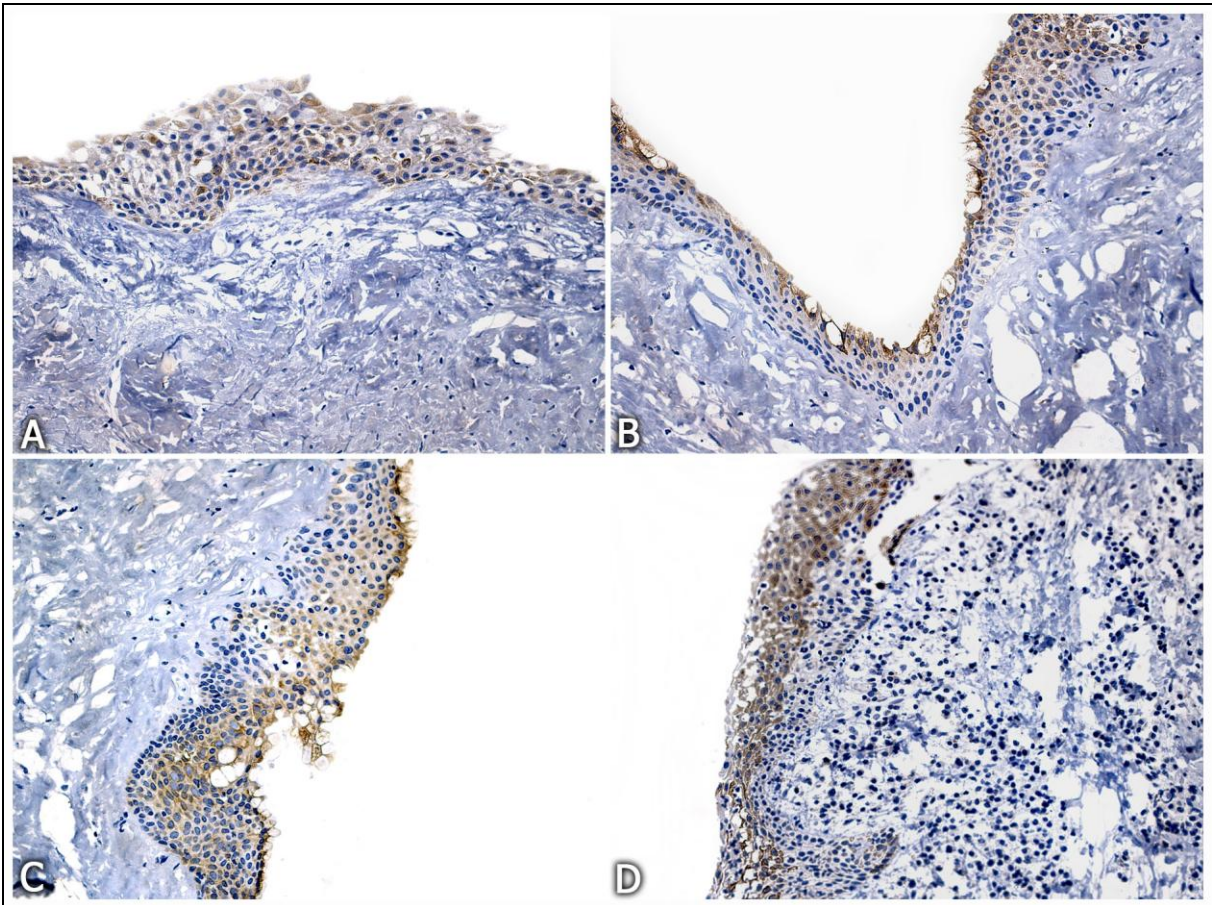


Figura 7 - Expressão de CK19 em cistos radiculares. (A) Expressão nas camadas basal e suprabasal de epitélio não hiperplásico, com reação inflamatória leve (100x). (B) Outro caso, mostrando positividade restrita às camadas suprabasal e superficial (100x). (C) Mesmo caso da fotomicrografia anterior, mostrando as mesmas características (100x). (D) Forte expressão no revestimento epitelial não hiperplásico, restrita às camadas suprabasal e superficial. Há reação inflamatória intensa na cápsula fibrosa (100x) (estreptavidina-biotina-peroxidase).

Os dados da expressão das CKs estão sumarizados na Tabela III.

Tabela III –Imunopositividade das citoqueratinas nos cistos radiculares estudados

Citoqueratina	Total de Casos Analisados	Expressão de CKs (%)
Alto Peso Molecular*	56	100%
CK5	56	100%
CK8	56	16,1%
CK10	56	10,7%
CK14	26	100%
CK16	27	22,2%
CK19	56	91,1%

* O coquetel de CKs de alto peso molecular compreende as CKs 1, 5, 10 e 14.

Análise Estatística

Correlacionando a intensidade da reação inflamatória presente na cápsula cística com a espessura do epitélio de revestimento, observou correlação estatisticamente significante entre reação inflamatória intensa e epitélio de revestimento hiperplásico ($p < 0,0001$). Verificou-se ainda correlação estatisticamente significante entre reação inflamatória intensa e expressão de CK19 no epitélio cístico ($p = 0,05$) e maior expressão de CK19 em epitélio cístico hiperplásico ($p = 0,06$), diferente das demais CKs, que não apresentaram correlação significativa com a intensidade da inflamação no estroma e a espessura do epitélio de revestimento cístico. Os escores originais em cada caso estão dispostos na Tabela IA (Anexos).



Discussão

Lesões císticas odontogênicas são formadas a partir de remanescentes embrionários de epitélio odontogênico. No entanto, dependendo da lesão cística, apresentam características clínicas, histológicas, radiográficas e comportamento biológico distintos. Essa diferença pode ser atribuída às características específicas que o tecido epitelial adquire de acordo com a lesão cística desenvolvida, provavelmente devido a diferentes taxas de proliferação celular, expressão normal ou alterada de proteínas envolvidas na diferenciação e ciclo celular, além de fatores associados ao potencial de reabsorção óssea (SHEAR; SPEIGHT, 2007). Assim como ocorre no revestimento epitelial cístico, essas proteínas e enzimas podem ser diferencialmente expressas na cápsula cística dessas lesões, como as citocinas inflamatórias que são importantes na indução de reabsorção óssea e as metaloproteinases de matriz (NADALIN, 2008; LIMA, 2009). Todos esses fatores em conjunto são importantes para a origem e progressão dessas lesões. Entre as lesões císticas odontogênicas, destacam-se o cisto radicular, de origem inflamatória, e os de desenvolvimento, representados principalmente pelo cisto dentífero e o queratocisto odontogênico, onde este último foi reclassificado pela Organização Mundial da Saúde como uma neoplasia cística benigna, sendo nomeado como tumor odontogênico queratocístico (AGARAM et al., 2004; BARNES et al., 2005; KICHI et al., 2005; MALCIC et al., 2008).

Um arquivo bem conservado de tecidos embebidos em parafina é uma fonte importante de material biológico para o desenvolvimento de estudos morfológicos, imunoistoquímicos e eventualmente moleculares, das mais diversas patologias, de diferentes locais, neoplásicas ou não-neoplásicas, inflamatórias ou de

desenvolvimento. Achados importantes podem ser obtidos de tais estudos, porque além de serem úteis para determinar as características histopatológicas de determinada lesão, podem contribuir para a compreensão de eventos biológicos envolvidos na patogênese da lesão, além de determinar fatores prognósticos ou instituir novas terapias. Este estudo foi possível graças ao adequado arquivamento dos espécimes recebidos ao longo do tempo pelo Laboratório de Patologia Bucal da Universidade de Ribeirão Preto, o qual permitiu a análise de 56 casos de cistos radiculares que apresentavam os critérios de inclusão no estudo, utilizando a técnica de imunistoquímica como ferramenta principal de investigação.

