



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA E SAÚDE



Larissa Abbehusen Couto de Carvalho

**CISTOS ODONTOGÊNICOS DO DESENVOLVIMENTO: PERFIL CLINICOPATOLÓGICO E
IMUNOEXPRESSION DE MARCADORES DE CÉLULAS TRONCO MULTIPOTENTES EM UMA
POPULAÇÃO BRASILEIRA**

Salvador – BA

2019

Larissa Abbehusen Couto de Carvalho

**CISTOS ODONTOGÊNICOS DO DESENVOLVIMENTO: PERFIL CLINICOPATOLÓGICO E
IMUNOEXPRESSION DE MARCADORES DE CÉLULAS TRONCO MULTIPOTENTES EM UMA
POPULAÇÃO BRASILEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia e Saúde da Universidade Federal da Bahia, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Odontologia e Saúde.

Orientadora: Profa. Dra Águida Cristina Gomes Henriques Leitão.

Salvador – BA

2019

“O que está chegando é melhor do que aquilo que passou. Tudo tem seu tempo para crescer, brotar e florescer. A vontade de deus é perfeita e agradável. Ainda que eu não entenda tudo que está acontecendo agora, eu confio nos planos Dele. Por isso quando a tempestade chega eu continuo resistindo. De pé”.

Edgard Abbehusen

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao oceano de amor que me invadiu e me transformou, pessoas que me fizeram entender a importância do carinho, atenção, acolhimento, ou seja, o amor genuíno. Esta transformação ocorreu durante esses anos no mestrado e me tornaram uma pessoa mais leve e mais feliz, vocês são os responsáveis pelo meu crescimento como pessoa.

AGRADECIMENTOS

Quando penso neste trabalho, e na minha trajetória acadêmica e pessoal vejo que muitas pessoas contribuíram e acreditaram no meu crescimento humano e profissional, e é a elas que realizo esta singela homenagem...

Agradeço principalmente à **Deus** e a **Nossa Senhora Aparecida**, seres de luz que aprendi a amar e respeitar desde pequena, os quais busco sabedoria e orientações nas minhas orações.

À minha orientadora, **Profa. Dra. Águida Cristina Gomes Henriques Leitão**, professora que me escolheu e acreditou em mim. Mulher forte e mestre maravilhosa que com sua leveza, carinho e atenção sempre se mostrou disponível para me ensinar e guiar durante toda a minha trajetória. Tenho o maior orgulho de estar ao seu lado. Tenha certeza que você tem uma grande parcela na minha transformação como pessoa, e seus ensinamentos vão estar sempre comigo porque você faz parte do meu oceano.

À **Profa. Dra. Flávia Caló**, pela disponibilidade, atenção, carinho e ajuda. Sua dedicação e amor pela docência e pesquisa foi essencial para meu crescimento como profissional. Obrigada pela dedicação em me transmitir ensinamentos que levo comigo desde a graduação.

Aos **professores do Programa de pós-graduação em Odontologia e Saúde**, por toda a dedicação e carinho no ensino, em especial ao **Prof. Dr. Jean Nunes** e a **Profª. Dra. Andréia Figueiredo**, pela atenção, apoio, colaboração.

À meu pai, **Alberto Murillo da Rocha Couto**, meu primeiro professor, mesmo que não genuinamente, foi ele que me ensinou a pensar, a interpretar até mesmo a matemática e a física. Engenheiro de formação, mas o meu mestre de coração, com você aprendi, muito além das palavras, aprendi, e continuo aprendendo, a ver o mundo de uma forma completamente única com olhos para o imaginário.

À minha mãe, **Tania Maria Abbehusen Couto**, minha protetora, sempre com muito amor e compreensão. Mãe você é sem dúvidas a pessoa mais forte que conheço. E você que me acolhe e me ajuda a me restabelecer, com você aprendi sobre a vida real, sobre ser forte e saber lutar mesmo depois de ter caído. Mulher guerreira, mãe protetora e avó amorosa melhor combinação não há.

À minha irmã, **Ana Luiza Abbehusen Couto**, que muitas vezes fez papel de mãe protetora e acolhedora, minha cúmplice e conselheira. Pessoa que escolhi para madrinha de minha filha mais velha e nunca me arrependo, obrigada por sempre ser presente nas nossas vidas.

À meu marido, **Arthur Cesar Silveira de Carvalho**, meu companheiro, amigo, confidente, me apaixonei por você na primeira vez que te vi, e continuo a me apaixonar todos os dias. É com você que encontro o abraço mais acolhedor e a gargalhada mais sincera. Meu amor você tem grande parcela neste trabalho, obrigada por sempre acreditar em mim.

À minha filha mais velha, **Maria Clara Couto de Carvalho**, meu primeiro presente e meu primeiro desafio. Você me apresentou o amor incondicional que tanto se ouve falar, aquele amor que dói só de pensar. Todo dia digo que te amo, e hoje não sera diferente, te amo.

À minha filha mais nova, **Marília Couto de Carvalho**, meu segundo presente e desafio. Você já chegou enfrentando provações maiores do que qualquer coisa que eu possa imaginar. Minha guerreira, você me mostrou que vale a pena viver por aquele que amamos, e me ensinou a demonstrar esse amor, mesmo que pareça estranho, afinal o amor é meio brega mesmo.

À minha sogra, **Olivia Maria Silveira**, que me acolheu em sua família com filha, obrigada por acreditar em mim e me dar forças para seguir em frente. Você além de sogra é uma grande amiga, a qual tenho imenso orgulho e admiração. Uma taurina e filha de lemanjá de respeito, que não se nega a dar atenção e carinho a quem realmente gosta, muito obrigada por ter me abraçado e por ser tão presente em minha vida.

Às amigas que participaram deste trabalho e que são muito importantes para mim, **Simone Tosta, Lorena Vieira, Katiuce Viana e Ianna Castro**, meninas obrigada pelo aprendizado e pela amizade construída.

À todos os meus **colegas do Programa de Pós-Graduação**, em especial **Gabriela Padro, Tayane Coelho e Tais Bacelar**, que compartilharam conhecimentos e vivências, e que se tornaram muito mais que colegas, são minhas amigas, pessoas as quais levarei sempre comigo.

Aos profissionais do **Laboratório de Anatomopatologia e Imunoistoquímica** da Faculdade de Odontologia da UFBA, **Táyla Pereira, Edilson Amancio e Mirian Gomes**, pelo auxílio fundamental nas etapas laboratoriais deste projeto de pesquisa.

À **Srta. Sueli Paixão**, secretária do Programa de Pós-Graduação, pelo apoio administrativo.

À **Universidade Federal da Bahia** e ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia e Saúde**, por ter possibilitado e ter incentivado a minha formação acadêmica e científica.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelo apoio, investimento na minha qualificação profissional e por financiar parte desta pesquisa.

Meus sinceros agradecimentos a essas pessoas.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Fotomicrografia da placenta humana (controle positivo) exibindo imunoexpressão positiva para os anticorpos anti-CD44 (A) e anti-CD90 (B).....38

Gráfico 1. Cistos odontogênicos do desenvolvimento diagnosticados no serviço de patologia cirúrgica da FOUFBA de 2002 a 2019. Legenda: COO: Cisto Odontogênico Ortoqueratinizado, COC: Cisto Odontogênico Calcificante, COG: Cisto Odontogênico Glandular, COB: Cisto Odontogênico Botrioide, CPL: Cisto Periodontal Lateral, CGA: Cisto Gengival do Adulto, CD: Cisto Dentífero, QO: Queratocisto Odontogênico. Salvador/Bahia, 2019.....40

Figura 2. Imunoexpressão do CD44 nos COs do desenvolvimento. Observa-se a imunopositividade em membrana celular e o citoplasma de algumas células exibindo um aspecto granular de marcação. Note a alta expressão de CD44 no componente epitelial e mesenquimal do QO (A) e CD (B), em comparação com os demais COs: COG (C), COC (D), CGA (E), CPL (F), COB (G), e COO (H).....44

Figura 3. Imunoexpressão do CD90 nos COs do desenvolvimento. Observa-se a imunopositividade em membrana celular e citoplasma. Note a alta expressão de CD90 no componente mesenquimal do QO (A) e COC (D), em comparação com os demais COs: CD (B), COG (C), CGA (E), CPL (F), COB (G), e COO (H).....46

LISTAS DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1. Especificações dos anticorpos primários utilizados. Salvador/Bahia, 2019.....	38
Tabela 2. Dados clínicos dos COs do desenvolvimento diagnosticados no serviço de patologia cirúrgica da FOUFBA. Salvador/Bahia, 2019.....	41
Tabela 3. Localização dos COs do desenvolvimento diagnosticados no arquivo do serviço de patologia cirúrgica da FOUFBA. Salvador/Bahia, 2019.....	42
Tabela 4- Imunoexpressão do CD44 no componente epitelial dos COs do desenvolvimento. Salvador/Bahia, 2019.....	43
Tabela 5- Imunoexpressão do CD44 na cápsula dos COs do desenvolvimento. Salvador/Bahia, 2019.....	45
Tabela 6- Imunoexpressão do CD90 no componente epitelial dos COs do desenvolvimento. Salvador/Bahia, 2019.....	47
Tabela 7- Imunoexpressão do CD90 na cápsula dos COs do desenvolvimento. Salvador/Bahia, 2019.....	48
Tabela 8- Imunoexpressão do CD44 no epitélio dos COs do desenvolvimento de perfil agressivo e indolentes. Salvador/Bahia, 2019.....	48
Tabela 9- Imunoexpressão do CD44 na cápsula dos COs do desenvolvimento de perfil agressivo e indolentes. Salvador/Bahia, 2019.....	49
Tabela 10- Imunoexpressão do CD90 no epitélio dos COs do desenvolvimento de perfil agressivo e indolentes. Salvador/Bahia, 2019.....	49
Tabela 11- Imunoexpressão do CD90 na cápsula dos COs do desenvolvimento de perfil agressivo e indolentes Salvador/Bahia, 2019.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SIMBOLOS

CO- Cisto Odontogênico

QO- Queratocisto Odontogênico

TOQ- Tumor Odontogênico Queratocisto

CD- Cisto Dentígero

COG- Cisto Odontogênico Glandular

COC- Cisto Odontogênico Calcificante

TOCC- Tumor Odontogênico Cístico Calcificante

CGA- Cisto Gengival do Adulto

CPL- Cisto Periodontal Lateral

COB- Cisto Odontogênico Botrioide

COO- Cisto Odontogênico Ortoqueratinizado

TOA- Tumor Odontogênico Adenomatoide

CT- Célula-Tronco

CTE- Célula-Tronco Embrionária

CTA- Célula-Tronco Adulta

CTH- Célula-Tronco Hematopoiética

CTEp- Célula-Tronco Epitelial

CDC7- do inglês Cell division cycle 7

SOX-2- do inglês SRY (Sex Determining Region Y)-box 2

OCT-4- do inglês Octamer-Binding Transcription Factor 4

CTM- Célula-Tronco Mesenquimal

CD44- do inglês Cluster of Differentiation 44

AH- Ácido Hialurônico

CD90- do inglês Cluster of Differentiation 90

THY-1- CD90

OMS- Organização Mundial de Saúde

DNA- Ácido desoxirribonucleico

CD105- do inglês Cluster of Differentiation 105 - Endoglin

CD73- do inglês Cluster of Differentiation 73

CD45- do inglês Cluster of Differentiation 45

CD34- do inglês Cluster of Differentiation 34

CD14- do inglês Cluster of Differentiation 14

CD11b- do inglês Cluster of Differentiation 11b

CD79a- do inglês Cluster of Differentiation 79a

CD19- do inglês Cluster of Differentiation 19

HLA-DR- Antígeno Leucocitário Humano-DR

CD 166- do inglês Cluster of Differentiation 166

CD29- do inglês Cluster of Differentiation 29

CD44- do inglês Cluster of Differentiation 44

STRO-1 – do inglês immunogen CD34+ human bone marrow cells

kDa- Kilodaltons

GFD- glicosilfosfatidilinositol

FOUFBA- Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia

UFBA- Universidade Federal da Bahia

PBS- do inglês Phosphate-Buffered Saline

pH- Potencial Hidrogeniônico

µm- Micrometro

SPSS- do inglês Statistical Package for the Social Sciences

Cm- Centímetros

Min- Mínimo

Máx- Máximo

DP- Desvio Padrão

NI- Não Informado

RESUMO

Introdução: Os cistos odontogênicos (COs) do desenvolvimento constituem lesões frequentes que acometem o complexo maxilo-mandibular, possuem etiologia intimamente relacionada aos remanescentes da odontogênese, os quais são ricos em células-tronco (CT) multipotentes. A presença e atuação das CT neste grupo de lesões não é clara, porém acredita-se que suas características e propriedades permitam a grande variação morfológica e comportamental exibida nos COs do desenvolvimento. **Objetivo:** Determinar o perfil clinicopatológico e de imunexpressão de marcadores de células-tronco multipotentes, CD44 e CD90, em COs do desenvolvimento de uma população brasileira. **Metodologia:** Foram avaliados 150 casos de COs do desenvolvimento, sendo 74 queratocistos odontogênicos (QO), 59 cistos dentígeros (CD), 7 cistos odontogênicos calcificantes (COC), 4 cistos gengivais do adulto (CGA), 3 cistos odontogênicos glandulares (COG) e 1 caso para os demais, cisto periodontal lateral (CPL), cisto odontogênico botrioide (COB) e o cisto odontogênico ortoqueratinizado (COO), diagnosticados no período de 2002 a 2019. Dados referentes à idade e sexo dos pacientes, bem como localização e tamanho da lesão, além do tipo de biópsia foram obtidos das fichas de requisição do anatomopatológico. Cortes parafinados foram obtidos de 20 casos de QO, 7 de CD, 7 de COG, 4 de COC, 2 de CGA, 1 de CPL, 1 de COB e 1 de COO e submetidos à imunohistoquímica pela técnica da imunoperoxidase para os anticorpos anti-CD44 e anti-CD90. **Resultado:** Dos 150 casos de COs do desenvolvimento, o QO (49,3%, 74) e o CD (39,3%, 59) foram os mais frequentes ($p=0,001$). A média de idade encontrada foi de 32 anos, sem predileção por sexo e o sítio de maior ocorrência foi a mandíbula posterior, com o QO, COC e COG exibindo os maiores tamanhos. As proteínas estudadas CD44 e CD90 mostraram positividade tanto no componente epitelial como na cápsula. A imunexpressão do CD44 exibiu padrão similar no epitélio e cápsula, onde o QO apresentou maior positividade, seguido pelo CD, e COG ($p=0,000$). Para o CD90, o componente epitelial não demonstrou diferença estatisticamente significativa, porém para a cápsula o QO também demonstrou os maiores escores, seguido pelo COC e CD ($p=0,000$). Ao separar as lesões em agressivas e indolentes, o CD44 exibiu maior positividade para as lesões agressivas no epitélio ($p=0,007$) e na cápsula houve uma tendência para as lesões agressivas, mas sem diferença estatística. O CD90, novamente não demonstrou diferença estatística no epitélio, mas a cápsula demonstrou expressão superior para os cistos agressivos ($p=0,006$). **Conclusão:** A imunopositividade do CD44 e CD90 indicam que as CTs multipotentes podem participar da histogênese e patogênese, além de possivelmente influenciar o comportamento biológico deste grupo de lesões.

Palavras chave: cistos odontogênicos, células tronco, CD44, CD90.

ABSTRACT

Introduction: Developmental odontogenic cysts (OCs) are frequent lesions that affect the maxillo-mandibular complex, their etiology is closely related to the remaining odontogenesis, which are rich in multipotent stem cells (SC). The presence and performance of SC in this group of lesions is not clear, but it is believed that their characteristics and properties allow the great morphological and behavioral variation exhibited in the developmental OCs. **Objective:** To determine the clinicopathological and immunoexpression profile of multipotent stem cell markers, CD44 and CD90, in OCs of the development of a Brazilian population. **Methodology:** 150 cases of developmental OCs were evaluated, being 74 keratocysts odontogenic (KO), 59 dentigerous cysts (DC), 7 calcifying odontogenic cysts (COC), 4 adult gingival cysts (AGC), 3 glandular odontogenic cysts (GOC) and 1 case for the others, lateral periodontal cyst (LPC), botryoid odontogenic cyst (BOC), orthokeratinized odontogenic cyst (OOC), diagnosed in the period from 2002 to 2019. Data regarding the age and sex of the patients, as well as the location and size of the lesion, as well as the type of biopsy were obtained from the anatomopathological requisition forms. Paraffin sections were obtained from 20 cases of KO, 7 of DC, 7 of GOC, 4 of COC, 2 of AGC, 1 of LPC, 1 of BOC and 1 of OOC and subjected to immunohistochemistry using the immunoperoxidase technique for anti- CD44 and anti-CD90. **Result:** Of the 150 cases of developmental OCs, KO (49.3%, 74) and DC (39.3%, 59) were the most frequent ($p = 0.001$). The average age found was 32 years old, with no predilection for sex and the most frequent site was the posterior mandible, with KO, COC and GOC showing the largest sizes. The studied proteins CD44 and CD90 showed positivity both in the epithelial component and in the capsule. Immunoexpression of CD44 showed a similar pattern in the epithelium and capsule, where KO was more positive, followed by DC, and GOC ($p = 0.000$). For CD90, the epithelial component showed no statistically significant difference, but for the capsule, KO also showed the highest scores, followed by COC and DC ($p = 0.000$). By separating the lesions into aggressive and indolent ones, the CD44 showed greater positivity for aggressive lesions in the epithelium ($p = 0.007$) and in the capsule there was a tendency towards aggressive lesions, but without statistical difference. The CD90, again, showed no statistical difference in the epithelium, but the capsule showed superior expression for aggressive cysts ($p = 0.006$). **Conclusion:** The immunopositivity of CD44 and CD90 indicates that multipotent CTs can participate in histogenesis and pathogenesis, in addition to possibly influencing the biological behavior of this group of lesions.