A técnica de imunistoquímica baseia-se no princípio da reação antígeno-anticorpo, realizada em cortes histológicos, associada a métodos de coloração para evidenciar tal reação. Essa técnica detecta os antígenos (proteínas) localizados no núcleo, citoplasma ou membrana da célula a ser estudada, constituindo-se numa ferramenta extremamente útil e importante no diagnóstico histopatológico, sobretudo nas neoplasias indiferenciadas e fusocelulares, e na investigação científica (PIATTELLI et al., 2004; MENEZES et al., 2006; NADALIN, 2008), como foi realizado neste estudo. Atualmente, vários anticorpos são disponíveis para serem utilizados em tecidos fixados em formol e embebidos em parafina, o que representa uma grande vantagem, visto que é possível utilizar essa técnica importante em material biológico (tecidos) arquivado, como foi executado neste experimento. Especificamente na Endodontia, em especial no cisto radicular e no granuloma periapical, diversos estudos utilizaram a imunistoquímica para investigar o papel de citocinas, fatores de

crescimento, fatores de diferenciação celular, genes supressores de tumor e oncogenes no início, desenvolvimento e progressão dessas lesões (PIATELLI et al., 2004; MENEZES et al., 2006; NADALIN, 2008). No presente estudo, foi utilizado um painel de citoqueratinas cuja marcação é estritamente citoplasmática, visto que se trata de filamento intermediário que compõe o citoesqueleto das células epiteliais (DOMINGUES et al., 2000; STOLL et al., 2005).

Neste estudo, 58,9% dos casos apresentaram revestimento cístico hiperplásico e em todos os cistos radiculares havia reação inflamatória crônica na cápsula de tecido conjuntivo, onde em 60,7% dos casos ela era intensa. Como o cisto radicular se origina a partir de uma inflamação e consequente necrose do tecido pulpar, que estimula restos epiteliais odontogênicos localizados no ligamento periodontal apical, denominados restos epiteliais de Malassez, a presença de inflamação crônica no estroma é um evento comum (SHEAR; SPEIGHT, 2007). Após a formação cística, a persistência de agentes irritantes no periápice contribui para a manutenção de uma cápsula fibrosa com reação inflamatória de intensidade variável predominantemente formada por linfócitos, embora plasmócitos, macrófagos, neutrófilos e raramente eosinófilos e mastócitos possam também ser observados (TAKEDA et al., 2005). Além disso, a inflamação presente na cápsula cística estimula o epitélio cístico a proliferar, tornando-o hiperplásico (TAKEDA et al., 2005; SHEAR; SPEIGHT, 2007), corroborando com os achados deste estudo, os quais revelaram correlação estatisticamente significativa entre reação inflamação crônica intensa na cápsula cística e epitélio hiperplásico.

Histopatologicamente, embora o cisto radicular seja revestido por um tecido epitelial estratificado escamoso na maioria dos casos, há relatos prévios de cistos radiculares revestidos parcialmente ou predominantemente por um tecido epitelial cilíndrico ciliado ou apresentando células mucosas (NAIR et al., 2002; TAKEDA et al., 2005). A presença de tais células no epitélio cístico é considerada metaplásica, mas as causas desse fenômeno e sua importância biológica ainda não foram determinadas (TAKEDA et al., 2005). TAKEDA et al. (2005) observaram, no revestimento epitelial de cistos radiculares células mucosas e ciliadas em 18% e 10,7%, respectivamente. Um caso de cisto radicular deste estudo apresentou no seu revestimento um epitélio secretor do tipo apócrino, achado extremamente incomum (NAIR et al., 2002; TAKEDA et al., 2005).

A determinação do perfil de expressão de citoqueratinas no epitélio odontogênico pode ser fundamental na compreensão da patogênese das diversas lesões odontogênicas císticas e neoplásicas, além de se estabelecer o estágio de diferenciação do epitélio, seja durante a odontogênese ou no tecido epitelial presente nas lesões. O perfil de expressão de citoqueratinas varia de acordo com o tipo celular, estágios de desenvolvimento e diferenciação, localização anatômica e grau de complexidade (DOMINGUES et al., 2000; CRIVELINI et al., 2003).

Embora a expressão de CKs no epitélio odontogênico dependa do estágio embriológico, CKs 4, 5, 6, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 17, 18 e 19 tem sido descrita em várias estruturas odontogênicas embrionárias. Entretanto, três CKs, 5, 14 e 19, parecem ser importantes na odontogênese. Desta forma, as lesões odontogênicas

podem mostrar um amplo espectro de expressão de CKs. Particularmente com relação às lesões císticas odontogênicas, o cisto dentífero pode expressar as CKs 1, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 16, 17, 18 e 19 e tumor odontogênico queratocístico as CKs 7, 8, 10, 11, 13, 16, 17 e 19. O cisto radicular também pode apresentar um largo perfil de expressão de CKs, incluindo as CKs 4, 5, 7, 8, 10, 13, 14, 16, 17, 18 e 19 (GAO et al., 1988; LU et al., 2002; PIRES et al., 2004; STOLL et al., 2005), como também foi verificado neste estudo. Entretanto, os dados são mais consistentes e numerosos nos cistos dentíferos e tumores odontogênicos queratocísticos, com poucos relatos da expressão de CKs em cistos radiculares. Além disso, embora a inflamação possa alterar a expressão de CKs (KAMINAGAKURA et al., 2006), este fato não está claro nos cistos radiculares.

Todos os casos avaliados apresentaram forte expressão de CK5, tanto na camada basal quanto na camada suprabasal do epitélio de revestimento cístico, como também foi observado por outros autores (PIRES et al., 2004; STOLL et al., 2005). Ela é usualmente co-expressa com CK14 nas células da camada basal de epitélio escamoso, como foi observado neste trabalho. Com relação às lesões císticas odontogênicas, quase todas são positivas para CK5, principalmente os cistos radiculares (STOLL et al., 2005). CK5 é pouco estudada no epitélio odontogênico e as lesões relacionadas a ele, com apenas 2 estudos identificados na literatura consultada (PIRES et al., 2004; STOLL et al., 2005).

A CK8 é um filamento intermediário presente no epitélio de recobrimento da mucosa bucal fetal entre a décima e a vigésima terceira semana de gestação (LU et

al., 2002). Em adultos é expressa em epitélios secretores e simples, incluindo os ductais (MATA, 2007). Entretanto, CK8 não é evidenciada nas estruturas odontogênicas embrionárias, como a lâmina dentária, epitélio externo do órgão dentário, retículo estrelado, estrato intermediário, epitélio interno do órgão dentário e bainha radicular de Hertwig, a qual dá origem aos restos epiteliais de Malassez, que estão diretamente envolvidos na gênese dos cistos radiculares (CRIVELINI et al., 2003). Esses fatos suportam os achados do presente estudo, onde CK8 foi positiva em apenas 16,1% dos casos. Curiosamente, em um dos casos positivos o epitélio apresentava características secretoras do tipo apócrina, que é um dos tipos epiteliais que usualmente expressam CK8 (MATA, 2007). Por outro lado, outros estudos encontraram alta porcentagem de cistos radiculares positiva para CK8 (LU et al., 2002; PIRES et al., 2004). Como não há descrição detalhada do revestimento epitelial desses casos previamente descrito, é difícil compreender tais resultados, visto que os epitélios odontogênicos embrionários não expressam CK8. Adicionalmente, vários tumores odontogênicos estudados, incluindo ameloblastoma, odontoma, tumor odontogênico epitelial calcificante e tumor odontogênico adematóide, mostraram-se negativos para CK8 (CRIVELINI et al., 2003).

No presente estudo a maioria dos casos de cisto radicular foi negativa para CK10, com apenas 6 casos (10,7%) positivos. A CK10 é uma CK ácida, de tamanho intermediário, que é expressa simultaneamente com CK1 em todas as camadas suprabasais da epiderme, sendo ausente nas camadas basais. Representa um dos primeiros marcadores de diferenciação epidérmica, constituindo uma CK típica de

epitélio estratificado, pavimentoso e queratinizado. Como marcador de epitélio queratinizado, CK10 foi encontrada, sobretudo nas camadas suprabasais e superficiais em cerca de metade dos casos de tumor odontogênico queratocístico e em 30% dos cistos dentígeros (STOLL et al., 2005). Por outro lado, apenas 10% dos cistos radiculares apresentam positividade para CK10 (PIRES et al., 2004; STOLL et al., 2005), exatamente como observado neste estudo. Este achado se deve ao fato de que os cistos radiculares são usualmente revestidos por um tecido epitelial escamoso estratificado não-queratinizado, com formação de queratina em apenas 2% dos casos (SHEAR; SPEIGHT, 2007). Os cistos radiculares que foram positivos para CK10 provavelmente são lesões mais antigas, visto que com o desenvolvimento do cisto, o epitélio de revestimento se torna mais quiescente e regular, apresentando certo grau de diferenciação (SHEAR; SPEIGHT, 2007), aproximando do estágio que é observado na epiderme.

A expressão de CK10 nas camadas mais superficiais do epitélio de revestimento cístico pode ter significância no diagnóstico dessas lesões, principalmente quando a punção aspirativa por agulha fina for utilizada. Neste procedimento, será colhido principalmente material presente na cavidade cística e eventuais células superficiais. Assim, a expressão de CK10 no esfregaço celular sugere fortemente o diagnóstico de tumor odontogênico queratocístico (AUGUST et al., 2000; VARGAS et al., 2007). Outro dado que merece destaque é a perda da expressão de CK10 nos casos de tumor odontogênico queratocístico submetidos à descompressão, com consequente metaplasia do revestimento epitelial (AUGUST et

al., 2003). Com esse achado, CK10 aparentemente não é um marcador adequado na diferenciação histológica entre o cisto radicular e o tumor odontogênico queratocístico que sofreu metaplasia epitelial, devido à descompressão ou contaminação secundária com consequente inflamação na cápsula fibrosa. Adicionalmente, neste estudo não foi observada correlação positiva entre a expressão de CK10 e a intensidade da reação inflamatória.

O presente estudo revelou positividade para CK14 nas células epiteliais tanto da camada basal quanto da camada suprabasal de todos os cistos radiculares, como observado no estudo de PIRES et al. (2004) e diferente do que ocorre na mucosa bucal normal (MATA, 2007). Esta mudança no perfil de expressão de CK14 em um tecido epitelial estratificado não queratinizado, provavelmente se deve a presença constante de uma reação inflamatória na cápsula fibrosa dos cistos radiculares, embora não tenha sido observada correlação significativa entre a expressão de CK14 e a intensidade da inflamação no estroma cístico. A CK14 é uma proteína de ancoragem capaz de preservar a integridade mecânica das células epiteliais, de forma que a sua presença pode ser fundamental na preservação e manutenção das interações entre epitélio e estroma (DOMINGUES et al., 2000).

Além do mioepitélio e mesotélio, a CK14 é comumente expressa na camada basal de tecidos epiteliais estratificados queratinizados e não-queratinizados e camada basal de epitélio glandular (MATA, 2007). As estruturas odontogênicas embrionárias formadas por epitélio também expressam fortemente CK14, sobretudo o epitélio interno do órgão dentário (DOMINGUES et al., 2000; CRIVELINI et al., 2003).

Entre as lesões de origem no epitélio odontogênico, o cisto odontogênico glandular e vários tumores se mostraram positivos para CK14, como ameloblastoma, tumor odontogênico adematóide, tumor odontogênico epitelial calcificante, fibroma ameloblástico e odontoma (CRIVELINI et al., 2003; PIRES et al., 2004). Como o clone 34BE12 é formado por um coquetel de CKs de alto peso molecular que compreende as CKs 1, 5, 10 e 14, a expressão deste clone em todos os casos de cisto radicular é coerente, como foi observada neste estudo, visto que todos os casos apresentaram também forte expressão de CK5 e 14.

Neste experimento, CK16 foi evidenciada em 22,2% dos casos, porcentagem semelhante à encontrada por PIRES et al. (2004). Este resultado pode ser explicado pela baixa taxa de proliferação celular apresentada pelas células epiteliais no cisto radicular (NADALIN, 2008), embora haja frequente hiperplasia do revestimento, visto que a CK16 está frequentemente presente em epitélios proliferativos, neoplásicos ou não-neoplásicos, como nos carcinomas de pele, verruga vulgar, dermatites e queratose actínica, além do epitélio palmo-plantar. Porcentagem semelhante de casos positivos é observada nos cistos dentígeros (PIRES et al., 2004), diferente do tumor odontogênico queratocístico que apresenta altas taxas de positividade para CK16 (SHEAR, 2002; PIRES et al., 2004), reflexo da maior taxa de proliferação celular apresentada pelas células epiteliais do seu revestimento (KICHI et al., 2005; NADALIN, 2008). Assim, a expressão de CK16, além de caracterizar um epitélio mais proliferativo, pode ser útil na distinção entre as principais lesões císticas odontogênicas. CK16 também é frequentemente expressa nas células tumorais do

ameloblastoma (PIRES et al., 2004). Entretanto, não há evidência da presença de CK16 em epitélios odontogênicos embrionários (DOMINGUES et al., 2000).

Neste estudo, 91,1% dos casos de cisto radicular foram positivos para CK19, principalmente nas camadas suprabasal e superficial do epitélio, como observado por PIRES et al. (2004). Embora o estudo de STOLL et al. (2005) também tenha revelado localização suprabasal, a porcentagem de casos positivos foi menor (46,6%). Comparando a expressão de CK19 em epitélios não queratinizados normais, onde há localização basal, nos cistos odontogênicos há predominância de expressão na camada suprabasal do epitélio de revestimento cístico, como observado neste e em outros estudos (PIRES et al., 2004; STOLL et al., 2005). Esse achado sugere uma função distinta da CK19 no epitélio normal de superfície e no epitélio cístico.

A CK19 é a menor citoqueratina ácida conhecida e apresenta expressão variável em vários tecidos humanos, sem associação com uma CK básica. Pode ser detectada em epitélios simples e células basais de epitélio escamoso estratificado não queratinizado, além de epitélio gastrointestinal e odontogênico. Nas estruturas odontogênicas embrionárias, CK19 é evidenciada nos pré-ameloblastos e retículo estrelado do órgão dentário, constituintes dos germes dentários, além de remanescentes da lâmina dentária (DOMINGUES et al., 2000; CRIVELINI et al., 2003). Há frequente positividade de CK19 em lesões odontogênicas, porém essa expressão é variável entre as lesões. Em tumores odontogênicos, há relatos de positividade no tumor odontogênico epitelial calcificante e em áreas de metaplasia escamosa presentes em ameloblastomas (CRIVELINI et al., 2003). Entretanto, PIRES

et al. (2004) encontraram positividade em 93% dos ameloblastomas avaliados, não somente em áreas com diferenciação escamosa.