Keywords: odontogenic cysts, stem cells, CD44, CD90.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Cistos odontogênicos do desenvolvimento	18
2.1.1 Cisto Dentífero (CD):.....	19
2.1.2 Queratocisto odontogênico (QO).....	20
2.1.3 Cisto Gengival do Adulto (CGA), Cisto Periodontal Lateral (CPL) e Cisto Odontogênico Botrioide (COB).....	21
2.1.4 Cisto Odontogênico Glandular (COG)	23
2.1.5 Cisto Odontogênico Calcificante (COC)	24
2.1.6 Cisto Odontogênico Ortoqueratinizado (COO)	25
2.2 Células-Tronco Multipotentes.....	27
2.2.1 Célula-Tronco Epitelial (CTEp)	27
2.2.2 Célula-Tronco Mesenquimal (CTM)	30
2.3 Marcadores de Células-Tronco Multipotente.....	32
2.3.1 CD44	32
2.3.2 CD90	33
3 OBJETIVOS	36
4 MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 Considerações Éticas.....	37
4.3 Variáveis do estudo.....	37
4.4 População.....	37
4.5 Amostra	37
4.6 Análise Clínica.....	37
4.7 Estudo Imunoistoquímico	38
4.7.1 Técnica da imunoistoquímica.....	38
4.7.2 Análise imunoistoquímica	39
4.8 Análise estatística.....	40
5 RESULTADOS	41
6 DISCUSSÃO	52
7 CONCLUSÃO	58
8 REFERÊNCIAS	59
ANEXO A	76

1 INTRODUÇÃO

Os cistos odontogênicos (COs) constituem as lesões mais frequentes que acometem o complexo maxilo-mandibular e podem ser classificados como COs do desenvolvimento e inflamatórios. São definidos como cavidades patológicas preenchidas com material líquido, semi-líquido ou gasoso, revestidas por epitélio odontogênico e cápsula de tecido conjuntivo (NUÑEZ-URRUTIA et al., 2010). Possuem etiologia intimamente relacionada a anormalidades durante o desenvolvimento do germe dental (KHALIFA et al., 2010; BILODEAU E COLLINS, 2016), quando remanescentes epiteliais da odontogênese, aprisionados no osso ou tecido gengival, são induzidos a proliferar e participar da formação dessas lesões (MOSQUEDA-TAYLOR et al., 2002; NUÑEZ-URRUTIA et al., 2010). Estes resíduos embriogênicos são ricos em células-tronco multipotentes, as quais, a depender do seu potencial de diferenciação, podem ter importante papel na patogênese, estabilização e progressão destas lesões (MAMABOLO et al. 2011).

Os remanescentes da odontogênese possuem natureza epitelial ou ectomesenquimal, e contém células com capacidade proliferativa e adaptativa. Acredita-se que, a partir de interações entre eles e com o microambiente, estes remanescentes podem vir a proliferar e gerar uma gama de lesões com comportamentos biológicos distintos (KUMAR et al., 2016). Os remanescentes epiteliais, tais com os restos da lâmina dentária, do órgão do esmalte e os restos epiteliais de Malassez, podem gerar cistos odontogênicos com variações morfológicas, o que reflete a multipotencialidade do epitélio odontogênico (MENDITTI et al., 2009; MOSQUEDA-TAYLOR et al., 2008). Porém o princípio que induz o surgimento e desenvolvimento dos COs do desenvolvimento não está completamente compreendido.

Os CO do desenvolvimento são lesões intra-ósseas, de crescimento lento, habitualmente assintomáticos, relacionados a reabsorção e por vezes expansão óssea (NUÑEZ-URRUTIA et al., 2010), muitas vezes detectados em radiografias de rotina (JOHNSON et al., 2013; RAITZ et al., 2009). No grupo destas lesões, o cisto dentífero (CD), cisto gengival do adulto (CGA), cisto periodontal lateral (CPL), cisto odontogênico botrióide (COB), cisto odontogênico calcificante (COC) e o cisto odontogênico ortoqueratinizado (COO), normalmente possuem comportamento biológico não agressivo, com rara taxa de recorrência (CHRCANOVIC e GOMEZ, 2017; SWETHA et al., 2014; CHI et al., 2005). Em contrapartida, o queratocisto odontogênico (QO) e o cisto odontogênico glandular (COG) podem estar associados a um comportamento agressivo, exibindo tendência a recorrência após o tratamento (BULUT et al., 2016; MOHAJERANI et al., 2015; BANDE et al., 2010).

O distinto comportamento biológico evidenciado dentre os COs do desenvolvimento, reforça a necessidade de estudos acerca dos eventos biológicos que estão envolvidos em sua patogênese e evolução. Sabe-se que os resíduos embriogênicos da odontogênese, repletos de células-tronco multipotentes, estão intimamente relacionados à histogênese e patogênese dessas lesões (KITAJIMA et al., 2018). A atuação destas células-tronco em diversas lesões odontogênicas não é clara, principalmente nas lesões de origem epitelial, às quais possuem um amplo espectro de comportamento.

As células-tronco multipotentes possuem habilidade de auto-renovação e diferenciação em múltiplas linhagens celulares (CHANG et al., 2013). Além de que, são células residentes permanentes nos tecidos e mantêm a capacidade de proliferar ao longo da vida, garantindo a homeostase e reparo, sendo chamadas de “células-tronco adultas” (HARADA et al., 2002). Esta população de células com fenótipo indiferenciado está presente nos restos epiteliais e ectomesenquimais da odontogênese (KITAJIMA et al., 2018), com capacidade para renovação constante e interação com o microambiente em que se encontra. Quando presentes em tecido epitelial são denominadas de células-tronco epiteliais (CTEps) e, quando em tecido conjuntivo, de células-tronco mesenquimais (CTMs). Cada uma dessas células será capaz de originar tipos celulares compatíveis com a sua linhagem.

Estudos prévios comprovaram a presença de CTEps em uma série de tumores odontogênicos (MONROY et al., 2018; SILVA et al., 2016; HARADA et al., 2002), que possuem a mesma origem dos COs. As CTMs estão presentes nos COs inflamatórios e participam da regeneração dos tecidos e homeostase, através do fornecimento de novas células, como também estão potencialmente envolvidas na regulação do sistema imunológico (MARRELLI et al., 2018). Entretanto, não existem trabalhos que investigam sua presença e função nos COs do desenvolvimento.

Portanto um perfil de marcadores para a caracterização das células-tronco vem sendo instituído, e diferem quanto a presença de CTEps e CTMs. Para os COs do desenvolvimento, existe a presença dos dois componentes teciduais na sua histogênese, epitélio de recobrimento e cápsula conjutiva. A completa análise da presença das células-tronco se dá pela marcação de um perfil de proteínas tanto para epitélio (CTEps), quanto para cápsula (CTMs). E ganha-se destaque a glicoproteína CD44 – marcador de células-tronco multipotentes somáticas (CTEps e CTMs) (MONROY et al., 2018) e o marcador de superfície CD90 – relacionado ao estado indiferenciado das células-tronco multipotentes, sejam elas CTEps e/ou CTMs. (BRADLEY et al., 2009).

Neste contexto, considerando o possível papel do componente epitelial e ectomesenquimal odontogênico na patogênese e progressão dos COs do desenvolvimento, é possível que as CTEps e as CTMs tenham participação importante no comportamento biológico dos cistos que exibem agressividade. Assim, faz-se necessária a investigação da participação das CTEps e CTMs na histogênese e patogênese destas patologias, bem como a correlação da presença dessas células com o comportamento biológico distinto dos COs do desenvolvimento. Dessa forma, o presente estudo se propôs investigar a imunexpressão das células-tronco epiteliais e mesenquimais nos COs do desenvolvimento e sua possível participação na histogênese, patogênese e agressividade destas lesões.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cistos odontogênicos do desenvolvimento

A odontogênese constitui o processo de formação do órgão dental, em que cada tecido envolvido, seja ele epitelial ou ectomesenquimal, é rico em células-tronco multipotentes. Nesse contexto, remanescentes epiteliais da lâmina dental (restos epiteliais de Serres) e/ou restos epiteliais de Malassez (resultante da fragmentação da Bainha epitelial de Hertwig), podem ficar aprisionados nos maxilares dando origem a uma série de patologias, como os cistos odontogênicos (COs) (MENDITTI et al., 2009; MOSQUEDA-TAYLOR et al., 2008). Estes resíduos embriogênicos geram diferentes tipos de COs, que se organizam, a partir de sua origem, em dois grupos: COs do desenvolvimento e COs inflamatórios (NUÑEZ-URRUTIA et al., 2010).

A primeira descrição destas patologias encontra-se por volta de 1600, e volta a ser referido na “idade de ouro da odontologia” (1835-1860). Neste período, o conhecimento de algumas características clínicas advindas de uma série de pesquisas permitiu a caracterização dos cistos (BOUQUOT E LENSE, 1994). Porém, somente em 1958 a Organização Mundial de Saúde (OMS) assume a necessidade de uma nomenclatura universal. Para isso reúne dois pesquisadores influentes, Jens Pindborg e Ivor Kramer, para revisar casos de lesões originadas de remanescentes da odontogênese, a fim de estabelecer uma classificação dos cistos e tumores odontogênicos dos maxilares. Finalmente em 1971, a OMS divulga a primeira edição da classificação dos cistos e tumores odontogênicos (CASTRO-NÚÑES, 2015).

Desde então, a OMS revisa as lesões odontogênicas periodicamente e publica atualizações desta classificação. A mais recente foi publicada em 2017 e traz alterações discutíveis desde a anterior (2005). Mudanças que envolvem especialmente o tumor odontogênico queratocístico para queratocisto odontogênico, e tumor odontogênico cístico calcificante para cisto odontogênico calcificante. O comitê concluiu que as evidências científicas acumuladas ao longo dos anos não são suficientes para considerar essas lesões como neoplasias e por isso devem ser tratadas como cistos, até que surjam novas evidências para uma reclassificação (SPEIGHT et al., 2017).

As lesões císticas são caracterizadas por conter uma cavidade preenchida por material líquido, semi-líquido ou gasoso, revestida por epitélio odontogênico e cápsula conjuntiva (NUÑEZ-URRUTIA et al., 2010). Constituem-se como lesões intra-ósseas encontradas geralmente em exame radiográfico de rotina (KHALIFA et al., 2010; RAITZ et al., 2009), e que

compartilham diversas características clínicas, radiográficas e histológicas. Porém, exibem comportamento biológico variável, o que torna necessário o conhecimento de suas características clinopatológicas para realização de diagnóstico diferencial com as demais lesões que acometem a cavidade oral e ainda conhecimento de suas características moleculares a fim de entender sua evolução e tratamento mais adequado (JAAFARI-ASHKAVANDI et al., 2019).

2.1.1 Cisto Dentígero (CD):

O cisto dentígero (CD) é o CO do desenvolvimento mais comum, correspondendo a 24% dos cistos que acometem os maxilares (SWETHA et al., 2014). Consiste em uma patologia de crescimento lento que envolve a coroa de um dente impactado ou parcialmente irrompido, conectado pela porção cervical do dente (junção cimento-esmalte) (THOMPSON et al., 2018; BILODEAU et al., 2016; SWETHA et al., 2014). Localiza-se preferencialmente na mandíbula (região de terceiros molares), e quando em maxila encontra-se comumente na região de caninos (THOMPSON et al., 2018; BILODEAU et al., 2016).

Os CDs crescem lentamente e podem exibir grandes tamanhos, deslocar dentes e reabsorver raízes. Caracterizam-se por apresentar uma imagem radiolúcida unilocular, associada a um dente impactado ou parcialmente irrompido, bem circunscrita, com borda esclerótica bem definida (THOMPSON et al., 2018; BILODEAU et al., 2016). Seu tratamento consiste na enucleação cística, e para lesões maiores pode-se realizar a marsupialização antes da enucleação (THOMPSON et al., 2018). Apresenta comportamento indolente, com rara recorrência após remoção cirúrgica (SWETHA et al., 2014).

O desenvolvimento do CD é incerto, a lesão cística pode ser causada pelo acúmulo de fluido entre o epitélio reduzido do esmalte e a coroa dental (SPEIGHT et al., 2017 – WHO) ou entre as camadas do epitélio reduzido do esmalte (CHATTERJEE et al., 2012; KRAMER et al., 1992). Alguns autores sugerem a origem inflamatória de alguns casos, principalmente quando existe envolvimento pulpar do dente decíduo, a qual proporcionará um microambiente inflamatório crônico ao redor do folículo do dente permanente, estimulando a formação do CD (NARANG et al., 2012; SHETTY e DIXIT, 2010).

Existe uma série de patologias que mimetizam o CD em seu aspecto radiográfico, sendo necessária a análise histopatológica, bem como as características clínicas para se fechar o diagnóstico. O queratocisto odontogênico, ameloblastoma unicístico, tumor odontogênico adenomatoide (TOA), podem apresentar-se como uma área radiolúcida circundada por uma

cortical radiopaca bem definida e com envolvimento de um dente incluso. As diferenças se baseiam no aspecto histológico e clínico, uma vez que o CD e TOA são lesões indolentes, ao contrário das supracitadas, que apresentam comumente comportamento biológico agressivo. Cabe também a diferenciação a partir do histológico com o próprio folículo dental, uma vez que o CD se diferencia no radiográfico apenas pelo tamanho do espaço pericoronário (BILODEAU E COLLINS, 2016).

Quanto ao aspecto histopatológico o CD consiste em uma cápsula fibrosa não inflamada, com aparência frouxamente arranjada, recoberta com um epitélio regular delgado não queratinizado, contendo de 2 a 4 camadas de células (SPEIGHT et al., 2017). Quando na presença de infiltrado crônico, o CD apresentará características semelhantes ao cisto radicular, ou seja, epitélio pavimentoso estratificado, por vezes hiperplásico (THOMPSON, 2017). Podem também apresentar células mucosas, ciliadas e sebáceas, o que representa a natureza multipotente do epitélio odontogênico (BILODEAU E COLLINS, 2016).

2.1.2 Queratocisto odontogênico (QO)

O Queratocisto odontogênico (QO) consiste em uma lesão controversa na literatura, inicialmente considerado como CO do desenvolvimento. Porém, na classificação dos tumores odontogênicos da OMS em 2005, foi reclassificado como tumor odontogênico benigno de origem epitelial, sendo nomeado tumor odontogênico queratocístico (TOQ) (BARNES et al., 2005). No entanto, a classificação sofre alterações em 2017, e o TOQ volta para a ser classificado como CO e denominado de QO (SPEIGHT et al., 2017). Essa transição afeta sua frequência, uma vez que há uma variação na literatura quanto a sua classificação, se cisto ou tumor. Quando classificado como cisto, entre os anos de 1981-2004, sua frequência varia de 11.7% -19.1%, e ocupa o 3º lugar na distribuição dos COs (JOHNSON et al., 2013; GAITÁN-CEPEDA et al., 2010; OCHSENIUS et al., 2007). Quando tumor mostrou alta frequência de 36.6%, sendo o 2º mais prevalente (JOHNSON et al., 2013).

Trata-se de uma patologia de origem odontogênica comum, e sua etiologia está associada aos remanescentes da lâmina dentária. É uma lesão intra-óssea, geralmente assintomática, que cresce por infiltração dos tecidos circundantes, podendo exibir grandes tamanhos (BANDE et al., 2010). Os tratamentos instituídos consistem em enucleação com a presença ou não de osteotomia periférica, utilização de solução de Carnoy (ou crioterapia), marsupialização ou ressecção cirúrgica (BILODEAU et al., 2015). As taxas de recorrência após tratamento são altas, aproximadamente 30%-50% (TITINCHI e NORTJE, 2012).

Radiograficamente, apresenta-se como área radiolúcida uni ou multilocular, exibindo ou não borda esclerótica. O local de maior ocorrência é a mandíbula, em regiões de ângulo e ramo. As lesões podem apresentar maiores diâmetros, com propensão ao crescimento antero-posterior, sem expansão das corticais vestibulo-linguais, com pouco ou nenhum sinal clínico evidente (BILODEAU et al., 2015).

Suas características radiográficas e clínicas podem mimetizar uma série de lesões com variáveis comportamentos biológicos. Quando em associação a dentes impactados, seu diagnóstico diferencial se dá pelo CD, o qual também constitui um cisto odontogênico, porém apresenta comportamento clínico indolente quando comparado ao QO (BILODEAU et al., 2015). O envolvimento de múltiplos QOs está diretamente relacionado à síndrome do carcinoma nevíde de células basais ou síndrome de Gorlin (BRESLER et al., 2016). Caracteriza-se por conter alterações genéticas em gene dominante de um cromossomo autossomal (PTCH), a qual predispõe a formação de carcinomas de células basais, bem com múltiplos QOs, e anormalidades na formação óssea (HASEGAWA et al., 2017).

O QO se caracteriza por apresentar epitélio estratificado escamoso paraqueratinizado, o qual exhibe aproximadamente de 6 a 10 camadas de células. A camada de células basais se organiza em paliçada e hiper cromática, e a camada superficial apresenta queratina corrugada proeminente (BILODEAU et al., 2015). Acredita-se que seu distinto comportamento biológico está intimamente relacionado ao epitélio de revestimento cístico, o qual apresenta papel importante na sua patogênese (TSUNEKI et al., 2008). Outras características que influenciam o potencial de recorrência da lesão são a presença de cistos satélites (cistos filhos) ou ilhotas epiteliais no interior da capsula cística, o desprendimento do epitélio da cápsula (achado frequente) e figuras de mitose típicas localizadas (BILODEAU et al., 2015; POGREL, 2013).

2.1.3 Cisto Gengival do Adulto (CGA), Cisto Periodontal Lateral (CPL) e Cisto Odontogênico Botrióide (COB)

O cisto gengival do Adulto (CGA), cisto periodontal lateral (CPL) e o cisto odontogênico botrióide (COB) são cistos odontogênicos raros, considerados variantes de uma mesma entidade, que compartilham algumas características clínicas e histopatológicas (CHRCANOVIC e GOMEZ, 2017). O CGA ocorre em menos de 0.5% e os CPL/COB em menos de 1% dos casos de COs do desenvolvimento (SPEIGHT et al., 2017). O CGA apresenta-se clinicamente como pequeno aumento de volume, assintomático e azulado na gengiva ou papilas interdentais. O CPL se desenvolve lateralmente a uma raiz de um dente vital (WYSOCKI et al., 1980), sendo

reconhecida como a parte intraóssea do CGA, e o COB é considerado a variante multilocular do CPL (SPEIGHT et al., 2017).

São cistos derivados dos remanescentes da odontogênese, como lâmina dental, epitélio reduzido do esmalte ou restos epiteliais de Malassez. Ocorrem preferencialmente na mandíbula e em região de pré-molar (SHEAR e SPEIGHT, 2007). O CGA não apresenta imagem radiográfica, uma vez que está contido em gengiva, entretanto pode apresentar erosão da cortical óssea adjacente a lesão. O CPL apresenta-se radiograficamente como uma imagem radiolúcida unilocular, bem definida, lateralmente a raiz de um dente vital. Por sua vez, o COB exibe aspecto multilocular e atinge maiores proporções (SPEIGHT et al., 2017; BILODEAU et al., 2015).

O histopatológico entre as lesões se assemelha, portanto, o diagnóstico só pode ser concluído após o conjunto de todas as informações clínicas, radiográficas e histopatológicas (CHRCANOVIC e GOMEZ, 2017). Constituem-se como cavidades císticas revestidas por epitélio escamoso não queratinizado, que pode variar de 3 a 8 camadas, com áreas de espessamento nodulares e camada superficial apresentando células cuboidais (BILODEAU et al., 2015). O epitélio de revestimento cístico ainda pode apresentar acúmulo de células claras, pelo acúmulo de glicogênio em seu citoplasma. A cápsula é composta por tecido conjuntivo não inflamado e pode apresentar banda hialinizada logo abaixo do epitélio. Microscopicamente, o COB difere dos demais pela presença de múltiplas cavidades císticas (SPEIGHT et al., 2017).