A expressão de CK19 é ainda mais variável no tumor odontogênico queratocístico. Enquanto alguns estudos observaram positividade na camada suprabasal na grande maioria dos casos avaliados (PIRES et al., 2004; VARGAS et al., 2007), STOLL et al. (2005) não observaram nenhum caso de tumor odontogênico queratocístico positivo para CK19. Embora nos cistos dentígeros essa diferença não tenha sido tão acentuada, um estudo revelou positividade em 50% dos casos (STOLL et al., 2005) e outro em 90% dos casos de cisto dentígero (PIRES et al., 2004). Com essas diferenças de expressão entre as lesões císticas odontogênicas, foi sugerido que o uso de CK19 pode ser uma ferramenta útil na distinção entre o tumor odontogênico queratocístico e os outros cistos odontogênicos mais frequentes, cisto radicular e dentígero (STOLL et al., 2005). Entretanto, particularmente nos tumores odontogênicos queratocísticos, a diferença foi muito acentuada, sendo mais provável a ocorrência de falhas na técnica empregada ou sensibilidade distinta dos clones utilizados. Por outro lado, o uso da CK19 parece ser realmente útil no diagnóstico dos cistos odontogênicos glandulares, que fazem diagnóstico diferencial com o carcinoma mucoepidermóide central, uma neoplasia maligna e conseqüentemente de comportamento biológico completamente distinto. PIRES et al. (2004) observaram que a CK19 é expressa em 50% dos carcinomas mucoepidermóides centrais, enquanto todos os casos de cisto odontogênico glandular mostraram positividade para esta CK.

Outras CKs também já foram estudadas e identificadas em lesões císticas odontogênicas, incluindo o cisto radicular. CK6, 7, 13 e 18 já foram identificadas no epitélio de revestimento cístico e no tecido odontogênico embrionário, mas com uma expressão variável entre os estudos (DOMINGUES et al., 2000; LU et al., 2002; CRIVELINI et al., 2003; PIRES et al., 2004; STOLL et al., 2005), sendo aparentemente menos importantes na manutenção da integridade do epitélio odontogênico.

A expressão de CKs pode ser significativamente alterada quando o epitélio está associado a uma reação inflamatória no tecido conjuntivo adjacente. KAMINAGAKURA et al. (2006) observaram que as CKs 1 e 10, comumente expressas na mucosa bucal normal, perderam sua expressão nas camadas espinhosa e superficial da mucosa bucal afetada pela paracoccidiodomicose, que apresentava hiperplasia pseudo-epiteliomatosa associada a reação inflamatória crônica intensa. Em outro estudo, foi observado aumento da expressão das CKs 1, 6, 10 e 16 em casos de mucosite radio-induzida, quando comparado a mucosa bucal normal (BONAN et al., 2006). LIMA (2009) observou que o epitélio do tumor odontogênico queratocístico pode perder sua arquitetura convencional na presença de inflamação na cápsula cística. Entretanto, não há estudos que tenham avaliado a correlação entre a mudança de padrão de expressão de CKs e a intensidade da reação inflamatória nos cistos radiculares. No presente estudo, não foi observada correlação entre esses dois eventos em nenhuma das CKs avaliadas, exceto para CK19, em que se encontrou

correlação positiva entre sua expressão e reação inflamatória intensa. Correlação positiva também foi observada entre a expressão de CK19 e epitélio hiperplásico.

Pelo presente trabalho e somado à literatura existente verifica-se que o cisto radicular apresenta um largo perfil de expressão de CKs, incluindo as CKs 4, 5, 6, 7, 8, 10, 13, 14, 16, 17, e 19 (PIRES et al., 2004; STOLL et al., 2005). Entretanto, o perfil comum de CKs é composto principalmente pelas CKs 5, 13, 14, 17 e 19 e as CKs 4, 6, 7, 8, 10 e 16 podem ser expressas, mas de forma variável e em menor proporção. Até o momento não foram encontradas evidências de expressão das CKs 1, 2, 3, 9, 11, 12, 15, 18 e 20 (PIRES et al., 2004).

As CKs são fundamentais para a manutenção da integridade e função das células epiteliais, inclusive daquelas que participam no revestimento dos cistos radiculares. Elas são importantes não apenas para o melhor entendimento da patogênese e histogênese dessas lesões, mas também são úteis na distinção entre as principais lesões císticas odontogênicas. Particularmente na Endodontia, devido ao papel fundamental dessas proteínas na manutenção epitelial, o uso de agentes que causem a inibição de sua expressão pode ser uma ferramenta adjuvante no tratamento dessas lesões, sobretudo naquelas refratárias ao tratamento endodôntico convencional. Estudos adicionais devem ser realizados utilizando um número maior de casos, incluindo os cistos radiculares, para determinar se a reação inflamatória pode exercer algum papel na mudança de expressão das CKs e para confirmar esses achados.



Conclusões

Nas condições experimentais deste estudo, e com base nos resultados obtidos, foi possível concluir que:

1. As CKs 5, 14 e 19 são fortemente expressas no revestimento epitelial do cisto radicular.

2. As CKs 8, 10 e 16 são raramente expressas e aparentemente não desempenham papel fundamental na manutenção do tecido epitelial nos cistos radiculares.

3. Houve correlação direta entre reação inflamatória crônica intensa e presença de revestimento epitelial hiperplásico.

4. Houve correlação direta entre a expressão de CK19 e a intensidade da reação inflamatória e espessura do revestimento epitelial.

5. Não houve correlação entre o padrão de expressão das CKs 5, 8, 10, 14, coquetel 34BE12 e a intensidade da reação inflamatória presente no estroma e a espessura do revestimento epitelial.



Referências Bibliográficas

AGARAM, N. P.; COLLINS, B. M.; BARNES, L.; LOMAGO, D.; ALDEEB, D.; SWALSKY, P.; FINKELSTEIN, S.; HUNT, J. L. Molecular analysis to demonstrate that odontogenic keratocysts are neoplastic. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v. 128, n. 3, p. 313-7, 2004.

ALI, M. A. Expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer in odontogenic cysts. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 106, n. 2, p. 258-63, 2008.

ALMEIDA-JR, H. L. Citoqueratinas. **An. Bras. Dermatol.**, v. 79, n. 2, p. 135-45, 2004.

AUGUST, M.; FAQUIN, W. C.; TROULIS, M. J.; KABAN, L. B. Dedifferentiation of odontogenic keratocyst epithelium after cyst decompression. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 61, n. 6, p. 678-84, 2003.

AUGUST, M.; FAQUIN, W. C.; TROULIS, M.; KABAN, L. B. Differentiation of odontogenic keratocysts from nonkeratinizing cysts by use of fine-needle aspiration biopsy and cytokeratin-10 staining. **J. Oral. Maxillofac. Surg.**, v. 58, n. 9, p. 935-41, 2000.

BARNES, L.; EVESON, J. W.; REICHART, P.; SIDRANSKY, D. **Pathology and genetics of head and neck tumours.** World Health Organization Classification of Tumours. Lyon: IARC, 430p., 2005.

BARRETT, A. W.; CORT, E.M.; PATEL, P.; BERKOVITZ, B. K. B. An immunohistological study of cytokeratin 20 in human and mammalian oral epithelium. **Arch. Oral Biol.**, v. 45, n. 10, p. 879-87, 2000.

BONAN, P. R. F.; KAMINAGAKURA, E.; PIRES, F. R.; VARGAS, P. A.; ALMEIDA, O. P. Cytokeratin expression in initial oral mucositis of head and neck irradiated patients. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 101, n. 2, p. 205-11, 2006.

ÇALISKAN, M. K. Prognosis of large cyst-like periapical lesions following nonsurgical root canal treatment: a clinical review. **Int. Endod. J.**, v. 37, n. 6, p. 408-16, 2004.

CHU, P. G.; WEISS, L. M. Keratin expression in human tissues and neoplasms. **Histopathology**, v. 40, n. 5, p. 403-39, 2002.

COLIC, S.; JURISIC M; JURISIC, V. Pathophysiological mechanism of the developing radicular cyst of the jaw. **Acta Chir. Iugosl.**, v. 55, n. 1, p. 87-92, 2008.

CRIVELINI, M. M.; ARAÚJO, V. C.; SOUSA, S. O.; ARAÚJO, N. S. Cytokeratins in epithelia of odontogenic neoplasms. **Oral Dis.**, v. 9, n. 1, p. 1-6, 2003.