Por constituírem lesões indolentes a enucleação cística é o tratamento instituído, o qual apresenta baixas taxas de recorrência (BILODEAU et al., 2015). Entretanto, o curto tempo de acompanhamento, apresenta-se como uma limitação do conhecimento e avaliação das suas recorrências. Dentre as três lesões, o COB é o que apresenta um comportamento biológico mais agressivo (CHRCANOVIC E GOMEZ, 2017). Chrcanovic e Gomez (2017) chamam a atenção que a apresentação microscópica como múltiplos císticos pode não apresentar o aspecto multicístico na radiografia, e que esta apresentação mostra diferenças na idade e sexo dos pacientes, localização e tamanho das lesões, além da taxa de recorrência. Os autores ainda concluem que a partir de uma revisão sistemática da literatura, apesar das limitações dos estudos publicados, o COB mostra uma clara e relativamente alta recorrência, de 21.7%, que é similar às encontradas para COG e QO.

Por não possuírem características clínicas e radiográficas específicas, o diagnóstico diferencial entre eles e as demais lesões odontogênicas é necessário. O CPL, por se localizar lateralmente a raízes de dentes irrompidos, cabe o diagnóstico diferencial com o cisto radicular pela infecção de canais acessórios laterais. Pelos aspectos histopatológicos e pelo comportamento clínico distinto e por vezes agressivo do COB, o COG seria o principal

diagnostico diferencial. Além de que, podem mimetizar outros cistos e tumores odontogênicos, como o QO e o ameloblastoma (BILODEAU et al., 2015).

2.1.4 Cisto Odontogênico Glandular (COG)

O cisto odontogênico glandular (COG) é uma rara apresentação dos COs, compreendendo de 0.012% a 1.3% dos casos descritos (KRISHNAMURTHY et al., 2009). Foi inicialmente descrito por Padayachee e Van Wyk, em 1987, e recebeu o nome de 'Cisto Sialo-Odontogênico'. E em 1988, Gardner sugere o nome de 'Cisto Odontogênico Glandular' (PUROHIT et al., 2014). Sua etiologia não é clara e se relaciona com os remanescentes da lâmina dental (SPEIGHT et al., 2017). Possui características clínicas inespecíficas, se destacando pelo seu potencial de agressividade e altas taxas de recorrência (20% a 30%) (BULUT et al., 2016; FOWLER et al., 2011).

Apresenta-se de forma mais frequente como aumento de volume indolor, preferencialmente na mandíbula quando comparado à maxila, com predileção a região anterior (SPEIGHT et al., 2017; MANOR et al., 2003). Radiograficamente exhibe imagem radiolúcida uni ou multilocular bem definida, com bordas escleróticas. Mostram-se como lesões agressivas, que podem vir a perfurar a cortical, além de estar associado a dissociação, e reabsorção de raízes (NOFFKE e RAUBENHEIMER, 2002; GARDNER et al., 1988). E o seu tratamento inclui enucleação e curetagem (BILODEAU et al., 2015). Por conta da agressividade pode ser instituída ressecção cirúrgica (KAPLAN et al., 2005).

O revestimento epitelial cístico evidencia a grande diversidade morfológica associada ao epitélio odontogênico. A confirmação do diagnóstico de COG deve conter de 7 a 10 critérios específicos: (1) revestimento epitelial delgado, com 2-3 camadas de células escamosas ou cuboídes, que por vezes exhibe aumento do número de camadas, uma estratificação mais evidente; (2) as células da camada superficial do lúmen apresentam-se cuboide para colunares, algumas vezes com citoplasma eosinofílico, com aspecto *hobnail*; (3) microcistos intraepiteliais; (4) metaplasia apócrina das células luminais; (5) células claras na camada basal e parabasal; (6) projeções papilares para o lúmen; (7) células mucosas; (8) espessamentos epiteliais; (9) cílios; (10) múltiplas cavidades císticas (SPEIGHT et al., 2017).

A sua diversidade morfológica epitelial pode favorecer a mimetização de uma série de lesões odontogênicas e não odontogênicas, possuindo diagnóstico diferencial com CD, CPL, COB e carcinoma mucoepidermoide central de baixo grau. A possibilidade de o COG compartilhar aspectos clinicopatológicos com outras lesões, está relacionada a multipotencialidade inerente as células que compõem o epitélio odontogênico que está envolvido diretamente em sua patogênese.

2.1.5 Cisto Odontogênico Calcificante (COC)

O cisto odontogênico calcificante (COC) é considerado uma lesão incomum, que representa 4.3% - 4.8% dos cistos e tumores odontogênicos (MOHAJERANI et al., 2015; HABIBI et al., 2011). Desde sua primeira descrição por Gorlin et al. (1962), entende-se de que se trata de uma lesão que apresenta duas entidades heterogêneas básicas: uma com crescimento cístico, e outra correspondendo a um tumor sólido (HABIBI et al., 2011; BATRA et al., 2009). Portanto, semelhante ao QO, tem sido alvo de alguns estudos em função de seu comportamento clínico variável, o que resultou em mudanças na última classificação da OMS (SPEIGHT et al., 2017).

Ao longo dos anos, diversas classificações foram propostas por diferentes autores com o objetivo de identificar a natureza, diferente histomorfologia e características clinicopatológicas deste grupo de lesões, as quais, são ricas em células fantasmas. Em 2005, foi definido que o grupo inicial de lesões deveria ser dividido em entidades distintas. Primeiro, o tumor odontogênico cístico calcificante (TOCC), definido como neoplasia cística benigna de origem odontogênica, caracterizada por epitélio de revestimento cístico de aspecto ameloblastomatoso, com células fantasmas, que por vezes podem exibir calcificação (PRÆTORIUS e LEDESMA-MONTES, 2005). E a variante sólida passa a ser nomeada de tumor dentinogênico de células fantasmas, o qual foi definido como neoplasma localmente invasivo caracterizado por ilhas ameloblastomatosas em um estroma de tecido conjuntivo maduro, associado à aberrante queratinização, células fantasmas, com variável material dentinoide (PRÆTORIUS e LEDESMA-MONTES, 2005a). E a sua variante maligna, passa a ser nomeada como carcinoma odontogênico de células fantasmas (TAKATA e LU, 2005). Então a partir da classificação da OMS de 2005, as variantes das lesões que possuem células fantasmas são estabelecidas e reconhecidas como entidades únicas e neoplásicas, fato que foi revisto em 2017, onde uma delas, o TOCC, passa a ser classificado como cisto e novamente denominado de COC, por não possuírem evidências que afirmem seu potencial proliferativo.

A sua apresentação clínica difere dos demais COs por exibir como sítio de localização preferencial a região anterior de maxila ou mandíbula. Está associado a um crescimento lento e indolor, sendo diagnosticados em radiografias de rotina (HABIBI et al., 2011; BUCHNER, 1991). O tratamento instituído é a enucleação (BILODEAU et al., 2015), curetagem ou marsupialização (RAWSON et al., 2015) e está associado a uma variável taxa de recorrência de 3% (BILODEAU et al., 2015; HABIBI et al., 2011) a 5.3% (LEDESMA-MONTES et al., 2008; BUCHNER, 1991). Radiograficamente define-se como uma área radiolúcida bem definida,

usualmente unilocular com bordas escleróticas. A dissociação e reabsorção radicular são achados comuns e mais da metade dos casos apresentam tecido calcificado ou estão associados a odontomas. Lesões extraósseas podem apresentar tumefação, associado a dor ou sensibilidade (SPEIGHT et al., 2017). O diagnóstico diferencial se faz com o ameloblastoma, devido a semelhanças no revestimento epitelial; com o COG pela localização; CD quando em associação a um dente não irrompido; e na presença de material calcificado, as possibilidades são o TOA, fibroma ossificante e odontoma. (LEDESMA-MONTES et al., 2008; DANIELS, 2004).

O COC constitui-se como um CO do desenvolvimento e, portanto, sua etiologia está relacionada ao epitélio da lâmina dental. O epitélio de revestimento cístico traduz a multipotencialidade inerente ao epitélio odontogênico, apresentando características variáveis. Em algumas áreas exibe-se delgado com poucas camadas, ou pode mostrar estratificação com células escamosas. Entretanto, a chave para o diagnóstico é a presença de uma camada basal bem definida, em paliçada de células colunares, e as camadas superiores com aspecto que lembra o retículo estrelado do órgão do esmalte, com acúmulo focal de células fantasmas, as quais podem vir calcificar (SPEIGHT et al., 2017). Muitas lesões podem apresentar projeções luminais de células fantasmas, proliferações epiteliais ameloblastomatosas, pequenos cistos satélites, ilhas epiteliais e células fantasmas presentes em cápsula cística, além de variável material dentinóide presente em epitélio e logo abaixo dele (HONG et al., 1991).

Frequentemente, mostram-se relacionados a outras lesões odontogênicas, sendo a associação com o odontoma, a mais prevalente, seguida pelo fibroma ameloblástico, CD, TOA, ameloblastoma, fibro-odontoma ameloblástico, QO e COO (ARRUDA et al., 2018). Estas possibilidades podem ser relacionadas à multipotencialidade inerente aos remanescentes epiteliais da odontogênese, que estão intimamente relacionados à patogênese, progressão e evolução das lesões.

2.1.6 Cisto Odontogênico Ortoqueratinizado (COO)

O cisto odontogênico ortoqueratinizado (COO) origina-se dos remanescentes da lâmina dental e se caracteriza por ser uma cavidade cística revestida predominantemente por epitélio escamoso estratificado ortoqueratinizado. Sua verdadeira prevalência é incerta, entretanto sabe-se que se trata de uma entidade rara. Dentre os COs queratinizados, os COOs obtêm 10% dos casos (WRIGHT, 1981) e provavelmente, ocorre em 1% de todos os COs (SPEIGHT et al., 2017; BILODEAU et al., 2015). O tratamento consiste em enucleação cística ou

curetagem, pois trata-se de uma lesão com comportamento indolente, com taxa de recorrência <2% dos casos (PEREIRA et al., 2012; CHI et al., 2005).

Os COOs localizam-se frequentemente em região posterior de mandíbula, onde representa um aumento de volume indolor, que muitas vezes é encontrado de forma acidental em radiografias de rotina (SPEIGHT et al., 2017). Radiograficamente, apresenta imagem radiolúcida unilocular ou multilocular, que pode conter bordas corticalizadas ou escleróticas, e, comumente, está associado a um dente não irrompido (DONG et al., 2010). Podem apresentar-se como lesões múltiplas, porém não existem evidências de associação a síndromes (BILODEAU et al., 2015; CHI et al., 2005) O diagnóstico diferencial se faz com o CD, quando em associação a dentes não irrompidos, além do QO, seu principal diagnóstico diferencial (DONG et al., 2010).

Com relação ao histopatológico, o COO apresenta fina cápsula de tecido conjuntivo não inflamado, com revestimento de epitélio estratificado ortoqueratinizado regular, apresentando de 5-8 camadas de células, além de camada de células granulares proeminente (SPEIGHT et al., 2017). A camada queratinizada difere do QO por não conter núcleos celulares aprisionados, e não ser corrugada (característica marcante no QO), porém se assemelha por ser espessa e lamelar. As células basais são planas ou cuboides e não se mostram organizadas em paliçada ou com núcleos hipercromáticos (WRIGHT, 1981).

A etiologia associada aos COs do desenvolvimento de uma forma geral, está relacionada aos remanescentes da odontogênese, os quais possuem natureza epitelial ou ectomesenquimal e contém células com capacidade proliferativa e adaptativa. Acredita-se que, a partir de interações entre si e com o microambiente, estes remanescentes podem vir a proliferar e gerar uma gama de lesões com comportamentos biológicos extremamente distintos (KUMAR et al., 2016). Os remanescentes epiteliais, tais como restos da lâmina dentária, do órgão do esmalte e os restos epiteliais de Malassez, repletos de células-tronco multipotentes, podem gerar cistos odontogênicos com variações morfológicas, o que reflete a multipotencialidade do epitélio odontogênico (MENDITTI et al., 2009; MOSQUEDA-TAYLOR et al., 2008). A atuação destas células-tronco em diversas lesões odontogênicas não é clara, principalmente nas lesões de origem epitelial, às quais possuem um amplo espectro de comportamento.

2.2 Células-Tronco Multipotentes

As células-tronco (CT) são amplamente estudadas no âmbito da medicina e odontologia regenerativa, uma vez que possuem importante papel na regeneração e reparo tecidual, bem como na regulação dos processos imunes locais. Existem uma gama de populações de células com fenótipo tipo tronco, como as células-tronco embrionárias (CTE), que se dividem em células-tronco totipotentes e pluripotentes, e as células-tronco adultas ou multipotentes (CTA), que se dividem em células-tronco hematopoiéticas (CTH), células-tronco mesenquimais (CTM), e células-tronco epiteliais (CTEp), às quais se distinguem pelo grau de indiferenciação (FUCHS e SEGRE, 2000).

As CTE constituem-se como uma população de células derivadas do embrião em estágio inicial do desenvolvimento embrionário. As células-tronco totipotentes, são derivadas do estágio de mórula e são capazes de desenvolver qualquer tipo de célula, dos folhetos extraembrionários e embrionários. Já as células-tronco pluripotentes, se originam na fase de blástula, as quais dão origem a qualquer célula do embrião, exceto aos tecidos extraembrionários. À medida que o embrião ganha forma as células diminuem seu estado de indiferenciação e dão origem a CTAs, que possuem a capacidade de diferenciação em múltiplas linhagens celulares, ou seja, multipotentes, e irão residir em determinados tecidos durante a vida adulta do indivíduo, garantindo a homeostase tecidual (FUCHS e SEGRE, 2000).

As células-tronco multipotentes constituem uma população celular que está presente nos tecidos lábeis, e permitem a manutenção do mesmo. Por definição, uma CTA se caracteriza por possuir a capacidade de ficar em estado quiescente e de proliferar por toda a vida celular. Nesse sentido, a CTA possui a habilidade de auto-renovação, ou seja, uma CT mãe originará duas CT filhas, com o mesmo fenótipo da mãe, caracterizando uma divisão celular simétrica. Entretanto, as CT também devem possuir a capacidade de diferenciação em múltiplas linhagens celulares, ou seja, uma CT mãe originará uma CT filha com o mesmo fenótipo tronco, e outra em um estado mais avançado de diferenciação, caracterizando uma divisão assimétrica (CHANG et al., 2013; HARADA et al., 2002).

2.2.1 Célula-Tronco Epitelial (CTEp)

As células-tronco epiteliais possuem potencial proliferativo, capacidade de auto-renovação, habilidade de organizar nichos, além de exibirem alto grau de regulação tecidual, que resulta em tecidos com marcante hierarquização tecidual. São células residentes do tecido

epitelial, que em sua estratificação em camadas, se distinguem pelo seu nível de diferenciação (KARPUS et al., 2019; TUMBAR et al., 2004). A camada basal do epitélio contém às células-tronco somática, e nas camadas seguintes (supra-basal e espinhosa), possuem grau intermediário de diferenciação, as quais seguem para a total diferenciação nos níveis superficiais do epitélio (FUCHS e RAGHAVAN, 2002).

São células responsáveis pela manutenção e homeostase dos tecidos epiteliais, que por se tratarem de tecidos altamente lábeis, necessitam estar em constante divisão para reposição das células que foram perdidas (COSTEA et al., 2006). O processo de divisão celular ocorre de forma assimétrica, pois resultará em nova população de célula-tronco adulta, que se mantém indiferenciada, e em uma população com estágio de diferenciação intermediário, as quais terminam sua diferenciação após estarem de forma permanente no ciclo celular. Entretanto, as CTEps, que não entraram em divisão, formam nichos onde são expostas de forma mínima a uma variedade de fatores extrínsecos, mas mantém o seu material genético (DNA) “protegido” (MORRISON et al., 1997).

Portanto, o ciclo de vida celular irá se caracterizar por ciclos de divisão e quiescência, ou seja, quando recrutadas se dividem e se especializam, e quando alcançada a homeostase, estabilizam-se nos nichos e ficam quiescentes. Estado quiescente que, em se tratando de CT, pode durar por muitos anos (ROMPOLAS et al., 2013). Esta característica é inerente ao seu fenótipo, já descrito em glândula salivar (ZHANG et al., 2014) glândula sebácea (PARFITT et al., 2015), folículos pilosos (OH e KWON, 2010) e capilares sanguíneos (TUMBAR, 2004), onde seu ciclo vital lento e formação de agregados celulares, para manutenção da população de CT foi evidenciado.

As CTEps exibem multipotencialidade e comportamento distinto quando em diferentes microambientes. Observa-se que em CTEp transplantada, diretamente ou após cultura celular, elas exibem maior multipotência em seu novo microambiente, podendo adotar destinos diferentes dos detectados na sua origem, caracterizando a diversidade morfológica e molecular que cada epitélio é capaz de reproduzir na dependência de fatores estimuladores (BLANPAIN e FUCHS et al., 2014; FUCHS e SEGRE, 2000). Seu comportamento exige uma regulação eficiente de fatores epigenéticos, como metilação do DNA, modificações de histonas e microRNAs, cooperando com uma rede de sinalização que gerenciam o equilíbrio entre proliferação e diferenciação das CT progenitoras, e definem o destino das CTEps (BAPAT, 2013).

O estudo do comportamento e características das CTEps se iniciou através do estudo da epiderme, revestimento do intestino e epitélio do órgão do esmalte, pois este último possui crescimento contínuo em incisivos de ratos, e permite o conhecimento da regulação e proliferação celular (LI et al., 2019). As células-tronco pertencentes ao órgão do esmalte possuem a capacidade de originar quatro linhagens celulares: o epitélio interno do órgão do esmalte (linhagem celular dos ameloblastos), estrato intermediário, retículo estrelado e epitélio externo do órgão do esmalte. E este processo de diferenciação é determinado por interações entre fatores secretados ou proteínas transmembrana presentes no ambiente local celular, além de sinais intrínsecos operados pelas próprias células (HARADA et al., 2002). As CTEps compõem, portanto, os remanescentes da lâmina dentária (HARADA et al., 2002), dos restos epiteliais de Malassez (KITAJIMA et al., 2018) e do órgão do esmalte (ABDULLAH et al., 2019), sendo importantes para a sua manutenção, pois estão em constante divisão e renovação.

Por serem constituintes dos remanescentes da odontogênese, podem possuir relação com patologias de origem epitelial como os cistos e tumores odontogênicos. Uma série de estudos observaram a expressão de proteínas associadas às células-tronco epiteliais em tecidos fisiológicos, como o folículo dental e lâmina dental (BANERJEE et al., 2016; JUURI et al., 2013), tumores odontogênicos malignos, como o carcinoma ameloblástico (BANERJEE et al., 2016), tumores odontogênicos benignos, como o ameloblastoma (MONROY et al., 2018; BANDYOPADHYAY et al., 2017; BANERJEE et al., 2016; SILVA et al., 2016; HEIKINHEIMO et al., 2015; JUURI et al., 2013; HARADA et al., 2002) e o TOA (MONROY et al., 2018; BANERJEE et al., 2016) e com cistos odontogênicos, como o QO (YANG et al., 2019; MONROY et al., 2018; JAAFARI-ASHKAVANDI et al., 2018; BANDYOPADHYAY et al., 2017; HEIKINHEIMO et al., 2015), CD e o cisto radicular (BANERJEE et al., 2016).

A expressão de proteínas associadas às CTEps foi observada por Monroy et al. (2018), onde verificaram a presença de células com fenótipo tronco em epitélio, através do CD44 e Oct-4, marcadores também associados à progressão tumoral. Nesse mesmo ano, Jaafari-Ashkavandi et al. (2018) observaram a expressão de CDC7 (reguladora do ciclo celular) nos COs, encontrando alta expressão no epitélio do queratocisto odontogênico. E um ano antes, Bandyopadhyay et al., (2017) encontraram alta expressão de Sox2 em epitélio do queratocisto odontogênico. A literatura referente à participação de CTEps em lesões odontogênicas císticas é escassa e traz poucos marcadores para a sua caracterização. Os mais utilizados nos estudos, até o momento, foram o Oct-4, Sox2 e CD44 (JUURI et al. 2013; HEIKINHEIMO et al. 2015; BANERJEE et al. 2016; BANDYOPADHYAY et al. 2017).

Porém qualquer desenvolvimento tecidual, seja ele tumoral ou normal, necessita de uma série de interações entre as células, neoplásicas ou somáticas, e o microambiente onde as mesmas se encontram (NAIK et al., 2017). O mesmo acontece durante o desenvolvimento dental em que interações entre epitélio-mesênquima são essenciais para a formação tanto do esmalte quanto da dentina, como para regulação de uma variedade de processos intrínsecos do desenvolvimento tecidual odontogênico (TEN CATE, 2013). Além disso, o tecido mesenquimal regula avanços no crescimento e morfogênese epitelial durante, e após o desenvolvimento dentário (KOLLER et al., 1969). Partindo desde princípio, a iniciação do crescimento epitelial dos remanescentes da odontogênese irá estimular o tecido mesenquimal em que se encontra, e o mesmo responderá a favor ou contra o crescimento neoplásico ou cístico. Trazendo para o contexto das lesões epiteliais odontogênicas, o meio em que o componente epitelial irá proliferar para dar origem as lesões sólidas ou císticas, consiste em tecido ósseo, ligamento periodontal e tecido gengival, ou seja, tecidos mesenquimais que possuem dentre as suas células residentes, as células-tronco mesenquimais (CTMs).

2.2.2 Célula-Tronco Mesenquimal (CTM)

As CTMs possuem características semelhantes as CTEs, ou seja, caracterizam-se por ser uma população de células adultas multipotentes, às quais possuem potencial de diferenciação em múltiplas linhagens, alta taxa de proliferação e autorenovação, além da manutenção de seu estado indiferenciado (CHANG et al., 2013). Desde sua descoberta e caracterização, as CTMs gradualmente foram identificadas e isoladas de vários tecidos jovens e adultos, como medula óssea, tecido adiposo, tecido muscular, pulmão, tendão, membrana sinovial, cordão umbilical, líquido amniótico, placenta, pele, leite materno e tecidos dentários (BEARDEN et al., 2017; BRIERE et al., 2017; CHEN et al., 2017; YANG et al., 2017; GABRIELIAN et al., 2017; NAM et al., 2017; SARGIACOMO et al., 2017; YAN et al., 2017; KOBOLAK et al., 2016; LIN et al., 2011).

Segundo Dominici et al. (2006), a Sociedade Internacional para Terapia Celular, instituiu três critérios mínimos para a classificação como CTMs. Primeiro, as CTMs devem ter propensão à formação de microesferas quando mantidas em condições padronizadas de cultura de células. Segundo, expressões específicas de antígenos (Ag) em sua superfície, onde $\geq 95\%$ das populações devem expressar CD105, CD73 e CD90, e ainda devem ser negativas ($< 2\%$ positivas) para CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79a ou CD19 e HLA-DR, os quais são Ag expressos em células progenitoras hematopoiéticas. E terceiro, sua habilidade em se

diferenciar em osteoblastos, adipócitos e condroblastos in vitro. Estudos vêm revelando positividade das CTMs para outros marcadores, como CD 166, CD29, CD44 e STRO-1 (SEO et al., 2004; LIU et al., 2008; KOBOLAK et al., 2016).

Do ponto de vista embriológico, as CT dentárias e os odontoblastos, possuem origem das células derivadas da crista neural (MARRELI et al., 2015; ARAKAKI et al., 2012; THESLEFF e TUMMERS, 2009). As células da crista neural migram para o mesênquima do primeiro arco branquial, onde formam o ectomesênquima, o qual participará de forma ativa da odontogênese (DENAXA et al., 2009). Portanto, a população de CTMs que pertence às estruturas dentárias é extremamente heterogênea e possuem progenitores distintos (BAUDRY et al., 2015; MARRELI et al., 2015). Baudry et al. (2015), ainda demonstraram que as CT dentais possuíam e eram reguladas por proteínas semelhantes às encontradas em neurônios, além de terem a capacidade de sintetizar, armazenar e secretar neurotransmissores, fato que comprova que sua origem está intimamente ligada às células da crista neural e reafirmam a plasticidade inerente a este grupo celular.

Nos últimos anos, a identificação de células-tronco dentárias humanas vem sendo foco de pesquisas, por serem de fácil acesso e com alto potencial de diferenciação e autorenovação. Esta população de CTMs possuem características únicas e já foram identificadas em diferentes tecidos dentários, incluindo ligamento periodontal (SEO et al., 2004), polpa de dentes decíduos esfoliados (MIURA et al., 2003), polpa de dentes permanentes (GRONTHOS et al., 2000), papila apical (SONOYAMA et al., 2006), folículo dental (MORSCZEK et al., 2005) e tecido gengival (HUANG et al., 2009). Entretanto, sua maior disponibilidade ocorre em indivíduos jovens e sua coleta é mais acessível em extrações de terceiros molares não irrompidos (MARRELI et al., 2015). Portanto novas fontes de CTMs se tornam importantes.

Nesse sentido, a busca de novas fontes de CTMs avançou, bem como o conhecimento sobre sua presença em tecidos inflamados como ligamento periodontal e polpa, onde as CTMs demonstraram propriedades similares às encontradas nos tecidos saudáveis (ALONGI et al. 2010; PARK et al. 2011). Patologias inflamatórias também se constituíram como fontes de CTMs, como o cisto radicular, o qual consiste em um cisto odontogênico inflamatório, originado dos restos epiteliais de Malassez, onde as CTMs aparecem como participantes da patogênese, regulação do infiltrado inflamatório crônico presente, além do fornecimento de novas células para regeneração tecidual (ESTRELA et al., 2019; MARRELI et al., 2018; ESTRELA et al., 2017; PADUANO et al., 2016; CHREPA et al., 2015; ARAUJO-PIRES et al., 2014; MARRELI et al., 2013;

DOCKIC et al., 2012; LIAO et al., 2011). Entretanto, não existem trabalhos que investigam sua presença nos COs do desenvolvimento.

Dessa forma, um perfil de marcadores para a caracterização das células-tronco vem sendo instituído e eles diferem quanto à caracterização de CTEps e CTMs. Para os COs do desenvolvimento, existe a presença dos dois componentes teciduais na sua histogênese, epitélio cístico e cápsula conjuntiva, os quais constituem-se como possíveis fontes de CTAs, além de que, a presença destas populações celulares pode interferir direta ou indiretamente no comportamento biológico variado dos COs do desenvolvimento.

2.3 Marcadores de Células-Tronco Multipotente

2.3.1 CD44

O CD44 foi descrito pela primeira vez em 1983, como um receptor linfocitário (GALLATIN et al., 1983), em 1989 pôde ser clonado e identificado como receptor em células cartilagenosas (STAMENKOVIC et al., 1989; GOLDSTEIN et al., 1989). E em 1990, concluiu-se que representava um importante receptor de ácido-hialurônico (AH). Consiste, portanto, de uma glicoproteína transmembrana, que é codificada por um único gene (SCREATON et al., 1992), localizado no cromossomo 11p13 (YANG et al., 2017), e pode variar em tamanho por N-glicosilação e O-glicosilação (STAMENKOVIC et al., 1989; GOLDSTEIN et al., 1989), e pela inserção de diferentes terminações no domínio extracelular da molécula (SCREATON et al., 1992), o que resulta em um peso molecular de aproximadamente 85kDa (YANG et al., 2017). Possui sete (07) domínios extracelulares, um domínio transmembrana e um citoplasmático (IDZERDA et al., 1989).

Característica que garante grande heterogenicidade a família desta proteína, cuja isoforma menor, padrão e relacionada a hematopoiese - CD44s, não possui todas as variações de domínio extracelular, e é expressa na maioria das células dos seres vertebrados, incluindo leucócitos, células endoteliais, neurônios e fibroblastos (ACHARYA et al., 2008). Por outro lado, a isoforma CD44v, possui 10 variantes (v1 – v10), os quais, a partir de diferentes combinações, garantem a esta isoforma diferentes funções e estruturas variadas, sendo expresso em algumas células em condições específicas (ACHARYA et al., 2008; MATSUMURA e TARIN, 1992). E ao contrário do CD44s, o CD44v é expresso em células epiteliais, durante o desenvolvimento embrionário, maturação e ativação de linfócitos, além de alguns tipos de carcinomas (RUIZ et al., 1995).

Esta proteína participa de uma grande variedade de funções celulares, servindo como uma plataforma de sinalização que integra sinais do microambiente celular e traduz esses sinais para as proteínas do citoesqueleto associada à membrana ou ao núcleo. Ela é um receptor de ácido hialurônico e também pode interagir com outros ligantes, tais como osteopontina, colágeno, fatores de crescimento e as metaloproteinases da matriz (THAPA et al., 2016). Está envolvida nos processos de manutenção das propriedades de CTs multipotentes e constitui um importante marcador para CTs tumorais, para os mecanismos de histogênese, patogênese e comportamento biológico em tumores (SAWANT et al. 2016; KIDWAI et al., 2013). O mecanismo de regulação das CT pode ser descrito pela sua participação em vias de sinalização que permitem a manutenção do fenótipo relacionada às CT, pois, constitui um alvo para a via Wnt, além de que a sua associação ao AH permite a fosforilação e translocação nuclear do gene NANOG, vias essenciais para a caracterização, identidade e função das CT (ZOLLER, 2011).

O CD44 e suas isoformas pode ser encontrado em diversas fases da organogênese (RUIZ et al., 1995). Como ocorre nos placoides odontogênicos, onde a isoforma CD44v6 apresenta alta expressão (HERRLICH et al., 1993). A expressão do CD44 e suas variantes pode ser modulada por algumas citocinas como o fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interferon- γ (INF- γ) que aumentam a expressão do CD44v6 (MACKAY et al., 1994), que representa o maior potencial proliferativo e mobilidade celular (WIRTH et al., 1993), características essenciais para os estágios de desenvolvimento e organização tecidual (RUIZ et al., 1995). Atualmente, está associada ao principal mecanismo de progressão tumoral e um pior prognóstico em muitos tipos de câncer, como câncer colorretal, câncer de pulmão, carcinoma hepatocelular, câncer de próstata, câncer de pâncreas, câncer de endométrio e o carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (MA et al., 2019; YAN et al., 2015). No âmbito das lesões odontogênicas sua presença está associada a uma maior taxa proliferativa e a um comportamento biológico mais agressivo (KECHIKA e SIAR, 2018; MONROY et al., 2018; SALEHINEJAD et al., 2012; WANG e LIU, 2009; LEONARDI et al., 2000).

2.3.2 CD90

A primeira descrição do CD90 (Thy-1), foi como marcador de superfície de diferenciação celular, expresso no cérebro e timo de ratos (REIF e ALLENa, 1964; REIF e ALLENb, 1966). Em 1982, sua expressão foi verificada em outros tecidos como medula óssea e células da epiderme (BASCH e BERMAN, 1982). E a primeira vez que foi descrito e isolado o gene nos linfócitos T, foi em 1974 (VITETTA e UHR, 1974; HYMAN e STALLINGS, 1974). Pertence a superfamília das imunoglobulinas, codificada pelo gene THY-1 localizado no braço

curto do cromossomo 11q22.3 (WILLIAMS e GAGNON, 1982). É uma proteína transmembrana ancorada no glicosilfosfatidilinositol (GPI) (SEKI et al., 1985). É N-glicosilada em seu segundo (SEKI et al., 1985) e terceiro sítio (ALMQVIST e CARLSSON, 1988), e os carboidratos constituem 30% da sua massa, a qual varia de 25 – 37 kDa (ALMQVIST e CARLSSON, 1988). O CD90 apresenta-se expresso de forma distinta e distribuído em muitos tecidos e células, incluindo os timócitos, linfócitos T, CT da medula óssea, neurônios, fibroblastos (HAGOOD et al., 2005; KILLEEN, 1997), células endoteliais, células musculares (ZHANG et al., 1992), células NK e CTMs (HAERYFAR e HOSKIN, 2004; MAINO et al., 1981).

Desde sua descoberta, suas vias de sinalização e função são alvo de diversas pesquisas. Acredita-se que consiste em uma proteína responsável pela transdução do sinal ao citoesqueleto, após interação célula-célula/célula-matriz através de integrinas (SEKI et al., 1985). Possui muitas funções celulares dentre elas, a ativação, migração e adesão celular, como a ativação de células T e NK, e promoção de apoptose de timócitos (HAERYFAR et al., 2003; MANNIK et al., 2001). Também participa da adesão dos linfócitos às células endoteliais durante a resposta inflamatória e promove a adesão dos timócitos no epitélio de revestimento do timo (SAALBACH et al., 2000; HE et al., 1991). Podem participar da mediação de sinais da angiogênese e do crescimento neural (ABEYSINGHE et al., 2004; TIVERON et al., 1992), além de modular o fenótipo, secreção, proliferação e diferenciação dos fibroblastos (SCHMIDT et al., 2016; BRADLEY et al., 2009; FRIES et al., 1994). Apesar de ser encontrado em várias células, sua função está intimamente relacionada a proliferação, diferenciação, migração e sobrevivência celular (MORAES et al., 2016).

Com relação às CT, a expressão de CD90 indica o seu grau de diferenciação, ou seja, quando exibe alta expressão está associado a manutenção do estado celular indiferenciado, e ao apresentar sua expressão diminuída se comporta como um facilitador para a diferenciação (MORAES et al., 2016). A sua positividade está associada a células que exibem fenótipo tronco, que possuem a capacidade autorenovação e diferenciação (SCHUBERT et al., 2011; TANG et al., 2013). Possui maior relevância e estudos relacionados às CTMs, porém estudos tem demonstrado sua atuação em processos relacionados a tumorigênese e capacidade metastática, o que torna o CD90 um potencial marcador para CT tumorais em carcinomas (SHAIKH et al., 2016; YANG et al., 2008; REGE e HAGOOD, 2006). Quando associadas a um microambiente tumoral, podem estar relacionadas a uma maior taxa proliferativa, capacidade de iniciação tumoral, estando relacionadas a um comportamento biológico mais agressivo (SHU et al., 2019)

No âmbito das lesões odontogênicas, não existem relatos que verifique a expressão do CD90 nos COs do desenvolvimento, estando associados a patologias inflamatórias crônicas

como as lesões periapicais, onde as CTMs também participam do estabelecimento, progressão ou regressão dos cistos radiculares, além de estarem relacionadas a regulação do sistema imune local (ESTRELA et al., 2017; PADUANO et al., 2016; MARRELI et al., 2015; MARRELI et al., 2013; DOKIC et al., 2012).

3 OBJETIVOS

GERAL

Determinar o perfil clinicopatológico e de imunexpressão de marcadores de células-tronco multipotentes, CD44 e CD90, em COs do desenvolvimento de uma população brasileira.

ESPECÍFICOS

- Descrever os dados demográficos e clínicos dos COs do desenvolvimento diagnosticados no período do ano 2002 a 2019, no serviço de anatomia patológica da FOUFBA;
- Avaliar a imunexpressão de marcadores de células-tronco multipotentes (CD44 e CD90) em CD, QO, CGA, CPL, COB, COG, COC e COO
- Comparar a expressão de CD44 e CD90 entre os cistos de perfil clinicopatológico mais agressivos e menos agressivos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Considerações Éticas

O presente projeto de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com seres Humanos da FOUFBA (CAAE: 10507719.8.0000.5024)

4.2 Caracterização do Estudo

Consistiu primeiramente em uma pesquisa transversal retrospectiva e descritiva, seguida por um estudo laboratorial imunoistoquímico, constituído pela análise e registro da expressão das proteínas do CD44 e CD90 em CD, QO, CGA, CPL, COB, COG, COC e COO

4.3 Variáveis do estudo

- Independentes: idade, sexo, frequência, tamanho, localização, tipo de biópsia, CD, QO, CGA, CPL, COB, COG, COC e COO.
- Dependentes: expressão de CD44, expressão de CD90, porcentagem de marcação em epitélio e cápsula, espessura epitelial, capsula cística.

4.4 População

A população foi constituída por casos registrados, diagnosticados e armazenados no Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA) entre o ano de 2002 a 2019.

4.5 Amostra

De uma maneira geral, como critérios de inclusão foram considerados os seguintes aspectos para cada caso: (1) quantidade suficiente de tecido no bloco de parafina arquivado; e (2) condições de armazenamento dos espécimes, critérios estes necessários para a realização do estudo imunoistoquímico.

Para os QOs, foram excluídos os casos associados à Síndrome do Carcinoma Nevóide Basocelular. No caso dos CDs, foram incluídos somente os espécimes que apresentaram pouco ou nenhum infiltrado inflamatório. No diagnóstico de todos os cistos odontogênicos foram consideradas as características radiográficas e os critérios morfológicos da OMS (2017).

4.6 Análise Clínica

Os COs do desenvolvimento descritos pela OMS (2017) foram incluídos no estudo: CD, QO, CGA, CPL, COB, COG, COC e COO. Dentre as características clínicas, foram coletadas

informações referentes à idade e sexo dos pacientes, bem como localização, tamanho e o tipo de biópsia. Foi verificada a equivalência entre o diagnóstico histopatológico e o diagnóstico clínico para cada CO do desenvolvimento. Esses dados foram obtidos por meio da análise das fichas de requisição do anatomopatológico enviadas junto ao material biopsiado. Os tamanhos das lesões, obtidas por biópsia excisional, foram mensurados através dos dados macroscópicos descritos nas fichas, sendo considerada a maior dimensão. Além disso, dados como frequência da lesão, razão homem/mulher, média de idade, média de tamanho em centímetros, sítio anatômico mais acometido foram obtidos.