DOMINGUES, M. G.; JAEGER, M. M. M.; ARAÚJO, V. C.; ARAÚJO, N. S. Expression of cytokeratins in human enamel organ. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 108, n. 1, p.43-7, 2000.

FRANKE, W. W.; SCHILLER, D. L.; MOLL, R.; WINTER, S.; SHMIDT, E.; ENGELBRECHT, I. Diversity of cytokeratins. Differentiation specific expression of cytokeratin polypeptides in epithelial cells and tissues. **J. Mol. Biol.**, v. 153, n. 4, p. 933-59, 1981.

FREGNANI, E. R.; PIRES, F. R.; QUEZADA R. D.; VARGAS, P. A.; ALMEIDA, O. P. Calcifying odontogenic cyst; clinicopathological features and immunohistochemical profile of 10 cases. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 32, n. 3, p. 163-70, 2003.

FRISCHKNECHT, I. **Cisto paradental. Nomenclatura, etiologia, aspectos clínicos e radiográficos, histopatologia, diagnóstico diferencial e tratamento: uma visão atual.** Campinas; 2006. 129p. Dissertação (Mestrado). Curso de Odontologia. Centro de Pós-Graduação - São Leopoldo Mandic.

GAO, Z.; MACKENZIE, I. C.; WILLIAMS, D. M.; CRUCHLEY, A. T.; LEIGH, I.; LANE E. B. Cytokeratin expression of the odontogenic epithelia in dental follicles and developmental cysts. **J. Oral Pathol.**, v. 18, n. 2, p. 63-7, 1989.

GARCIA, C. C.; DIAGO, M. P.; MIRA, B. G.; SEBASTI, A. N.; SEMPERE, F. V. Expression of cytokeratins in epithelized periapical lesions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 107, n. 4, p. 43-6, 2009.

GARCIA, C. C.; SEMPERE, F. V.; DIAGO, M. P.; BOWEN, E. M. The post-endodontic periapical lesion: histologic and etiopathogenic aspects. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal**, v. 12, n. 8, p. 85-90, 2007.

GARZON, I.; SERRATO, D.; RODA, O.; DEL CARMEN, S. Q. M.; GONZALES-JARANAY, M.; MOREU, G.; NIETO-AGUILAR, R.; ALAMINOS, M.; CAMPOS, A. In vitro cytokeratin expression profiling of human oral mucosa substitutes developed by tissue engineering. **Int. J. Artif. Organs**, v. 32, n.10, p. 711-9, 2009.

GROSSMANN, S. M.; MACHADO, V.C.; XAVIER, G. M.; MOURA, M. D.; GOMEZ, R. S.; AGUIAR, M. C.; MESQUITA, R. A. Demographic profile of odontogenic and selected nonodontogenic cysts in a Brazilian population. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 104, n. 1, p. 35-41, 2007.

HAYASHI, M.; OHSHIMA, T.; OHSHIMA, M.; YAMAGUCHI, Y.; MIYATA, H.; TAKEICHI, O.; OGISO, B.; ITO, K.; OSTMAN, A.; OTSUKA, K. Profiling of radicular cyst and odontogenic keratocyst cytokine production suggests common growth mechanisms. **J. Endod.**, v. 34, n. 1, p. 14-21, 2008.

HORMIA, M.; YLIPAAVALNIEMI, P.; NAGLE, R. B.; VIRTANEN, I. Expression of cytokeratins in odontogenic jaw cysts: monoclonal antibodies reveal distinct variation between the different cyst types. **J. Oral. Pathol.**, v. 16, n. 8, p. 338-40, 1987.

IEZZI, G.; PIATTELLI, A.; ARTESE, L.; GOTERI, G.; FIORONI, M.; RUBINI, C. KAI-1 protein expression in odontogenic cysts. **J. Endod.**, v. 33, n. 3, p. 235-8, 2007.

JACQUES, C. M.; PEREIRA, A. L.; MAIA V.; CUZZI T.; RAMOS-E-SILVA, M. Expression of cytokeratins 10, 13, 14 and 19 in oral lichen planus. **J. Oral Sci.**, v. 51, n. 3, p. 355-65, 2009.

JONES, A. V.; CRAIG, G. T.; FRANKLIN, C. D. Range and demographics of odontogenic cysts diagnosed in a UK population over a 30-year period. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 35, n. 8, p. 500-7, 2006.

KAMINAGAKURA, E.; BONAN, P. R.; LOPES, M. A.; ALMEIDA, O. P.; SCULLY, C. Cytokeratin expression in pseudoepitheliomatous hyperplasia of oral paracoccidioidomycosis. **Med. Mycol.**, v. 44, n. 5, p. 399-404, 2006.

KICHI, E.; ENOKIYA, Y.; MURAMATSU, T.; HASHIMOTO, S.; INOUE, T.; ABIKO, Y.; SHIMONO, M. Cell proliferation, apoptosis and apoptosis-related factors in odontogenic keratocysts and in dentigerous cysts. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 34, n. 5, p. 280-6, 2005.

KRAMER I. R. H.; PINDBORG, J. J.; SHEAR, M. **Histological typing of odontogenic tumors, jaw cysts and allied lesions.** World Health Organization, 2^a ed. Springer-Verlag., 124p., 1992.

KUSAFUKA, K.; SASAGURI, K.; SATO S.; TAKEMURA, T.; KAMEYA T. Runx2 expression is associated with pathologic new bone formation around radicular cysts: an immunohistochemical demonstration. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 35, n. 8, p. 492–9, 2006.

LEONARDI, R.; CALTABIANO, R.; LORETO, C. Collagenase-3 (MMP-13) is expressed in periapical lesions: an immunohistochemical study. **Int. Endod. J.**, v. 38, n. 5, p. 297-301, 2005.

LIMA, A. C. **Avaliação histopatológica e expressão imunoistoquímica de PTHrP e receptor de PTH/PTHrP tipo I em cistos radiculares, cistos dentígeros e tumores odontogênicos queratocísticos.** Ribeirão Preto; 2009. Dissertação (Mestrado). Curso de Odontologia. Universidade de Ribeirão Preto

LOPES, F. F. L.; CRUZ, M. C. F. N.; PEREIRA, A. L. A.; SILVEIRA, E. J. D.; GALVÃO, H. C.; SOUZA, L. B.; FREITAS, R. A. Análise imuno-histoquímica das citoqueratinas em ameloblastoma e tumor odontogênico adenomatóide. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 41, n. 6, p. 425-30, 2005.

LU, D.P.; TATEMOTO, Y.; KIMURA, T.; OSAKI, T. Expression of cytokeratins (CKs) 8, 13 and 18 and their mRNA in epithelial linings of radicular cysts: implication for the same CK profiles as nasal columnar epithelium in squamous epithelial lining. **Oral Dis.**, v. 8, n. 1, p. 30-6, 2002.

LUKANDU, O.M.; NEPPELBERG. E.; VINTERMYR, O. K.; JOHANNESSEN, A. C.; COSTEA, D. E. Khat alters the phenotype of in vitro-reconstructed human oral mucosa. **J. Dent. Res.**, v. 89, n. 3, p. 270-5, 2010.

LUKIC, A.; VOJVODIC, D.; MAJSTOROVIC, I.; COLIC, M. Production of interleukin-8 in vitro by mononuclear cells isolated from human periapical lesions. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 21, n. 5, p. 296-300, 2006.

MACHADO, G. F.; FIGUEIREDO, F. Revisão: filamentos intermediários. **Medicina**, v. 29, p. 104-113, 1996.

MALCIĆ, A.; JUKIĆ, S.; ANIĆ, I.; PAVELIĆ, B.; KAPITANOVIĆ, S.; KRUSLIN, B.; PAVELIĆ, K. Alterations of FHIT and P53 genes in keratocystic odontogenic tumor, dentigerous and radicular cyst. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 37, n. 5, p. 294-301, 2008.

MARTIN S. A. Conventional endodontic therapy of upper central incisor combined with cyst decompression: a case report. **J. Endod.**, v. 33, n. 6, p. 753-7, 2007.

MATA G. M. **Avaliação do perfil de citoqueratinas e marcadores de proliferação celular em lesões odontogênicas: queratocisto odontogênico, cisto odontogênico ortoqueratinizado e fibroma odontogênico central.** Piracicaba; 2007. Tese (Doutorado). Faculdade de Odontologia de Piracicaba. Universidade Estadual de Campinas.

MEARA J. G.; PILCH B. Z.; SHAH S. S.; CUNNINGHAM M. J. Cytokeratin expression in the odontogenic keratocyst. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 58, n. 8, p. 862-6, 2000.

MENEZES R.; BRAMANTE C. M.; SILVA, P. K. B.; LETRA A.; CARNEIRO E.; ZAMBUZZI F. W.; GRANJEIRO J. M. Receptor activator NFkappaB-ligand and osteoprotegerin protein expression in human periapical cysts and granulomas. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 102, n. 3, p. 404-9, 2006.

MOLDAUER, I.; VELEZ, I.; KUTTLER, S. Upregulation of Basic Fibroblast Growth Factor in Human Periapical Lesions. **J. Endod.**, v. 32, n. 5, p. 408–11, 2006.

MOLL, R.; FRANKE, W. W.; SCHILLER, D. L.; GEIGER B., KREPLER, R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultural cells. **Cell**, v. 31, n. 1, p. 11-24, 1982.

MORGAN, P.R; SEDDON, S.; LANE, B. Keratin expression in odontogênic cysts and tumours. 4th Conf. Int. Ass. Oral Pathol. Abstr., 230p., 1988.

MUGLALI, M.; KOMERIK, N.; BULUT, E.; YARIM, G. F.; CELEBI, N.; SUMER, M. Cytokine and chemokine levels in radicular and residual cyst fluids. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 37, n. 3, p. 185-9, 2008.

NADALIN, M. R. **Estudo imunoistoquímico da expressão de a-actina de músculo liso, metaloproteinase de matriz-2, syndecan-1, ki-67 e p53 em cistos radiculares, cistos dentígeros e tumores odontogênicos**

queratocístico. Ribeirão Preto; 2008. Tese (Doutorado). Curso de Odontologia. Universidade de Ribeirão.

NAIR, P. N. R. Pathogenesis of periapical periodontitis and the causes of endodontic failures. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v. 15, n. 6, p. 348-81, 2004.

NAIR, P. N. R.; PAJAROLA, G.; LUDER, H. U. Ciliated epithelium-lined radicular cysts. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 94, n. 4, p. 485-93, 2002.

NAIR, P. N. R.; SJÖGREN, U.; SUNDQVIST, G. Cholesterol crystals as an etiological factor in non-resolving chronic inflammation: an experimental study in guinea pigs. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 106, n. 102, p. 644-50, 1998.

NEVILLE B. W.; DAMM D. D.; ALLEN C. M.; BOUQUOT J. E. **Patologia Oral & Maxilofacial.** 3ª ed. Rio de Janeiro; Elsevier, 992p., 2009.

OMARY, M. B; KU, N.O.; TAO, G.Z.; TOIVOLA, D.M.; LIAO, J. "Heads and tails" of Intermediate filament phosphorylation multiple sites and functional insights. **Trends. Biochem. Sci.**, v. 31, n. 7, p. 383-94, 2006.

PARK, J. M.; JUNG, C. K.; CHOI, Y. J.; LEE, K. Y.; KANG, J. H.; KIM, M. S.; HU, H. J. The use of an immunohistochemical diagnostic panel to determine the primary site of cervical lymph node metastases of occult squamous cell carcinoma. **Hum. Pathol.**, v. 41, n. 3, p. 431-7, 2010.

PIATTELLI, A.; RUBINI, C.; FIORONI, M.; FAVERO, L.; STROCCHI, R. Expression of transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1) in odontogenic cysts. **Int. Endod. J.**, v. 37, n. 1, p. 7-11, 2004.

PIRES, F. R.; CHEN, S. Y.; PEREZ, D. E. C.; ALMEIDA O. P.; KOWALSKI, L. P. Cytokeratin expression in central mucoepidermoid carcinoma and glandular odontogenic cyst. **Oral Oncol.**, v. 40, n. 5, p. 545-51, 2004.

POOMSAWAT, S.; PUNYASINGH, J.; VEJCHAPIPAT, P. Immuno-histochemical expression of p53 protein and iNOS in odontogenic cysts. **J. Med Assoc. Thai.**, v. 92, n. 7, p. 952-60, 2009.

REGEZI, J. A.; SCIUBBA, J. J.; JORDAN, R. **Patologia Bucal – correlações clinicopatológicas**, 5ª ed. Rio de Janeiro; Elsevier, 417p., 2008.

RICUCCI, D.; PASCON, E.A.; FORD, T.R.P.; LANGELAND, K. Epithelium and bacteria in periapical lesions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 101, n. 2, p. 239-49, 2006.

RICUCCI, D.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. F. Anatomic and microbiologic challenges to achieving success with endodontic treatment: a case report. **J. Endod.**, v. 34, n. 10, p. 1249-54, 2008.

ROCHA M. M. N.; MOREIRA J. L. B.; MENEZES D. B.; CUNHA M. P. S. S.; CARVALHO, C. B. M. Estudo bacteriológico de lesões periapicais. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, v. 12, n. 3, p. 215-23, 1998.

ROCHA, M. J. C. **Estudo microscópico e imuno-histoquímico dos cistos periodontais apicais de dentes tratados ou não endodonticamente. Sua relação com a regressão não cirúrgica.** Bauru; 1991. Tese (Doutorado). Curso de Odontologia. Universidade de São Paulo.

ROSERBERG, P. A.; FRISBIE, J; LEE, J.; LEE, K.; FROMER, H.; KOTTAL, S.; PHELAN, J.; LIN, L.; FISCH, G. Evaluation of pathologists (histopathology) and radiologists (cone beam computed tomography) differentiating radicular cysts and granulomas. **J. Endod.**, v. 36, n. 3, p. 423-428, 2010.

RUIZ, P. A.; AMORIM, R. F. B.; SOUZA, R. A. Fatores relacionados à regressão não-cirúrgica dos cistos radiculares. **RBPO.**, v. 2, n. 1, p. 39-46, 2003.

SANTOS, J. N; OLIVEIRA, G. Q.; GURGEL, C. A.; SOUZA, R. O.; SALES, C. B.; AGUIAR, P. V. N. A; RAMOS, E. A. Altered expression of cytokeratins in primary, recurrent and syndrome keratocystic odontogenic tumors. **J. Mol. Histol.**, v. 40, n. 4, p.269-275, 2009.

SHEAR M. The aggressive nature of the odontogenic keratocyst: is it a benign cystic neoplasm? Part 3. Immunocytochemistry of cytokeratin and other epithelial cell markers. **Oral Oncol.**, v. 38, n. 5, p. 407-15, 2002.

SHEAR, M.; SPEIGHT, P. M. **Cysts of the oral and maxillofacial regions.** 4th ed. Oxford: Blackwell Munksgaard., 222p., 2007.

SILVA, M.J.; SOUSA, S.O.; CORREA, L; CARVALHOSA, A. A.; ARA C. Immunohistochemical study of the orthokeratinized odontogenic cyst: a comparison with the odontogenic keratocyst. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 94, n. 6, p. 732-7, 2002.

SILVEIRA, E. J. D.; MEDEIROS, K. B.; QUEIROZ, L. M. G.; FIGUEIREDO, C. R. L. V. Citoqueratinas - aplicação na Patologia Oral. **Rev. Bras. Odontol.**, v. 59, n. 1, p. 46-49, 2002.