4.7 Estudo Imunoistoquímico

4.7.1 Técnica da imunoistoquímica

As reações imunoistoquímicas foram realizadas no Laboratório de Imunoistoquímica da FOUFBA pela método da imunoperoxidase. Foram montadas secções de 3 µm de espessura em lâminas de vidro previamente tratadas com solução 2% de organosilano (3-aminopropiltritoxi-silano, A3648, 100 ml, Sigma Chemical Co.). As secções histológicas foram desparafinizadas em xilol e reidratadas numa série decrescente de álcool. A peroxidase endógena foi bloqueada por incubação das secções com peróxido de hidrogênio a 3% em solução tampão (PBS, pH 7,4), na proporção 1:1, durante um tempo total de 20min. As secções foram lavadas duas vezes em PBS, e incubadas com tampão citrato (pH 6,0), durante 20 min num banho de água a 92°C para a recuperação antigênica. Em seguida, foram resfriadas durante 20 min à temperatura ambiente e depois lavadas duas vezes em PBS/Triton. Foram tratados com protein block isento de soro (k0909, Dako Corporation, Carpinteria, CA, USA) 10 min para bloqueio de reações inespecíficas. Em seguida, as secções foram incubadas com os anticorpos primários – hospedeiro mouse anti-CD44 e anti-CD90 (Tabela 1), diluídos em diluentes de anticorpo (S3022, Dako Corporation, Carpinteria, CA, USA), por 18 horas (overnight) a 4°C. Após este período, as secções foram lavadas duas vezes em PBS/0,1% Triton. O sistema ADVANCED HRP (K4069, Dako Corporation, Carpinteria, CA, USA) foi aplicado para detecção do CD44 e CD90. As reações foram reveladas com 0,03% de diaminobenzidina (Liquid DAB + Substrato, Dako) como cromógeno e as lâminas foram contra coradas com hematoxilina de Mayer por 2 min. Finalmente, as secções foram desidratadas em álcool e diafanizadas em xilol para montagem em resina Permount (Fisher Scientific). A placenta foi utilizada como controle positivo nas reações de CD44 e CD90 (Figura 1A e 1B). As secções incubadas com soro diluente não imune, substituindo os anticorpos primários, serviram como controle negativo.

Tabela 1. Especificações dos anticorpos primários utilizados. Salvador/Bahia, 2019.

Anticorpo	Fabricante	Clone	Recuperação Antigênica	Diluição	Tempo de incubação	Controle Positivo
Anti-CD44 (Monoclonal)	Santa Cruz	Sc7946	Citrato pH 6,0	1:100	16h	Placenta
Anti-CD90 (Monoclonal)	ABCAM	Ab181469	Citrato pH 6,0	1:400	16h	Placenta

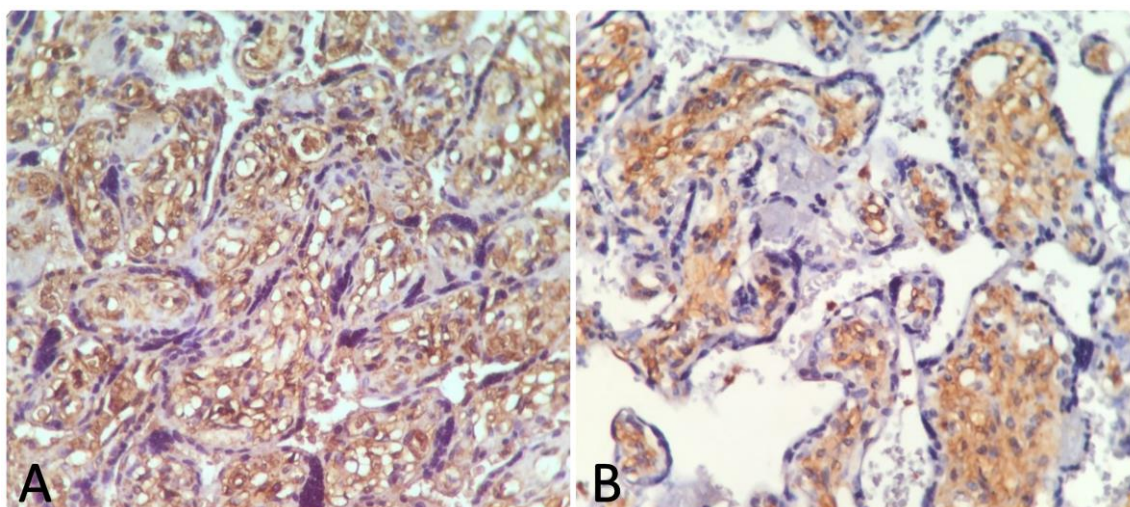


Figura 1. Fotomicrografia da placenta humana (controle positivo) exibindo imunoexpressão positiva para os anticorpos anti-CD44 (A) e anti-CD90 (B).

4.7.2 Análise imunoistoquímica

As lâminas coradas pela imunoistoquímica foram analisadas em microscópio de luz e as características do padrão de expressão de cada marcador em cada lesão estudada foram registradas em fichas individuais, sendo analisados os seguintes aspectos:

- **Presença de imunorreatividade:** determinada pela cor marrom em núcleo, citoplasma e/ou membrana nas células epiteliais e/ou mesenquimais;
- **Tipo de célula mesenquimal positiva:** fibroblasto, célula endotelial e célula inflamatória;
- **Porcentagem da imunomarcção:** a imunoexpressão foi avaliada semiquantitativamente no revestimento epitelial e cápsula fibrosa por dois observadores independentes num aumento de 200x, sendo categorizada como: 0 ou nenhuma coloração (até 10% de células positivas), 1 (11-25% de células positivas), 2 (26-50% de células positivas), 3 (51-75 % de células positivas) e 4 (> 75 %) (SILVA et al., 2016; MONROY et al., 2016). Os casos que houveram discordância entre os

examinadores foram novamente avaliados, em conjunto, para se chegar num consenso.

4.8 Análise estatística

Os dados numéricos referentes às análises realizadas foram tabulados e tratados estatisticamente com o auxílio do programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) na versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Para a descrição demográfica e clínica, foi realizada uma análise descritiva através das medidas de tendência central e dispersão dos dados. Foram realizados teste de associação, para a observação da frequência e proporção dos dados, onde foi utilizado o teste qui-quadrado para a análise demográfica e para análise imunoistoquímica, com o intuito de testar as hipóteses a seguir. O nível de significância utilizado na decisão dos testes foi de 5% ($p < 0,05$) e Intervalo de Confiança de 95%.

H0- Não existem diferenças estatisticamente significativas na expressão imunoistoquímica dos marcadores de células-tronco multipotentes entre lesões odontogênicas estudadas.

H1- Existem diferenças estatisticamente significativas na expressão imunoistoquímica dos marcadores de células-tronco multipotentes entre lesões odontogênicas estudadas.

5 RESULTADOS

No período analisado (2002 a 2019), foram registrados 150 casos de cistos odontogênicos do desenvolvimento, destes 49,3% (n=74) representaram casos de QO, 39,3% (n=59) de CD, 4,7% (n=7) de COC, 2,7% (n=4) de CGA, 2% (n=3) de COG. Os demais, CPL, COB e o COO, obtiveram apenas 0,7% (n=1) de frequência. A diferença entre as frequências dos COs do desenvolvimento nos anos da população estudada foi estatisticamente significativa, uma vez que há um maior número de casos de QO e CD ($p=0,001$) (Gráfico 1).

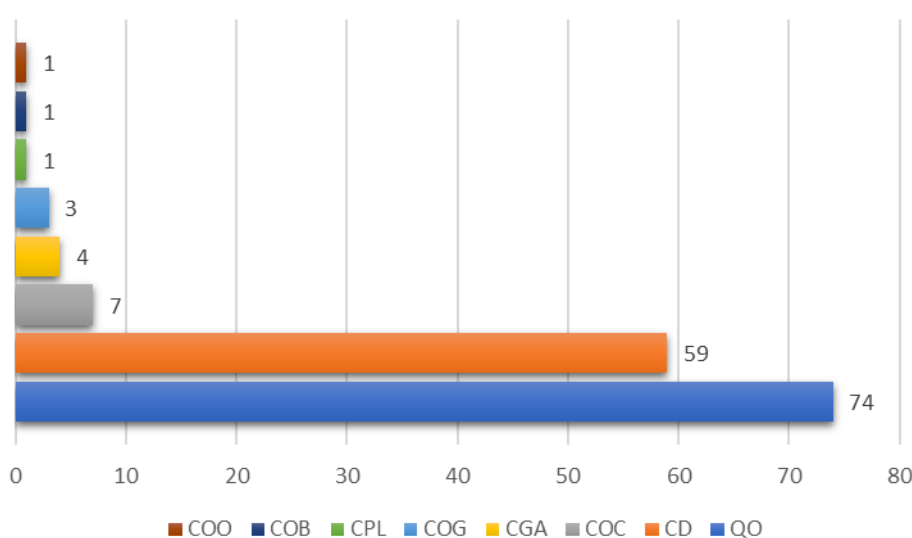


Gráfico 1. Cistos odontogênicos do desenvolvimento diagnosticados no serviço de patologia cirúrgica da FOUFBA de 2002 a 2019. Legenda: COO: Cisto Odontogênico Ortoqueratinizado, COC: Cisto Odontogênico Calcificante, COG: Cisto Odontogênico Glandular, COB: Cisto Odontogênico Botriode, CPL: Cisto Periodontal Lateral, CGA: Cisto Gengival do Adulto, CD: Cisto Dentígero, QO: Queratocisto Odontogênico. Salvador/Bahia, 2019.

A população estudada mostrou medidas de tendência central com média de idade de 32 anos (Min: 6; Máx: 87; Desvio padrão: 19,4). O COG foi diagnosticado em pacientes mais velhos, enquanto o CD foi encontrado em pacientes mais jovens. O CPL, COB, COO, não exibiram média de idade, pois apenas 1 caso foi diagnosticado no período estudado, sendo as idades respectivas, 48, 66, 18 (Tabela 1).

Quanto ao sexo, a amostra total não demonstrou diferença estatisticamente significativa ($p=0,052$), pois os COs do desenvolvimento se distribuíram de forma equivalente (54% n=81 masculino; 44% n=66 feminino; casos não informados: 4) (Tabela 1). Analisando individualmente cada lesão, houve uma predileção pelo sexo masculino nos casos

diagnosticados como CD e QO e pelo sexo feminino no CGA e COC. O tipo de biópsia encontrado preferencialmente foi a excisional, com 49,3% (n=74) dos casos, e a biópsia incisional só foi mais frequente no COC, com 57,1% (n=4), e 56 casos não foram informados. O QO, COC e COG exibiram os maiores tamanhos, com médias que variaram de 2.99 a 4.75 cm (Tabela 2).

Tabela 2. Dados clínicos dos COs do desenvolvimento diagnosticados no serviço de patologia cirúrgica da FOUFBA. Salvador/Bahia, 2019.

	IDADE			SEXO		BIÓPSIA		TAMANHO			TOTAL
	Min	Média (DP)	Máx	M% (n)	F% (n)	INCISIONAL	EXCISIONAL	Min	Média (DP)	Máx	
QO	6	36,45 (19,7)	81	54,1% (40)	44,6% (33)	16,2% (12)	40,5% (30)	1	2,99 (1,3)	6	74
CD	6	22,86 (15,6)	87	61% (36)	37,3% (22)	6,8% (04)	57,6% (34)	0,3	1,83 (0,8)	4,2	59
COG	49	53 (5,6)	57	33,3% (1)	33,3% (1)	0% (0)	66,7% (2)	3,0	4,75 (2,4)	6,5	3
COC	7	37 (25,7)	62	28,6% (2)	71,4% (5)	57,1% (04)	42,9% (3)	1,5	2,7 (1,3)	4	7
CGA	47	52,3 (3,9)	56	25% (1)	75% (3)	0% (0)	50% (02)	0,9	1,7 (1,1)	2,5	4
CPL	*	48	*	0% (0)	100% (1)	0% (0)	100% (1)	*	2,0	*	1
COB	*	66	*	100% (1)	0% (0)	0% (0)	100% (1)	*	1,7	*	1
COO	*	12	*	0% (0)	100% (1)	0% (0)	100% (1)	*	2,3	*	1
TOTAL	6	32 (19,4)	87	54% (81)	44% (66)	13,3% (20)	49,3% (74)	0,3	2,41 (1,2)	6,5	150

Legenda: DP: Desvio Padrão, COO: Cisto Odontogênico Ortoqueratinizado, COC: Cisto Odontogênico Calcificante, COG: Cisto Odontogênico Glandular, COB: Cisto Odontogênico Botrioide, CPL: Cisto Periodontal Lateral, CGA: Cisto Gengival do Adulto, CD: Cisto Dentífero, QO: Queratocisto Odontogênico.

A localização de maior ocorrência para os COs do desenvolvimento foi a mandíbula posterior, com 58,7% (n=88) (Tabela 3). A maxila anterior obteve 14,5% (n=21), a mandíbula anterior e maxila posterior, ambas exibiram 13,3% (n=20). A mandíbula posterior foi o sítio anatômico preferencial para os QOs (74,3%, n=55) CDs (49,2%, n=29), COCs (28,6%, n=2) e COO (100%, n=1), com significância estatística (p=0,015). E a mandíbula anterior foi a região onde o CGA (50%, n=2), CPL (100%, n=1), COB (100%, n=1) e COG (33,3%, n=1) mostraram maior número de casos, com diferença estatisticamente significativa (p=0,001).

Tabela 3. Localização dos COs do desenvolvimento diagnosticados no arquivo do serviço de patologia cirúrgica da FOUFBA. Salvador/Bahia, 2019.

	Mandíbula Posterior	Mandíbula Anterior	Maxila Posterior	Maxila Anterior	NI	TOTAL
	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	N	N
QO	74,3% (55)	16,2% (12)	12,2% (9)	4,2% (3)	2	74
CD	49,2% (29)	1,7% (1)	16,9% (10)	26,8% (15)	6	59
COG	0	33,3% (1)	33,3% (1)	0	1	3
COC	28,6% (2)	28,6% (2)	0	28,6% (2)	1	7
CGA	0	50% (2)	0	25% (1)	1	4
CPL	0	100% (1)	0	0	0	1
COB	0	100% (1)	0	0	0	1
COO	100% (1)	0	0	0	0	1
Total	58,7% (88)	13,3% (20)	13,3% (20)	14,5% (21)	11	150
P valor (X ²)	0,015	0,001	0,526	0,027		

A equivalência entre o diagnóstico histopatológico e o diagnóstico clínico foi encontrada em 74,3% (n=55) dos casos de QO, 83,1% (n=49) dos CDs, 25% (n=1) dos CGAs, 14,3% (n=1) dos COCs. Para os demais COs do desenvolvimento não foi encontrada equivalência. O CPL e o COB fizeram diagnóstico diferencial com cisto residual e o COO com o CD.

A imunexpressão para o CD44 e CD90 mostrou-se positiva tanto no componente epitelial, quanto na cápsula das lesões císticas estudadas. De uma maneira geral, os compartimentos celulares que exibiram imunopositividade foram a membrana, e o citoplasma celular, o qual demonstrou padrão de marcação granular. Para o epitélio de revestimento, os queratinócitos exibiram expressão em todos os estratos. Para o tecido conjuntivo, as células imunomarcadas foram fibroblastos, células endoteliais e inflamatórias quando presentes, principalmente linfócitos e macrófagos. As figuras 2 e 3 ilustram as marcações obtidas pelo CD44 e CD90 no componente epitelial e mesenquimal dos COs do desenvolvimento.

Comparando a expressão da proteína CD44 (Figura 2) no componente epitelial de cada lesão (Tabela 4), foi observada maior expressão para o QO, com todos os casos categorizados no escore 4 (100%, n=20). Para o CD, a maioria dos casos (85,7%, n=6) exibiu o maior escore de expressão (escore 4), enquanto 14,3% (n=1), foram categorizados no escore 0. O COG apresentou maior número de casos classificados no escore 4 (42,9%, n=3), seguido pelos

escores 3 e 2, os quais tiveram a mesma distribuição, com 28,6% (n=2). Para o COC, metade dos casos (50%, n=2) foram categorizados no escore 2 e os outros casos se dividiram igualmente nos escores 0 e 4. O CGA não demonstrou imunomarcção positiva para o CD44 no epitélio cístico, sendo todos os casos categorizados no escore 0. Os COO, CPL, e o COB obtiveram respectivamente escore 3, 2, e 0. Foi observada diferença estatisticamente significativa ($p=0,000$) na expressão do CD44 no epitélio cístico entre as lesões estudadas, uma vez que o QO e o CD apresentaram maior número de casos classificados no maior escore, comparado com os outros cistos que se distribuíram dentre os escores.

Tabela 4- Imunoexpressão do CD44 no componente epitelial dos COs do desenvolvimento. Salvador/Bahia, 2019.

LESÃO	ESCORE EPITELIO CD44					TOTAL
	0 (<10%) % (n)	1 (11 a 25%) % (n)	2 (26 a 75%) % (n)	3 (51 a 75%) % (n)	4 (>75%) % (n)	
QO	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	100% (20)	100% (20)
CD	14,3% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	85,7% (6)	100% (7)
COG	0% (0)	0% (0)	28,6% (2)	28,6% (2)	42,9% (3)	100% (7)
COC	25% (1)	0% (0)	50% (2)	0% (0)	25% (1)	100% (4)
CGA	100% (2)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	100% (2)
CPL	0% (0)	0% (0)	100% (1)	0% (0)	0% (0)	100% (1)
COB	100% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	100% (1)
COO	0% (0)	0% (0)	0% (0)	100% (1)	0% (0)	100% (1)
P valor (X²)	0,000					

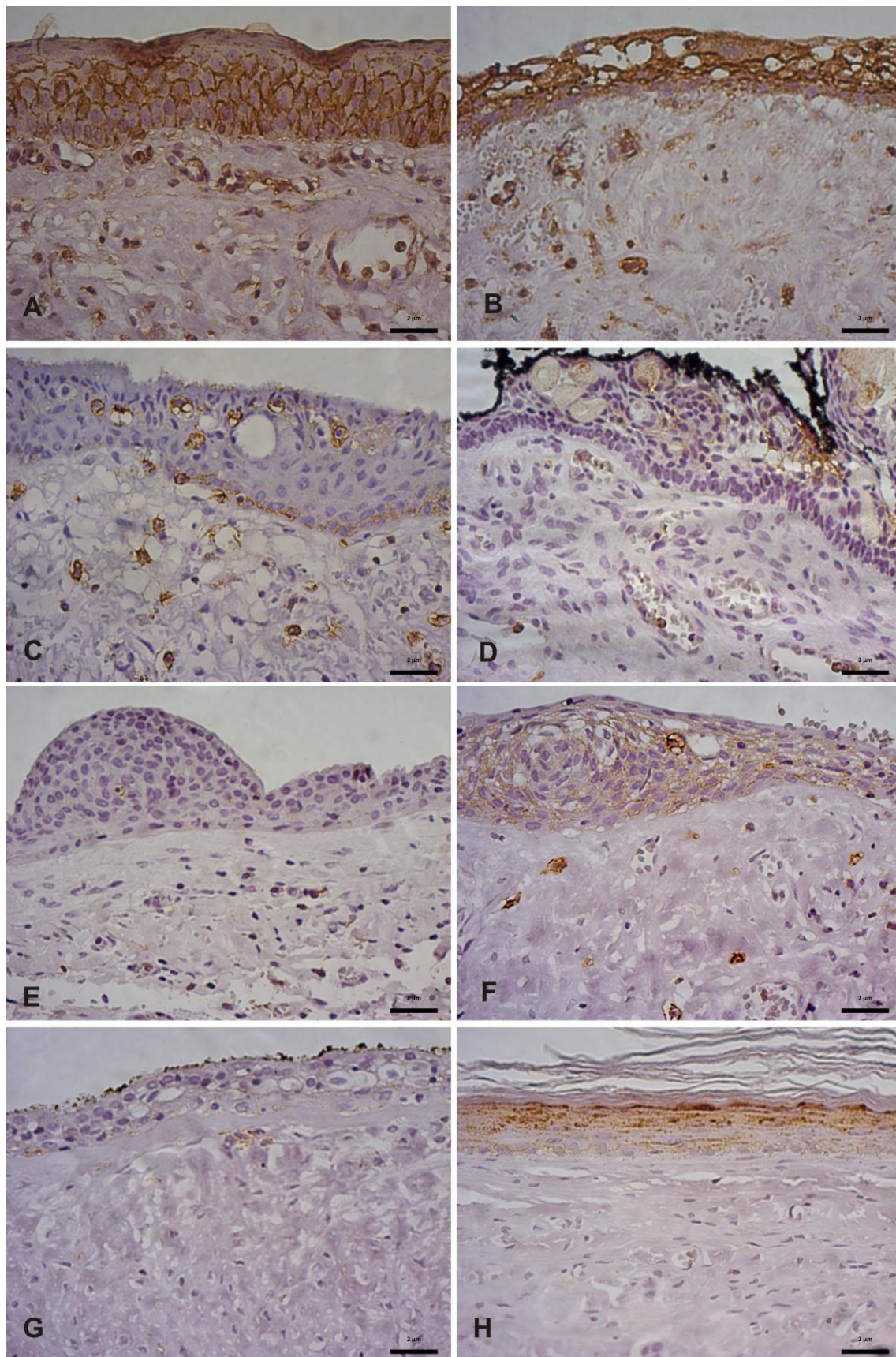


Figura 2. Imunoexpressão do CD44 nos COs do desenvolvimento. Observe a imunopositividade em membrana celular e o citoplasma de algumas células exibindo um aspecto granular de marcação. Note a alta expressão de CD44 no componente epitelial e mesenquimal do QO (A) e CD (B), em comparação com os demais COs: COG (C), COC (D), CGA (E), CPL (F), COB (G), e COO (H).

Diferença estatisticamente significativa ($p=0,000$) também foi observada ao comparar a imunexpressão do CD44 na cápsula entre as lesões estudadas (Tabela 5). O QO teve o maior número dos casos classificados no escore 4 (40%, $n=8$), e os 12 casos restantes se distribuíram uniformemente dentre os escores 3, 2, e 1. O CD segue o mesmo padrão, com a maioria dos casos no escore 4 (57,1%, $n=4$), e os 3 casos restantes igualmente distribuídos nos escores 3, 2, e 1. O COG teve a maioria dos casos categorizada nos escores 4 e 2, sendo 42,9% ($n=3$) dos casos em cada escore. O COC se dividiu entre os escores 1 e 2 (50%, $n=2$). O CPL e COB foram classificados no escore 1 e o CGA e o COO no escore 0.

Tabela 5- Imunexpressão do CD44 na cápsula dos COs do desenvolvimento. Salvador/Bahia, 2019.

LESÃO	ESCORE CÁPSULA CD44					TOTAL
	0 (<10%) % (n)	1 (11 a 25%) % (n)	2 (26 a 75%) % (n)	3 (51 a 75%) % (n)	4 (>75%) % (n)	
QO	0% (0)	20% (4)	20% (4)	20% (4)	40% (8)	100% (20)
CD	0% (0)	14,3% (1)	14,3% (1)	14,3% (1)	57,1% (4)	100% (7)
COG	0% (0)	0% (0)	42,9% (3)	14,3% (1)	42,9% (3)	100% (7)
COC	0% (0)	50% (2)	50% (2)	0% (0)	0% (0)	100% (4)
CGA	100% (2)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	100% (2)
CPL	0% (0)	100% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	100% (1)
COB	0% (0)	100% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	100% (1)
COO	100% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	100% (1)
P valor (χ^2)	0,000					

Ao analisar a proteína CD90 (Figura 3) no componente epitelial entre as lesões (Tabela 6), não foi observada diferença estatística significativa ($p=0,063$), pois houve uma distribuição similar dos casos dentre os escores. O QO obteve maior número de casos no escore 2 (40%, $n=8$), seguido pelo escore 1 (25%, $n=5$), 4 (20%, $n=4$) e 3 (15%, $n=3$). Quanto ao CD, o maior número de casos também foi classificado no escore 2 (57,1%, $n=4$), seguido pelo 3 (28,6%, $n=2$) e 1 (14,3%, $n=1$). No COG foi observada uma maior frequência de casos no escore 2 (57,1%, $n=4$), os outros casos se distribuíram entre os escores 0, 1, e 3 com 14,3% ($n=1$). O COC obteve igual distribuição dos casos entre os escores 2 e 1 (50%, $n=2$). O CGA se dividiu entre os escores 2 e 4 (50%, $n=1$). O COO, CPL, e COB obtiveram respectivamente os escores, 2, 3, 0.

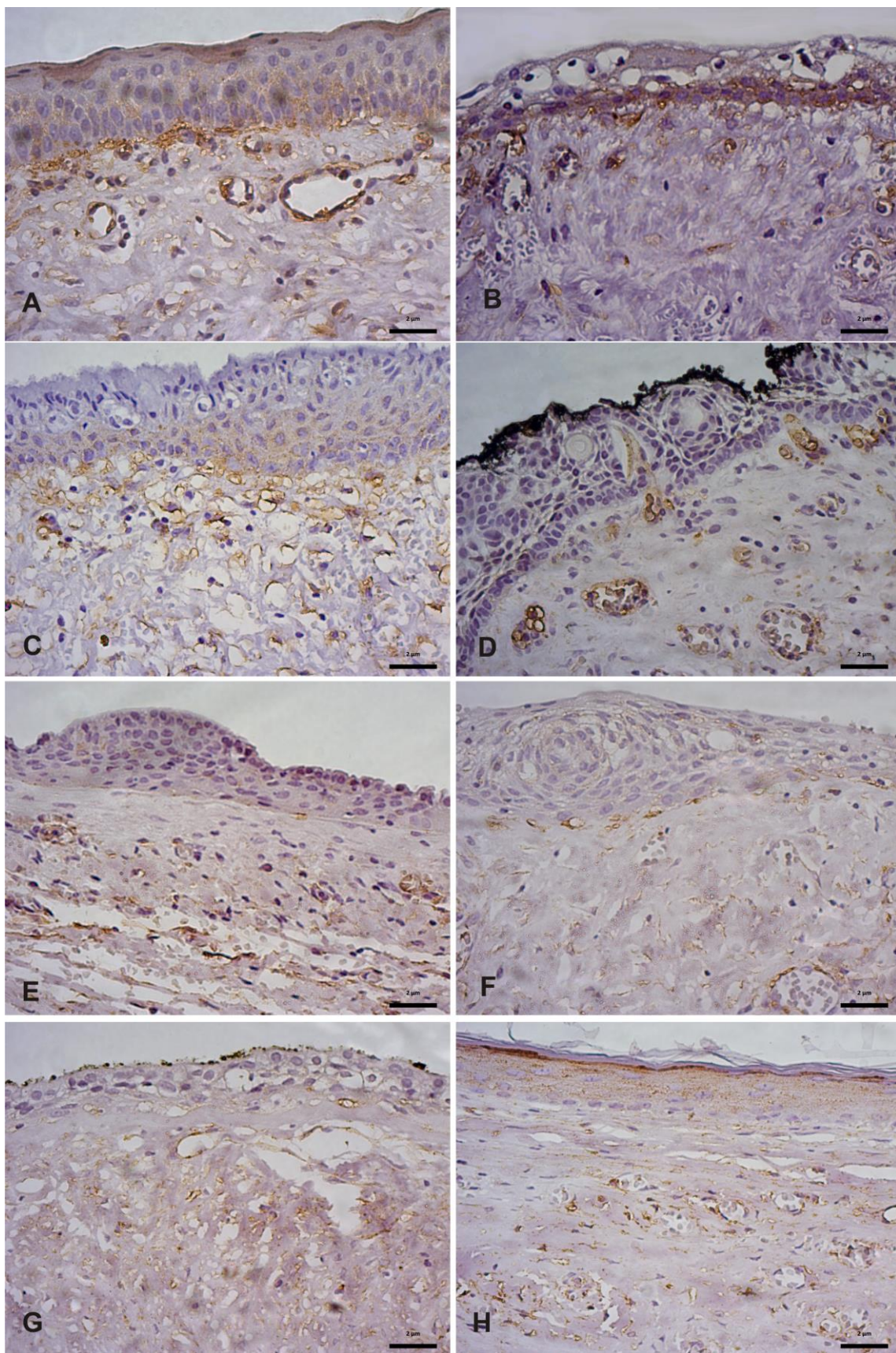


Figura 3. Imunoexpressão do CD90 nos COs do desenvolvimento. Observe a imunopositividade em membrana celular e citoplasma. Note a alta expressão de CD90 no componente mesenquimal do QO (A) e COC (D), em comparação com os demais COs: CD (B), COG (C), CGA (E), CPL (F), COB (G), e COO (H).

Tabela 6- Imunoexpressão do CD90 no componente epitelial dos COs do desenvolvimento. Salvador/Bahia, 2019.

LESÃO	ESCORE EPITÉLIO CD90					TOTAL
	0	1	2	3	4	
	(<10%) % (n)	(11 a 25%) % (n)	(26 a 75%) % (n)	(51 a 75%) % (n)	(>75%) % (n)	
QO	0% (0)	25% (5)	40% (8)	15% (3)	20% (4)	100% (20)
CD	0% (0)	14,3% (1)	57,1% (4)	28,6% (2)	0% (0)	100% (7)
COG	14,35 (1)	14,3% (1)	57,1% (4)	14,3% (1)	0% (0)	100% (7)
COC	0% (0)	50% (2)	50% (2)	0% (0)	0% (0)	100% (4)
CGA	0% (0)	0% (0)	50% (1)	0% (0)	50% (1)	100% (2)
CPL	0% (0)	0% (0)	0% (0)	100% (1)	0% (0)	100% (1)
COB	100% (1)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	100% (1)
COO	0% (0)	0% (0)	100% (1)	0% (0)	0% (0)	100% (1)
P valor (X²)	0,063					

A expressão do CD90 na cápsula dos COs do desenvolvimento (Tabela 7) se distribuiu de forma desigual dentre os escores, mostrando diferença estatisticamente significativa ($p=0,000$). Para o QO, 75% ($n=15$) dos casos foram classificados no escore 4, seguindo para 20% ($n=4$) no escore 3 e 5% ($n=1$) no escore 1. O CD se distribuiu entre os escores 2 (57,1%, $n=4$) e 1 (42,9%, $n=3$). Já o COG concentrou os casos no escore 1 (42,9%, $n=3$), os outros casos se dividiram entre os escores 2 e 4 (28,6%, $n=2$). Todos os casos de COC foram classificados no escore 3 (100%, $n=4$). O CGA se dividiu entre o escore 0 e 3 (50%, $n=1$). O COO e COB obtiveram escore 2 e o CPL foi classificado no escore 4.

Tabela 7- Imunoexpressão do CD90 na cápsula dos COs do desenvolvimento. Salvador/Bahia, 2019.

LESÃO	ESCORE CÁPSULA CD90					TOTAL
	0	1	2	3	4	
	(<10%) % (n)	(11 a 25%) % (n)	(26 a 75%) % (n)	(51 a 75%) % (n)	(>75%) % (n)	
QO	0% (0)	0% (0)	5% (1)	20% (4)	75% (15)	100% (20)
CD	0% (0)	42,9% (3)	57,1% (4)	0% (0)	0% (0)	100% (7)
COG	0% (0)	42,9% (3)	28,6% (2)	0% (0)	28,6% (2)	100% (7)
COC	0% (0)	0% (0)	0% (0)	100% (4)	0% (0)	100% (4)
CGA	50% (1)	0% (0)	0% (0)	50% (1)	0% (0)	100% (2)
CPL	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	100% (1)	100% (1)
COB	0% (0)	0% (0)	100% (1)	0% (0)	0% (0)	100% (1)
COO	0% (0)	0% (0)	100% (1)	0% (0)	0% (0)	100% (1)
P valor (X²)	0,000					

No intuito de caracterizar a imunoexpressão das proteínas nos COs do desenvolvimento considerados de perfil agressivos e indolentes, foi observada e comparada a imunoexpressão do CD44 e CD90 nestes dois grupos (Tabela 8). Primeiramente, quanto ao CD44 no componente epitelial nos cistos agressivos (QO, COG), as lesões predominaram no escore 4 (85,2%, n=23) e o restante foi igualmente distribuído entre os escores 2 e 3 (7,4%, n=2). Os cistos indolentes se distribuíram dentre os escores 4 (43,8%, n=7), 0 (31,3%, n=0), 2 (18,8%, n=3), e 3 (6,3%, n=1). Foi observada diferença estatisticamente significativa ($p=0,007$), pois os cistos agressivos se concentraram no escore 4.

Tabela 8- Imunoexpressão do CD44 no epitélio dos COs do desenvolvimento de perfil agressivo e indolentes. Salvador/Bahia, 2019.

LESÃO	ESCORE EPITÉLIO CD44					TOTAL
	0	1	2	3	4	
	(<10%) % (n)	(11 a 25%) % (n)	(26 a 75%) % (n)	(51 a 75%) % (n)	(>75%) % (n)	
AGRESSIVAS	0% (0)	0% (0)	7,4% (2)	7,4% (2)	85,2% (23)	100% (27)
INDOLENTES	31,3% (5)	0% (0)	18,8% (3)	6,3% (1)	43,8% (7)	100% (16)
TOTAL	11,6% (5)	0% (0)	11,6% (5)	7% (3)	69,8% (30)	100% (43)
P valor (X²)	0,007					

Comparando a expressão da proteína CD44 na cápsula entre os cistos de perfil agressivo e indolentes (Tabela 9), não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p=0,079$). Os cistos agressivos obtiveram maior número de casos no escore 4 (40,7%, $n=11$), seguido pelo 2 (25,9%, $n=7$), 3 (18,5%, $n=5$), e 1 (14,8%, $n=4$). Os indolentes novamente se distribuíram entre todos os escores, com a maior frequência no escore 4 (25%, $n=4$), seguido pelo 1 (31,3%, $n=5$).

Tabela 9- Imunoexpressão do CD44 na cápsula dos COs do desenvolvimento de perfil agressivo e indolentes. Salvador/Bahia, 2019.

LESÃO	ESCORE CÁPSULA CD44					TOTAL
	0 (<10%) % (n)	1 (11 a 25%) % (n)	2 (26 a 75%) % (n)	3 (51 a 75%) % (n)	4 (>75%) % (n)	
AGRESSIVAS	0% (0)	14,8% (4)	25,9% (7)	18,5% (5)	40,7% (11)	100% (27)
INDOLENTES	18,8% (3)	31,3% (5)	18,8% (3)	6,3% (1)	25% (4)	100% (16)
TOTAL	7% (3)	20,9% (9)	23,3% (10)	14% (6)	34,9% (15)	100% (43)
P valor (X²)	0,079					

Quando comparada a imunomarcagem do CD90 no componente epitelial entre os cistos agressivos e indolentes (Tabela 10), não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p=0,911$). Para os cistos de perfil agressivo, a maior frequência de casos foi observada o escore 2 (44,4%, $n=12$), seguido pelo escore 1 (22,2%, $n=6$), 14,8% ($n=4$) para os escores 3 e 4 e 3,7% (1) para o escore 0. No grupo dos cistos considerados indolentes, a maioria dos casos foi classificado no escore 2 (50%, $n=8$), seguido pelo escore 1 e 3, ambos com 18,8% ($n=3$) e por último os escores 0 e 4, com 6,3% ($n=1$).

Tabela 10- Imunoexpressão do CD90 no epitélio dos COs do desenvolvimento de perfil agressivo e indolentes. Salvador/Bahia, 2019.

LESÃO	ESCORE EPITÉLIO CD90					TOTAL
	0 (<10%) % (n)	1 (11 a 25%) % (n)	2 (26 a 75%) % (n)	3 (51 a 75%) % (n)	4 (>75%) % (n)	
AGRESSIVAS	3,7% (1)	22,2% (6)	44,4% (12)	14,8% (4)	14,8% (4)	100% (27)
INDOLENTES	6,3% (1)	18,8% (3)	50% (8)	18,8% (3)	6,3% (1)	100% (16)
TOTAL	4,7% (2)	20,9% (9)	46,5% (20)	16,3% (7)	11,6% (5)	100% (43)
P valor (X²)	0,911					

Com relação à comparação da imunomarcagem do CD90 na cápsula entre os cistos agressivos e indolentes (Tabela 11), houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,006$), pois houve uma maior frequência do escore 4 para os agressivos e do escore 2 para os indolentes. As agressivas obtiveram 63% ($n=17$) dos casos no escore 4, seguido pelo escore 3 (14,8%, $n=4$) e 11,1% ($n=3$) para os escores 1 e 2. Quanto as lesões indolentes, 37,5% ($n=6$) foram classificadas no escore 2, seguido pelo escore 3 (31,3%, $n=5$), 1 (18,8%, $n=3$) e 6,3% ($n=1$) para os escores 0 e 4.

Tabela 11- Imunoexpressão do CD90 na cápsula dos COs do desenvolvimento de perfil agressivo e indolentes Salvador/Bahia, 2019.

LESÃO	ESCORE CÁPSULA CD90					TOTAL
	0 (<10%) % (n)	1 (11 a 25%) % (n)	2 (26 a 75%) % (n)	3 (51 a 75%) % (n)	4 (>75%) % (n)	
AGRESSIVAS	0% (0)	11,1% (3)	11,1% (3)	14,8% (4)	63% (17)	100% (27)
INDOLENTES	6,3% (1)	18,8% (3)	37,5% (6)	31,3% (5)	6,3% (1)	100% (16)
TOTAL	2,3% (1)	14% (6)	20,9% (9)	20,9% (9)	41,9% (18)	100% (43)
P valor (X²)	0,006					

6 DISCUSSÃO

Os remanescentes da odontogênese, sejam eles de origem epitelial ou mesenquimal, são repletos de CT que possuem determinada plasticidade, a depender das linhagens celulares que podem originar (XIONG et al., 2012). Estes restos teciduais dão origem a uma gama de patologias, dentre elas os COs do desenvolvimento, os quais constituem-se por lesões císticas originadas dos restos epiteliais da lâmina dentária ou órgão do esmalte (MOSQUEDA-TAYLOR et al., 2002; NUÑEZ-URRUTIA et al., 2010). Segundo Monroy et al. (2018), a alta expressão de marcadores associados a células com fenótipo tronco, indica a possível participação na histogênese e diferenciação nas lesões odontogênicas epiteliais benignas, com variável comportamento biológico. Portanto, considerando a origem dos COs do desenvolvimento e a imunomarcagem positiva evidenciada em epitélio e mesênquima para marcadores de CT (anti-CD44 e anti-CD90) no presente trabalho, é possível sugerir que existem fatores integrados entre epitélio e cápsula cística que podem estar associados a comportamentos específicos dessas patologias.

Dentre as lesões císticas estudadas, o QO (49,3%) e o CD (39,3%) mostraram-se mais frequentes, dado que concorda com o encontrado em estudos epidemiológicos brasileiros recentes como Silva et al. (2018) e Kammer et al. (2019), porém discorda com Jaeger et al. (2017), no qual o CD se mostra superior ao QO. A determinação do perfil clinicopatológico dos COs do desenvolvimento consiste em um grande desafio, uma vez que sua frequência se altera de acordo com a população estudada. Sua frequência relativa mundial traz que o CD é o mais prevalente em diversas populações, com o QO em posições inferiores (HOSGOR et al., 2019; JOSEPH et al., 2019; TAMIOLAKIS et al., 2019; LO MUZIO et al., 2017; DEL CORSO et al., 2014; JOHNSON et al., 2013; TEKKESEN et al., 2011; SHARIFIAN e KHALILI, 2011; OCHSENIVS et al., 2007).