SIQUEIRA, J. E. **Tratamento das Infecções Endodônticas.** Rio de Janeiro: MEDSI. 196p., 1997.

SIQUEIRA-JÚNIOR, J. F. A etiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. **Int. Endod. J.**, v. 34, n. 1, p. 1-0, 2001.

SIQUEIRA-JÚNIOR, J. F.; DANTAS C. J. S. **Mecanismos celulares e moleculares da inflamação.** Rio de Janeiro: MEDSI. 238p., 2000.

SIQUEIRA-JÚNIOR, J. F.; RÔÇAS I. N. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 2—Redefining the endodontic microbiota. **J. Endod.**, v. 31, n. 7, p. 488-98, 2005.

STOLL, C.; STOLLENWERK, C.; RIEDIGER, D.; MITTERMAYER, C.; ALFER, J. Cytokeratin expression patterns for distinction of odontogenic keratocysts from dentigerous and radicular cysts. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 34, n. 9, p. 558-64, 2005.

SUN, K. T; CHEN M. Y; CHIANG H. H; TSAI, H. H. Treatment of large jaw bone cysts in children. **J. Dent. Child.**, v. 76, n. 3, p. 217-22, 2009.

TAKEDA, Y.; OIKAWA, Y.; FURUYA, I.; SATOH, M.; YAMAMOTO, H. Mucous and ciliated cell metaplasia in epithelial linings of odontogenic inflammatory and developmental cysts. **J. Oral Sci.**, v. 47, n. 2, p. 77-81, 2005.

VARGAS, P. A.; PEREZ, D. E. C.; MATA, G. M.; ALMEIDA, O. P.; JONES, A.V.; GERHARD, R. Fine needle aspiration cytology as an additional tool in the diagnosis of odontogenic keratocyst. **Cytopathology**, v. 18, n. 6, p. 361-6, 2007.

VARINAUSKAS, V.; GERVICKAS, A.; KAVOLIŪNIENE, O. Analysis of odontogenic cysts of the jaws. **Medicina**, v. 42, n. 3, p. 201-7, 2006.

WAGNER, Y.; FILIPPI, A.; KIRSCHNER, H.; DREYER, T. Zytokeratin- und p53-Expression odontogener Zysten. Cytokeratin and p53 expression of odontogenic cysts **Mund. Kiefer. Gesichtschir.**, v. 3, n. 5, p. 263-9, 1999.

XAVIER, F. C.; RODINI, C. O.; RAMALHO, L. M.; SARMENTO, V.A.; NUNES, F.D.; SOUSA, S. C. Clear cell odontogenic carcinoma: case report with immunohistochemical findings adding support to the challenging diagnosis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 106, n. 3, p. 403-10, 2008.



Anexos



Ribeirão Preto, 18 de dezembro de 2006

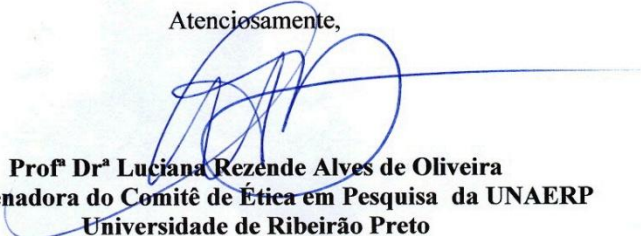
Prezado Senhor,

Vimos por meio desta informar que Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Ribeirão Preto CEP/UNAERP analisou e aprovou sem restrições, o Projeto intitulado **“ESTUDO IMUNOISTOQUIO COMPARATIVO DA EXPRESSÃO DE CITOQUERATINAS PTHRP, KI-67 E CÉLULAS INFLAMATÓRIAS EM CISTOS PERIAPICAIS, CISTOS DENTIGEROS E TUMORES ODONTOGÊNICOS QUERATOCÍSTICOS”**, tendo como pesquisador **Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez**, registrado sobre o **ComÉt: 085/06**.

Temos ciência de que os estudos estão sendo conduzidos na Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP.

Solicitamos que a senhora encaminhe os relatórios parciais e finais, bem como envie-nos possíveis emendas e novos termos de consentimento livre e esclarecido, notifique qualquer evento adverso sério ocorrido no centro e novas informações sobre a segurança do estudo para que possamos fazer o devido acompanhamento.

Atenciosamente,


Prof.ª Dr.ª Luciana Rezende Alves de Oliveira
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa da UNAERP
Universidade de Ribeirão Preto

Quadro 1 - Distribuição anatômica e topográfica das citoqueratinas e doenças associadas.

CK5	Localização comum	Localização Oral	Doenças associadas
CK1	Epiderme na camada suprabasal Epitélio da gengiva e palato duro, na camada suprabasal	Palato duro e gengiva	Eritrodermia ictiosiforme congênita bolhosa, hiperkeratose epidermolítica, queratodermia palmo-plantar difusa não epidermolítica
CK2	Epiderme na camada suprabasal Epitélio da gengiva e palato duro, na camada suprabasal	Palato duro e gengiva	Ictiose bolhosa de Siemens
CK3	Epitélio da córnea, na camada suprabasal	Não estão presentes no epitélio oral	Distrofia corneana de Meesmann's
CK4	Epitélio escamoso estratificado não queratinizado, mucosas, e órgão internos, na camada suprabasal	Epitélio sulcular e mucosa jugal	Nevo branco esponjoso
CK5	Células basais de epitélios escamosos e glandulares, em mioepitélios e no folheto embrionário denominado mesotélio		Epidermólise bolhosa simples
CK6	Epitélios escamosos hiperproliferativos, na camada suprabasal	Mucosa oral em tecidos epiteliais de alta renovação	Paquioniúquia congênita-1, keratoderma palmoplantar não-epidermolítico focal
CK7	Epitélios simples, mioepitélio, nos epitélios de ductos da bile, do pâncreas, renal e epitélio gastrointestinal		Não são conhecidas doenças por mutação.
CK8	Epitélio simples e Epitélios escamosos estratificados não-queratinizados; em células secretoras e parenquimatosas		Cirrose criptogênica
CK9	Epiderme da palma das mãos e pés, camada suprabasal	Não estão presentes no epitélio oral	Keratoderma palmoplantar epidermolítico
CK10	Epiderme na camada suprabasal	Palato duro e gengiva	Eritrodermia ictiosiforme congênita bolhosa, a hiperkeratose epidermolítica, queratodermia palmo-plantar difusa não epidermolítica
CK11	Epiderme na camada suprabasal	Palato duro e gengiva	
CK12	Epitélio da córnea, na camada suprabasal	Não estão presentes no epitélio oral	Distrofia corneana de Meesmann's
CK13	Epitélio escamoso estratificado não queratinizado de órgão internos, na camada suprabasal		Nevo branco esponjoso
CK14	Epitélio escamoso estratificado não queratinizado de órgãos internos, na camada suprabasal. Em células basais de epitélios escamosos e glandulares, em mioepitélios e no folheto embrionário denominado mesotélio	Epitélio sulcular e mucosa jugal	Epidermólise bolhosa simples
CK15	Epitélios escamosos	Não constante na cavidade ora	Não são conhecidas doenças por mutação.
CK16	Epitélios escamosos hiperproliferativos, na camada suprabasal	Mucosa oral em tecidos epiteliais de alta renovação	Paquioniúquia congênita-1, keratoderma palmoplantar não-epidermolítico focal
CK17	Epitélios escamosos hiperproliferativos, na camada suprabasal		Paquioniúquia congênita-2, esteatocistoma multiplex
CK18	Epitélios simples,epitélios estratificados não-queratinizados; em células secretoras e parenquimatosas		Cirrose criptogênica
CK19	Epitélios simples, epitélios estratificados não-queratinizados; nos epitélios de ductos da bile, do pâncreas, renal e epitélio gastrointestinal		Não são conhecidas doenças por mutação.
CK20	Epitélios simples; nos epitélio gastrointestinal, nas células de Merkel da pele e nas papilas gustativas da mucosa oral	Papilas gustativas da mucosa oral	Não são conhecidas doenças por mutação.