Entretanto, há um consenso na literatura quando se trata da localização preferencial, idade e sexo destas patologias. Há descrito uma maior frequência relacionada a mandíbula posterior (HOSGOR et al., 2019; JOSEPH et al., 2019; TAMIOLAKIS et al., 2019; KAMMER et al., 2019; SILVA et al., 2018; LO MUZIO et al., 2017; JAEGER et al., 2017; DEL CORSO et al., 2014; JOHNSON et al., 2013; TEKKESEN et al., 2011; SHARIFIAN e KHALILI, 2011; OCHSENIVS et al., 2007; KOSEOGLU et al., 2004), dado que concorda com o encontrado no presente estudo. A média de idade dos COs de desenvolvimento do presente estudo foi de 32 anos, com uma ampla variação de 6 a 87 anos, e esta grande amplitude também se encontra nos estudos supracitados. O COG apresentou casos em pacientes mais velhos, em concordância com

Tekkesen et al. (2011) e o CD em pacientes jovens, uma vez que sua patogênese está intimamente relacionada a uma interrupção no processo de erupção, dado que corrobora Prosdócimo et al. (2018) e Sharifian & Kalili (2011), onde o CD se apresentou mais prevalente em pacientes mais jovens.

Quanto ao sexo não foi encontrada diferença estatisticamente significativa, concordando com Lo Muzio et al. (2017), Jaeger et al. (2017) e Koseoglu et al., 2004. Mas há uma leve tendência ao acometimento do sexo masculino o que corrobora Hosgor et al. (2019), Joseph et al. (2019), Kammer et al. (2019), Tamiolakis et al. (2019), Del corso et al., (2014), Tekkesen et al. (2011), Sharifian e Khalili (2011), Ochsenivis et al. (2007). Silva et al. (2018) realizaram uma análise individual das patologias e encontraram uma predominância do sexo feminino para o QO, COC, COB, COG e COO, e do masculino para o CPL e CGA. Realizando este mesmo processo de análise para este estudo, o mesmo foi observado para o COC e COO, onde o sexo feminino foi mais prevalente, porém diverge com o encontrado para o QO, COB, COG que exibiram maior frequência para o sexo masculino.

Os COs do desenvolvimento são patologias intraósseas, de crescimento lento e assintomático, sendo encontradas em radiografias de rotina (NUÑEZ-URRUTIA et al., 2010). Possuem características semelhantes dentre eles e com diversas lesões que podem acometer o complexo maxilo-mandibular, além de exibirem comportamento biológico variável (JAAFARI-ASHKAVANDI et al., 2019). Dentre os casos diagnosticados, o tipo de biopsia preferencial foi a excisional e os tamanhos variaram de 0,3cm a 6,5cm. A lesão cística que demonstrou maior média de tamanho foi o COG, seguido pelo QO e o COC, diferente do relatado por Del Corso et al. (2014), que detectaram maiores tamanhos para o COO, seguido pelo COG e COB. Acredita-se que as maiores lesões císticas podem estar relacionadas a um comportamento biológico mais agressivo, porém os eventos moleculares que favorecem a maior capacidade de crescimento e recidiva são complexos, uma vez que diversos fatores participam do estabelecimento e progressão destas lesões.

Dentre esses fatores, ganha-se destaque as CT multipotentes, as quais possuem habilidade adaptativa e proliferativa, com grande potencial de plasticidade e autorenovação. No âmbito das lesões odontogênicas, estas células veem sendo alvo de pesquisas, principalmente nas lesões periapicais crônicas inflamatórias, como o cisto radicular, o qual se origina, assim como nos COs do desenvolvimento, dos remanescentes da odontogênese. Nesse sentido, sabe-se que existe alta expressão dos marcadores anti-CD44 e anti-CD90, associados a um microambiente inflamatório crônico, onde os autores pressupõem que este aumento da

positividade relacionada às CT, implica diretamente nos processos de reparo (ESTRELA et al., 2019; PADUANO et al., 2016; MARRELI et al., 2015; MARRELI et al., 2013; DOKIC et al., 2012; LEONARDI et al., 2000). Em contrapartida, a alta expressão das proteínas CD44 e CD90 nos CO do desenvolvimento, como foi encontrado no presente trabalho, indica a participação de células com fenótipo tronco na histogênese e diferenciação dessas patologias, porém não se tem clara a sua atuação.

O conhecimento da atuação dos componentes celulares, sejam eles epiteliais ou mesenquimais, envolvidos no processo de patogênese, evolução e progressão dos COs do desenvolvimento é escasso. Sabe-se a sua origem (os remanescentes da odontogênese), porém os eventos biológicos e as células que estão envolvidas ainda são incertos. Acredita-se que o componente epitelial dos COs do desenvolvimento apresente grande importância na sua patogênese, uma vez que demonstra grande variação morfológica dentre este grupo de patologias. Esta característica é compatível com a alta expressão dos marcadores de CTEps verificada neste estudo, principalmente o CD44, que indicou a presença de células com fenótipo tronco possivelmente relacionadas ao aspecto morfológico distinto exibido entre algumas dessas lesões. Este fato também pode ser correlacionado a variação de comportamento biológico existente dentre as lesões císticas estudadas, uma vez que as CTEps apresentam grande multipotencialidade e comportamento distinto, quando em diferentes microambientes (BLANPAIN e FUCHS, 2014; FUCHS e SEGRE, 2000). Monroy et al. (2018), Kechik e Siar (2018) e Salehinejad et al. (2012) verificaram imunopositividade do CD44 no componente epitelial de lesões odontogênicas benignas e associaram esta expressão ao comportamento biológico das mesmas, pois sua alta positividade foi associada a maior agressividade e um comportamento biológico localmente invasivo.

A associação das CT com o comportamento biológico distinto entre os COs do desenvolvimento configura um grande desafio, por consistir em um microambiente ainda pouco estudado com o envolvimento de diversos eventos celulares e moleculares. Nesse sentido, o primeiro passo consiste na caracterização por diversos marcadores das células que exibem fenótipo tronco e posteriormente realizar a verificação da sua presença e associar a participação dessas células com o desenvolvimento e evolução das lesões odontogênicas. As proteínas mais estudadas nas lesões odontogênicas são o SOX2 e o OCT-4 (MONROY et al., 2018; BANDYOPADHYAY et al., 2017; BANERJEE et al., 2016; HEIKINHEIMO et al., 2014; JUURI et al., 2013), os quais são fatores de transcrição relacionados com a manutenção do estado tronco, ou seja, a persistência da capacidade de diferenciação em múltiplas linhagens celulares e autorenovação (BANERJEE et al., 2016). Outra proteína já estudada é o CDC7, proteína

reguladora do ciclo celular, onde a sua alta expressão pode ser relacionada a alta atividade proliferativa e comportamento agressivo de cistos e tumores odontogênicos (JAAFARI-ASHKAVANDI et al., 2019). Dentre os estudos citados, o CO do desenvolvimento mais estudado é o QO, seguido pelo CD. Em todos os estudos, o QO exibiu alta expressão dos marcadores associados a CTs e o CD mostrou baixa positividade. No presente estudo, o QO também exibiu alta expressão das proteínas estudadas (CD44 e CD90), porém o CD obteve marcação expressiva para o CD44.

O CD44 consiste em um receptor de superfície de células endoteliais, epiteliais, fibroblastos e leucócitos, que participa em diversas atividades fisiológicas (SENBANJO e CHELLAIAH, 2017). Está envolvido nos mecanismos genéticos e epigenéticos que regulam a manutenção das habilidades de autorenovação e diferenciação em múltiplas linhagens, ou seja, a manutenção do fenótipo tronco (ZÖLLER, 2011). Sua expressão tem sido associada a progressão tumoral, invasão tecidual e possibilidade de metástase em muitos tipos de tumores (SHU et al., 2019; LI et al., 2015; JORDAN et al., 2015; YU et al., 2015). A positividade desta proteína foi encontrada, tanto em epitélio quanto em tecido conjuntivo, na maioria das lesões odontogênicas estudadas no presente estudo. A imunopositividade encontrada sugere a presença de células com fenótipo tronco epiteliais e mesenquimais nos COs do desenvolvimento.

A alta expressão do CD44 foi observada no QO (100% dos casos), seguido pelo CD (85,7%) e COG (42,9%). Estudo prévio realizado por Kechik e Siar (2018) com o CD44 nos COs do desenvolvimento, estão de acordo com o encontrado no presente trabalho, onde o QO exibiu a maior expressão seguido pelo CD. Salehinejad et al. (2012) por sua vez, observaram maior expressão no QO e baixa positividade para o CD. Os autores supracitados correlacionaram a expressão do CD44 com marcadores de proliferação celular e sugeriram que a alta expressão desta proteína pode estar associada a uma maior agressividade relacionada a capacidade de proliferação e invasão local. Monroy et al. (2018) avaliaram a positividade do CD44 no QO, ameloblastoma e tumor odontogênico adenomatoide, e encontraram maior imunorreatividade no QO. Este autor corrobora Kechik & Siar (2018) e Salehinejad et al. (2012) ao trazer que, baseado na capacidade proliferativa das CT, a alta expressão observada pelo CD44 no QO pode ser relacionada a intensa atividade proliferativa desta lesão. Porém, existem poucos estudos que trazem a comparação com os demais COs do desenvolvimento, sendo necessário novos estudos que identifiquem áreas imunorreativas para CTs, o que pode esclarecer a relevância biológica destas células na estabilização e/ou progressão destas patologias.

O CD90 consiste em um marcador de superfície presente em uma variedade de células incluindo linfócitos T, timócitos, neurônios, células endoteliais e fibroblastos (REGE e HAGOOD, 2006), ou seja, células que estão relacionadas a linhagem de CTMs (BRADLEY et al., 2009). Apesar de ter maior significância a associação às CTMs, estudos comprovam que esta proteína está envolvida em muitos processos relacionados a tumorigênese e capacidade metastática, o que o torna um potencial marcador para CT tumorais em carcinomas (YANG et al., 2008; REGE e HAGOOD, 2006). A sua positividade está associada a células que exibem fenótipo tronco, que possuem a capacidade autorenovação e diferenciação (SCHUBERT et al., 2011; TANG et al., 2013). Assim, é possível que sua especificidade em tecidos saudáveis para células de origem mesenquimal tenha influenciado a imunopressão deste marcador, uma vez que sua marcação foi inferior no componente epitelial de todas as lesões estudadas quando comparada ao mesênquima.

A alta expressão do CD90 foi observada na cápsula do QO (75% dos casos) e do COC (100%), ao se comparar aos outros COs do desenvolvimento, sugerindo possivelmente maior população de CTMs nessas lesões. Não existem estudos avaliando a positividade do CD90 nos COs do desenvolvimento, somente em patologias associadas a inflamação crônica como as lesões periapicais, onde as CTMs parecem participar dos processos de regeneração e reparo tecidual, bem como na regulação do sistema imune local (ESTRELA et al., 2017; PADUANO et al., 2016; MARRELI et al., 2015; MARRELI et al., 2013; DOKIC et al., 2012). Entretanto, a expressão desta proteína quando associada a microambientes tumorais, levam a um comportamento mais agressivo do tumor, resultando em alta proliferação e alta capacidade de iniciação tumoral (SHU et al., 2019). Nesse sentido, observando os resultados encontrados, o QO exibiu maior imunopositividade para o CD90, que pode estar associado a uma maior capacidade proliferativa e de iniciação tumoral, uma vez que o QO está associado a um microambiente não inflamado. Este fato pode ajudar a explicar o comportamento biológico agressivo e maiores taxas de recidiva do QO. Estes resultados levantam alguns questionamentos quanto ao comportamento biológico associado as patologias estudadas, ao considerar que as CTMs juntamente às CTEps estão envolvidas e parecem contribuir para o estabelecimento e progressão dos COs do desenvolvimento.

Portanto, foi agrupado em nosso trabalho as lesões císticas de perfil agressivo (QO e COG) e não agressivo ou indolente (CD, COC, CGA, CPL, COB, COO), com a finalidade de comparar a expressão desses marcadores entre estes grupos. A participação das CT multipotentes na histogênese e patogênese dos COs do desenvolvimento não é clara e a imunorreatividade de seus marcadores, como o anti-CD44 e anti-CD90, podem servir como

ferramenta adicional no entendimento dos processos biológicos destas patologias. Cada proteína parece ter um importante papel nos eventos biológicos e participam de forma distinta nos diferentes compartimentos das lesões, influenciando o comportamento dessas patologias.

A imunopositividade para o CD44 revelou que o epitélio cístico pode estar relacionado a agressividade, pois 85,5% das lesões demonstraram alta expressão deste marcador. Para a cápsula, houve uma tendência a maior expressão nos cistos agressivos em comparação aos indolentes, porém sem significância estatística. Este resultado corrobora alguns autores (SHU et al., 2019; KECHIK e SIAR, 2018; MONROY et al., 2018; SALEHINEJAD et al., 2012), que relataram maior participação do componente epitelial no comportamento biológico, associado aos COs do desenvolvimento. A expressão positiva do CD44 esteve associada a maiores taxas de proliferação celular em QOs (HEIKINHEIMO et al., 2015; SWETHA et al., 2014; SALEHINEJAD et al., 2012), maior potencial de invasão tecidual local (SHU et al., 2019; KECHIK e SIAR, 2018) e alta capacidade osteolítica dos QOs (WANG e LIU, 2009), fatores que reforçam e justificam o comportamento localmente agressivo desta patologia.

Para o CD90, sua alta expressão foi verificada na cápsula cística, onde 63% das lesões consideradas agressivas apresentaram maior imunomarcagem. Por sua vez, o epitélio cístico não apresentou diferença entre os cistos agressivos e indolentes. Este fato pode ser justificado pela maior especificidade desta proteína às CTMs. A possível presença das CTMs na cápsula cística das lesões consideradas agressivas, como demonstrado pela importante marcação observada, pode estar relacionada ao comportamento biológico. Segundo Shu et al. (2019), a presença de CTMs em lesões tumorais, pode implicar em maior proliferação tecidual e propensão a iniciação tumoral, características que irão interferir de forma direta no tamanho da lesão e no aumento das taxas de recidiva, caracterizando um comportamento localmente agressivo. Entretanto, faltam estudos acerca das principais características da atuação do CD90 em microambientes não inflamatórios e não neoplásicos.

As duas proteínas estudadas, CD44 e CD90, são marcadores de células-tronco epiteliais e/ou mesenquimais. Os resultados encontrados no presente trabalho demonstram que as lesões odontogênicas podem ser importantes fontes de CT para a medicina regenerativa. Além disso, pode-se sugerir que a patogênese e desenvolvimento dos COs do desenvolvimento têm a participação das células-tronco epiteliais e mesenquimais, e que estas podem interferir não apenas no aspecto morfológicos dessas lesões, mas possivelmente no seu comportamento biológico.

7 CONCLUSÃO

A determinação do perfil clinicopatológico dos COs do desenvolvimento consiste em um grande desafio, uma vez que sua frequência se altera de acordo com a população estudada. Neste trabalho, as lesões císticas encontradas com maior frequência foram o QO e o CD. A média de idade geral de 32 anos, com os COGs apresentando maior tendência a pacientes mais velhos e os CDs a pacientes mais jovens. De uma maneira geral, não houve predileção por sexo, porém o QO e o CD parecem tender ao sexo masculino, enquanto o CGA e COC, ao feminino. A localização anatômica mais frequente foi a mandíbula posterior, onde preferencialmente foi realizado biopsia excisional. As lesões de maiores dimensões foram o QO, COC e COG.

A imunexpressão positiva foi observada para as duas proteínas (CD44 e CD90), nos componentes epiteliais e mesenquimais, o que indica que os COs do desenvolvimento expressam marcadores de CT multipotentes, as quais, possuem habilidade de autorenovação, e diferenciação em múltiplas linhagens celulares. O CD44 demonstrou expressão similar entre epitélio e mesênquima, com o QO, CD e COG representando as patologias que apresentaram maiores escores. Já o CD90, por ser mais representativo para as CTMs, apresentou no epitélio uma distribuição similar dentre os COs, porém na cápsula o QO e COC exibiram os maiores escores. Portanto, os COs do desenvolvimento podem ser considerados como novas fontes de CT, sendo ainda necessários mais estudos que tragam a caracterização bem como a participação das CTs na histogênese e patogênese deste grupo heterogêneo de patologias.

Este grupo de lesões císticas, possui similaridades, como a sua origem, porém apresentam diferenças, desde o aspecto morfológico do epitélio cístico, até o seu comportamento biológico, que varia de agressivo à indolente. Nesse trabalho, a expressão mais significativa do CD44 e CD90, seja em epitélio ou cápsula, nas lesões de perfil agressivo, sugere que as duas proteínas podem estar envolvidas no comportamento biológico dessas patologias, pois sua presença pode significar uma maior agressividade.

8 REFERÊNCIAS

Abdullah AN, Miyauchi S, Onishi A, Tanimoto K, Kato K. Differentiation of mouse-induced pluripotent stem cells into dental epithelial-like cells in the absence of added serum. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Animal*. 2019.

Abeyasinghe HR, Pollock SJ, Guckert NL, et al. The role of the THY1 gene in human ovarian cancer suppression based on transfection studies. *Cancer Genet Cytogenet* 2004; 149:1–10.

Acharya, P.S.; Majumdar, S.; Jacob, M.; Hayden, J.; Mrass, P.; Weninger, W.; Assoian, R.K.; Puré, E. Fibroblast migration is mediated by CD44-dependent TGF beta activation. *J Cell Sci*. 2008 May 1;121(Pt 9):1393-402.

Almqvist P, Carlsson SR. Characterization of a hydrophilic form of Thy-1 purified from human cerebrospinal fluid. *J Biol Chem*. 1988; 263(25):12709–15.

Alongi DJ, Yamaza T, Song Y, Fouad AF, Romberg EE, Shi S, Tuan RS, Huang GT. Stem/progenitor cells from inflamed human dental pulp retain tissue regeneration potential. *Regen Med* 2010; 5: 617–631.

Arakaki M, Ishikawa M, Nakamura T, Iwamoto T, Yamada A, Fukumoto E, Saito M, Otsu K, Harada H, Yamada Y, and Fukumoto S. Role of Epithelial-Stem Cell Interactions during Dental Cell Differentiation. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY* VOL. 287, NO. 13, pp. 10590–10601, March 23, 2012.

Araujo-Pires AC, Bigueti CC, Repeke CE, Rodini CO, Campanelli AP, Trombone APF, et al. Mesenchymal Stem Cells as Active Prohealing and Immunosuppressive Agents in Periapical Environment: Evidence from Human and Experimental Periapical Lesions. *JOE*. 2014 out; 40(10).