*Dados obtidos em CHU et al., 2002; SILVEIRA et al. 2002; ALMEIDA JR. 2004.

Quadro 2 - Perfil das citoqueratinas nos cistos odontogênicos mais comuns

CKs	Expressão Normal	QO*	CD*	CR*	Autores
1	Epitélio estratificado queratinizado, supra basal (palato, duro, gengiva)	P, I SB, IN, SU	P, I	Não P.	HORMIA et al. 1987; MORGAN et al. 1988; SHEAR, 2002; SILVEIRA et al. 2002; CHU et al. 2002; PIRES et al. 2003
2	Epitélio estratificado queratinizado, supra basal (palato, duro, gengiva)	Não encontrado pesquisa da CK2 e QO	Não encontrado pesquisa da CK2 e CD	Não encontrado pesquisa Da CK2 e CR	SILVEIRA et al. 2002;
3	Epitélio da córnea em humanos (não presente no epitélio oral)	Não P.	Não P.	Não P.	SILVEIRA et al. 2002; ALMEIDA JR, 2004; CHU et al. 2002
4	Epitélio escamoso estratificado não queratinizado, mucosas, e órgão internos, suprabasal (epitélio sulcular, mucosa jugal)	P SB	P	P	MORGAN et al. 1988; GAO et al. 1989; SHEAR, 2002; SILVEIRA et al. 2002; CHU et al. 2002
5	Células basais de epitélios escamosos e glandulares, mioepitélio e mesotélio	P, C BA	P, C	P, C	GAO et al. 1989; SILVEIRA et al. 2002; CHU et al. 2002; ALMEIDA JR, 2004; STOLL et al., 2005; PIRES et al. 2003
6	Ep. estrat. querat. e não querat. de alta renovação, (mucosas orais)	P, C	P, C	P, I	SILVEIRA et al. 2002; CHU et al. 2002; ALMEIDA JR, 2004; STOLL et al., 2005; PIRES et al. 2003
7	Ep. simples, células de Merkel, mioepitélio, nos epitélios de ductos da bile, do pâncreas, renal e epitélio gastrointestinal	P SB	P SB	P, I SB	HORMIA et al. 1987; SHEAR, WAGNER et al. 1999; CHU et al. 2002; SILVEIRA et al. 2002;
8	Ep. simples, células de Merkel, ep. escamosos estratificados não-queratinizados; em células secretoras e parenquimatosas embrionário primitivo	P BA	P	P	HORMIA et al. 1987; GAO et al. 1989; SHEAR, 2002; CHU et al. 2002; SILVEIRA et al. 2002; PIRES et al. 2003
9	Epiderme da palma das mãos e pés, camada supra-basal (não presente no epitélio oral)	Não P.	P, I	Não P	HORMIA et al. 1987; SHEAR, 2002; CHU et al. 2002; SILVEIRA et al. 2002;
10	Epitélio estratificado queratinizado, supra basal (palato, duro, gengiva)	P, C IN, SU	P, I SU	P, I SU	HORMIA et al. 1987; MORGAN et al. 1988; AUGUST et al. 2000; SILVA et al., 2002; SHEAR, 2002; SILVEIRA et al. 2002; CHU et al. 2002; STOLL et al., 2005;
11	Epitélio estratificado queratinizado, supra basal (palato, duro, gengiva)	Não P.	P, I	Não P.	HORMIA et al. 1987; SHEAR, 2002; CHU et al. 2002; SILVEIRA et al. 2002;
12	Epitélio da córnea humana (não presente no epitélio oral)	Não P.	Não P.	Não P.	SILVEIRA et al. 2002; ALMEIDA JR, 2004;
13	Epitélio escamoso estratificado não queratinizado, mucosas, e órgão internos, suprabasal (epitélio sulcular, mucosa jugal)	P, C IN, SU	P, C SU	P, C	HORMIA et al. 1987; GAO et al. 1989; MORGAN et al. 1988; MEARA et al., 2000; SILVA et al., 2002; SHEAR, 2002; SILVEIRA et al. 2002; CHU et al. 2002; PIRES et al. 2003; STOLL et al., 2005;
14	Células basais de epitélios escamosos e glandulares, mioepitélio e mesotélio	P, C BA	P, C	P, C	MORGAN et al. 1988; SILVA et al., 2002; SHEAR, 2002; SILVEIRA et al. 2002; CHU et al. 2002; PIRES et al. 2003; VARGAS, et al. 2007
15	Diversos epitélios, (não é comum na cavidade oral)	Não encontrado pesquisa da CK15 e QO	Não encontrado pesquisa da CK15 e CD	Não encontrado pesquisa da CK15 e CR	SILVEIRA et al. 2002; CHU et al. 2002
16	Ep. estrat. querat. e não querat. de alta renovação, suprabasal (mucosas orais)	P	P, I	P, I	HORMIA et al. 1987; MORGAN et al. 1988; SHEAR, 2002; SILVEIRA et al. 2002; CHU et al. 2002; PIRES et al. 2003
17	Ep. estrat. querat. e não querat. de alta renovação, em peq. quantid., suprabasal	P, C SB, IN, SU	P	P	HORMIA et al. 1987; MEARA et al., 2000; SHEAR, 2002; SILVEIRA et al. 2002; CHU et al. 2002; STOLL et al., 2005;
18	Epitélios simples, epitélios estratificados não-queratinizados; em células secretoras e parenquimatosas	P, I	P, I	Não P.	HORMIA et al. 1987; MEARA et al., 2000; SHEAR, 2002; CHU et al. 2002; SILVEIRA et al. 2002; PIRES et al. 2003
19	Epitélios simples, epitélios estratificados não-queratinizados; nos epitélios de ductos da bile, do pâncreas, renal e epitélio gastrointestinal	P SU	P, C SB, IN, SU	P, C SB, IN, SU	HORMIA et al. 1987; GAO et al. 1989; MORGAN et al. 1988; WAGNER et al. 1999; SHEAR, 2002; SILVEIRA et al. 2002; CHU et al. 2002; PIRES et al. 2003; STOLL et al., 2005; VARGAS, et al. 2007
20	Epitélio intestinal papilas gustativas da mucosa oral	Não P.	Não P.	Não P.	WAGNER et al., 1999; SILVEIRA et al. 2002; CHU et al. 2002; ALMEIDA JR, 2004; STOLL et al., 2005;

*Legendas: P-Presente I-Incomum; BA-Basal, SB-Suprabasal, IN-Intermediária, SU-Superficial)

37	1	2	2	2	2	1	1	1
38	2	2	2	2	2	1	1	1
39	2	1	2	2	2	1	2	2
40	1	1	2	2	2	2	1	2
41	2	2	2	2	2	1	1	1
42	1	1	2	2	2	1	1	2
43	2	2	2	2	2	1	1	1
44	2	2	2	2	2	1	1	1
45	1	2	2	2	2	1	1	1
46	2	2	2	2	2	1	1	1
47	2	2	2	2	2	1	1	1
48	2	2	2	2	2	1	1	2
49	2	2	2	2	2	1	1	2
50	2	1	2	2	2	1	2	2
51	2	2	2	2	2	2	2	2
52	2	2	2	2	2	1	1	2
53	2	2	2	2	2	1	1	2
54	1	1	2	2	2	1	1	2
55	2	1	2	2	2	2	2	2
56	1	1	2	2	2	1	1	2

*Para reação inflamatória leve, epitélio não-hiperplásico e ausência de expressão das CKs foi atribuído escore 1; ao contrário, reação inflamatória intensa, epitélio hiperplásico e expressão das CKs, foi atribuído escore 2.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)