Bande CR, Prashant M, Sumbh B, Pandilwar P. Prevalence, treatment and recurrence of odontogenic keratocyst in central India. *J Maxillofac Oral Surg*. 2010; 9(2): 146–9.

Bandyopadhyay A, Nishat R, Behura SS, Panda A, Ramachandra S, Mohiddin G (2017) Cancer stem cell markers, SOX2 and OCT4 in ameloblastoma and keratocystic odontogenic tumor: an immunohistochemical study. *Int J Oral Health* 9:28–32.

Banerjee A, Kamath VV, Sundaram L, Krishnamurthy SS (2016) OCT4 and SOX2 are reliable markers in detecting stem cells in odontogenic lesions. *J Orofac Sci* 8:16–21.

Bapat SA. Epigenetic regulation of cancer stem cell gene expression. *Subcell Biochem.* 2013;61:419-34.

Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics, head and neck tumours. Lyon: IARC Press; 2005.

Basch, R. S. & Berman, J. W. (1982) *Eur. J. Immunol.* 12, 359-364.

Batra M, Wadhwa N, Mishra K. Cytologic diagnosis in benign odontogenic tumor with abundant calcification: A case report. *Acta Cytol* 2009;53:460-62.

BAUDRY A, ALLEAUME-BUTAUX A, DIMITROVA-NAKOV S, GOLDBERG M, SCHNEIDER B, LAUNAY J, KELLERMANN O. Essential Roles of Dopamine and Serotonin in Tooth Repair: Functional Interplay Between Odontogenic Stem Cells and Platelets. *STEM CELLS* 2015;33:2586—2595.

BEARDEN RN, HUGGINS SS, CUMMINGS KJ, SMITH R, GREGORY CA, SAUNDERS WB. In-vitro characterization of canine multipotent stromal cells isolated from synovium, bone marrow, and adipose tissue: a donor-matched comparative study. *Stem Cell Res Ther.* 2017 Oct 3;8(1):218.

Bilodeau EA, Acquafondata M, Barnes EL, Seethala RR (2015) A comparative analysis of LEF-1 in odontogenic and salivary tumors. *Hum Pathol* 46:255–259.

Bilodeau EA, Collins BM. Odontogenic cysts and neoplasms. *Surg Pathol Clin.* 2016; 10: 177–222.

Blanpain C e Fuchs E. Plasticity of epithelial stem cells in tissue regeneration. *Science.* 2014 June 13; 344(6189): 1242281. doi:10.1126/science.1242281.

Bouquot JE, Lense EC. The beginning of oral pathology, Part I: First dental journal reports of odontogenic tumors and cysts, 1839-1860. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;78:343-350.

Bradley JE, Ramirez G, Hagood JS. Roles and regulation of Thy-1, a context-dependent modulator of cell phenotype. *Biofactors.* 2009; 35(3): 258–65.

Bresler SC, Padwa BL, Granter SR. Nevoid basal cell carcinoma syndrome (gorlin syndrome). *Head Neck Pathol* 2016; 10 (2): 119-24.

BRIERE CE, JENSEN T, MCGRATH JM, YOUNG EE, FINCK C. Stem-Like Cell Characteristics from Breast Milk of Mothers with Preterm Infants as Compared to Mothers with Term Infants. *Breastfeed Med.* 2017 Apr;12:174-179.

Buchner A. The central (intraosseous) calcifying odontogenic cyst: an analysis of 215 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 1991; 49: 330–9.

Bulut E, Baş B, Dinçer D, Günhan Ö. Treatment of Maxillary Glandular Odontogenic Cyst Involving the Same Place of Previously Treated Traumatic Bone Cyst. *J Craniofac Surg.* 2016 Mar; 27(2): e150-3.

Castro-Núñez J. Cystic Conditions of the Jawbones: A Review of Early Classification Systems. *Journal of the History of Dentistry/Vol. 63, No. 2 Summer/Fall 2015.*

Chang JYF, Wang C, Jin CL, Yang C, Huang Y, Liu J, McKeenan WL, D'Souza RN, Wang F. Self-renewal and multilineage differentiation of mouse dental epithelial stem cells. *Stem Cell Res.* 2013; 11: 990–1002.

Chatterjee S: Cytokeratin in health and disease. *J Oral Maxillofac Surg* 3: 198-202, 2012. 1 9 Selvi F, Tekkesin MS, Cakarer S,

CHEN L, LONG D, HUANG S, YANG Q, HAO J, WU N, PENG L. Evaluation of a novel poly(amidoamine) with pendant aminobutyl group on the cellular properties of transfected bone marrow mesenchymal stem cells. *J Biomed Mater Res A.* 2017

Chi AC, Owings Jr JR, Muller S. Peripheral odontogenic keratocyst: report of two cases and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005; 99: 71–8.

Chrcanovic BR, Gomez RS. Gingival cyst of the adult, lateral periodontal cyst, and botryoid odontogenic cyst: an updated systematic review. *Oral Dis.* 2017; 25(1): 26-33.

Chrepa V, Henry MA, Daniel BJ, Diogenes A. Delivery of Apical Mesenchymal Stem Cells into Root Canals of Mature Teeth *J Dent Res.* 2015 Dec;94(12):1653-9.

Costea DE, Tsinkalovsky O, Vintermyr OK, Johannessen AC, Mackenzie IC. Cancer stem cells – new and potentially important targets for the therapy of oral squamous cell carcinoma. *Oral Diseases* (2006) 12, 443–454.

Daniels JS. Recurrent calcifying odontogenic cyst involving the maxillary sinus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;98:660-4.

de Arruda JAA, Monteiro JLGC, Abreu LG, Silva LVO, Schuch LF, Noronha MS, Callou G, Moreno A, Mesquita RA. Calcifying odontogenic cyst, dentinogenic ghost cell tumor and ghost cell odontogenic carcinoma: a systematic review. *J oral pathol med* 2018 sep; 47(8):721-730.

Del Corso G, Righi A, Bombardi M, Rossi B, Dallera V, Pelliccioni GA, Marchetti C, and Foschini MP. Jaw Cysts Diagnosed in an Italian Population Over a 20-Year Period. *International Journal of Surgical Pathology*. 2014: 1-8.

Denaxa M, Sharpe PT, Pachnis V. The LIM homeodomain transcription factors Lhx6 and Lhx7 are key regulators of mammalian dentition. *Dev Biol*. 2009 Sep 15;333(2):324-36.

Dokic J, Tomic S, Cerovic S, Todorovic V, Rudolf R, Colic M. Characterization and immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells from periapical lesions. *J Clin Periodontol*. 2012; 39: 807–816

Dominici M, Le Blanc K, Mueller et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006; 8:315-317.

Dong Q, Pan S, Sun LS, et al. Orthokeratinized odontogenic cyst: a clinicopathologic study of 61 cases. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134(2):271–5.

Estrela C, Freitas Silva BS, Silva JA, Yamamoto-Silva FP, Pinto-Júnior DD, Gomez RS. Stem Cell Marker Expression in Persistent Apical Periodontitis. *J Endod*. 2017; 43(1): 63-68

Estrela C, Souza POC, Barbosa MG, de Carvalhosa AA, Batista AC, Junior DSP, Yamamoto-Silva FP, and Silva BSF. Mesenchymal Stem Cell Marker Expression in Periapical Abscess. *J Endod* 2019;45:716–723.

Fowler CB, Brannon B, Kessler HP, et al. Glandular odontogenic cysts analysis of 46 cases with special emphasis on microscopic criteria for diagnosis. *Head Neck Pathol* 2011; 5(4):364-75.

Fries KM, Blieden T, Looney RJ, et al. Evidence of fibroblast heterogeneity and the role of fibroblast subpopulations in fibrosis. *Clin Immunol Immunopathol* 1994; 72:283–292.

Fuchs E, Raghavan S. *Nature Rev. Genet* 2002;3(199)

Fuchs E, Segre JA. Stem cells: a new lease on life. *Cell* 2000;100: 143–52

GABRIELIAN A, NEUMANN E, GELINSKY M, RÖSEN-WOLFF A. Metabolically conditioned media derived from bone marrow stromal cells or human skin fibroblasts act as effective chemoattractants for mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2017 Sep 29;8(1):212.

Gaitán-Cepeda LA, Quezada-Rivera D, Tenorio-Rocha F, Leyva-Huerta ER. Reclassification of odontogenic keratocyst as tumour. Impact on the odontogenic tumours prevalence. *Oral Dis* 16: 185-187, 2010.

Gallatin, W. M., Weissman, I. L. & Butcher, E. C. cell-surface molecule involved in organ-specific homing of lymphocytes. *Nature* 304, 30–34 (1983).

Gardner DG, Kessler HP, Morency R, Schaffner DL (1988), The glandular odontogenic cyst: an apparent entity. *J Oral Pathol.* 17:359-66

Goldstein, L. A. et al. A human lymphocyte homing receptor, the hermes antigen, is related to cartilage proteoglycan core and link proteins. *Cell* 56, 1063–1072 (1989).

Gorlin RJ, Pindborg JJ, Clausen FP, Vickers RA. The calcifying odontogenic cyst – a possible analogue of the cutaneous calcifying epithelioma of Malherbe. An analysis of fifteen cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1962; 15: 1235–43.

Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; 97(25): 13625-30.

Habibi A, Saghravanian N, Salehinejad J, Jafarzadeh H. Thirty Years Clinicopathological Study of 60 Calcifying Cystic Odontogenic Tumors in Iranian Population. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, May-June 2011;12(3):171-173.

Haeryfar SM, Al-Alwan MM, Mader JS, Rowden G, West KA, Hoskin DW. Thy-1 signaling in the context of costimulation provided by dendritic cells provides signal 1 for T cell proliferation and cytotoxic effector molecule expression, but fails to trigger delivery of the lethal hit. *J Immunol* 2003; 171:69–77.

Haeryfar SM, Hoskin DW. Thy-1: more than a mouse pan-T cell marker. *J Immunol* 2004; 173:3581–3588.

Hagood JS, Prabhakaran P, Kumbla P, Salazar L, Macewen MW, Barker TH, et al. Loss of fibroblast Thy-1 expression correlates with lung fibrogenesis. *Am J Pathol*. 2005; 167(2): 365-79.

Harada H, Mitsuyasu T, Toyono T, Toyoshima K. Epithelial stem cells in teeth. *Odontology*. 2002; 90(1): 1-6.

Hasegawa D, Ochiai-Shino H, Onodera S, Nakamura T, Saito A, Onda T, et al. (2017) Gorlin syndrome-derived induced pluripotent stem cells are hypersensitive to hedgehog-mediated osteogenic induction. *PLoS ONE* 12(10): e0186879.

He HT, Naquet P, Caillol D, Pierres M. Thy-1 supports adhesion of mouse thymocytes to thymic epithelial cells through a Ca²(p)-independent mechanism. *J Exp Med* 1991; 173:515–518

Heikinheimo K, Kurppa KJ, Laiho A, Peltonen S, Berdal A, Bouattour A, Ruhin B, Catón J, Thesleff I, Leivo I, Morgan PR et al (2015) Early dental epithelial transcription factors distinguish ameloblastoma from keratocystic odontogenic tumor. *J Dent Res* 94:101–111.

Herrlich, P. et al. (1993). CD44 and splice variants of CD44 in normal differentiation and tumor progression. In *Cell Adhesion Molecules* (ed. M. E. Hemler and E. Mihich). pp. 265-288. Plenum Press, New York. activation. *J. Cell Sci*. 2008, 121, 1393–1402. [CrossRef]

Hong SP, Ellis GL, Hartman KS. Calcifying odontogenic cyst. A review of ninety-two cases with re-evaluation of their nature as cysts or neoplasms, the nature of ghost cells and subclassification. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 72: 56–64.

Hosgor H, Tokuc B, Kan B, Coskunes FM. Evaluation of biopsies of oral and maxillofacial lesions: a retrospective study. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg* 2019;45:316-323)

Huang GT, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res*. 2009; 88(9): 792-806.

Hyman R, Stallings V. Complementation patterns of Thy-1 variants and evidence that antigen loss variants "pre-exist" in the parental population. *J Natl Cancer Inst*. 1974 Feb;52(2):429-36.

Idzerda, R. L., Carter, W. G., Nottenburg, C., Wayner, E. A., Gallatin, W. M. & St. John, T. Isolation and DNA sequence of a cDNA clone encoding a lymphocyte adhesion receptor for high endothelium. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86, 4659–4663 (1989).

Jaafari-Ashkavandi Z, Tuyeh AA, Assar S. Immunohistochemical Expression of CDC7 in Dentigerous Cyst, Odontogenic Keratocyst and Radicular Cyst. *Acta Medica (Hradec Králové)* 2018; 61(1): 17–21.

Jaeger F, Noronha MSd, Silva MLV, Amaral MBF, Grossmann SdMC, Horta MCR, Souza PEAd, Aguiar MCFd, Mesquita RA, Prevalence profile of odontogenic cysts and tumors on Brazilian sample after the reclassification of odontogenic keratocyst, *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* (2017), doi: 10.1016/j.jcms.2016.12.011.

Johnson NR, Gannon OM, Savage NW, Batstone MD. Frequency of odontogenic cysts and tumors: a systematic review. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry* (2013), 4, 1–7.

Jordan AR, Racine RR, Hennig MJ, Lokeshwar VB. The Role of CD44 in Disease Pathophysiology and Targeted Treatment. *Front Immunol.* 2015 Apr 21;6:182.

Joseph BK, Ali MA, Dashti H, Sundaram DB. Analysis of oral and maxillofacial pathology lesions over na 18-year period diagnosed at Kuwait University. *J Invest Clin Dent.* 2019;00:e12432.

Juuri E, Isaksson S, Jussila M, Heikinheimo K, Thesleff I (2013a) Expression of the stem cell marker, SOX2, in ameloblastoma and dental epithelium. *Eur J Oral Sci* 121:509–516.

Kammer PV, Mello FW, Rivero ERC. Comparative analysis between developmental and inflammatory odontogenic cysts: retrospective study and literature review. *Oral and Maxillofacial Surgery.* 2019

Kaplan I, Anavi Y, Manor R, et al. The use of molecular markers as an aid in the diagnosis of glandular odontogenic cyst. *Oral Oncol* 2005; 41(9):895–902.

Karpus ON, Westendorp BF, Vermeulen JLM, Muncan V, Wildenberg ME, Brink GRvd. Colonic CD90+ Crypt Fibroblasts Secrete Semaphorins to Support Epithelial Growth. *Cell Reports* 26, 3698–3708, March 26, 2019 ^a 2019 Amsterdam UMC.

Kechik KA¹, Siar CH². Spatial distribution of osteopontin, CD44v6 and podoplanin in the lining epithelium of odontogenic keratocyst, and their biological relevance. *Ann Diagn Pathol.* 2018 Feb;32:17-22.

Khalifa GA, Shokier H, Abo-Heger E. Evaluation of neoplastic nature of keratocystic odontogenic tumor versus ameloblastoma. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2010; 22(1): 61-72.

Kidwai F, Costea DE, Hutchison I, Mackenzie I. The effects of CD44 down-regulation on stem cell properties of head and neck cancer cell lines. *J Oral Pathol Med*. 2013; 42(9): 682–90.

Killeen N. T-cell regulation: Thy-1 - hiding in full view. *Curr Biol*. 1997; 7(12):R774–7.

Kitajima K, Das R, Liang X, Neppelberg E, Johannessen AC, Costea DE, Igarashi M. Isolation and characterization of cells derived from human epithelial rests of Malassez. *Odontology*. 2018

Kobolak J, Dinnyes A, Memic A, Khademhosseini A, Mobasheri A. Mesenchymal stem cells: Identification, phenotypic characterization, biological properties and potential for regenerative medicine through biomaterial micro-engineering of their niche. *Methods*. 2016; 99: 62-8.

Koller EL, Baird GR. The influence of the dental papilla on the development of tooth shape in embryonic mouse tooth germs. *J Embryol Exp Morphol*. 1969; 21: 131–48.

Koseoglu BG, Atalay B, Erdem MA. Odontogenic cysts: a clinical study of 90 cases. *J Oral Sci*. 2004;46:253-257.

Kramer IRH, Pindborg JJ, Shear M. Histological typing of odontogenic tumours. WHO, 2nd edn. International histological classification of tumours. Berlin: Springer-Verlag, 1992; 7–9.

Krishnamurthy A, Sherlin HJ, Ramalingam K, Natesan A, Premkumar P, Ramani P, Chandrasekar T. Glandular Odontogenic Cyst: Report of Two Cases and Review of Literature. *Head Neck Pathol*. 2009 Jun;3(2):153-8. doi: 10.1007/s12105-009-0117-2. PubMed | Google Scholar

Lo Muzio L, Mascitti M, Santarelli A, Rubini C, Bambini F, Procaccini M, Bertossi D, Albanese M, Bondi V and Nocini PF. Cystic lesions of the jaws: a retrospective clinicopathologic study of 2030 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2017;124:128-138.

Ledesma-Montes C, Gorlin RJ, Shear M, Prætorius F, Mosqueda-Taylor A, Altini M, Unni K, de Almeida OP, Bregni RC, de León ER, Phillips V, Delgado-Azanero W, Meneses-Garcia A. International collaborative study on ghost cell odontogenic tumours: calcifying cystic odontogenic tumour, dentinogenic ghost cell tumour and ghost cell odontogenic carcinoma. *J Oral Pathol Med* (2008) 37: 302–308.

Leonardi R, Lanteri E, Stivala F, and Travali S. Immunolocalization of CD44 adhesion molecules in human periradicular lesions. *ORAL SURGERY ORAL MEDICINE ORAL PATHOLOGY* Volume 89, Number 4, 2000: 480-485.

Li X, Zhang S, Z Zhang, Guo W, Chen G, Tian W. Development of immortalized Hertwig's epithelial root sheath cell lines for cementum and dentin regeneration. *Stem Cell Research & Therapy* (2019) 10:3

Li Z, Chen K, Jiang P, Zhang X, Li X and Li Z. CD44v/CD44s expression patterns are associated with the survival of pancreatic carcinoma patients. *Diagnostic Pathology* 2014, 9:79

Liao J, Al Shahrani M, Al-Habib M, Tanaka T, Huang G. Cells Isolated from Inflamed Periapical Tissue Express Mesenchymal Stem Cell Markers and Are Highly Osteogenic. *Journal of endodontics* 37(9):1217-24 · September 2011 with 76 Reads

Lin G, Liu G, Banie L, Wang G, Ning H, Lue TF, et al. Tissue distribution of mesenchymal stem cell marker Stro-1. *Stem Cells Dev.* 2011 out; 20(10): 1747-52.

Liu Y, Zheng Y, Ding G, Fang D, Zhang C, Bartold Pm, Gronthos S, Shi S, Wang S. Periodontal ligament stem cell-mediated treatment for periodontitis in miniature swine. *Stem Cells.* 2008; 26(4): 1065-73.

Schmidt M, Gutknecht D, Anastassiadis K, Eckes B, Anderegg U, Saalbach A. Thy-1/ α 3 integrin interaction-induced apoptosis of dermal fibroblasts is mediated by up-regulation of FasL expression. *J. Invest. Dermatol.* 136, 526–529 (2016).

Ma, L.; Dong, L.; Chang, P. CD44v6 engages in colorectal cancer progression. *Cell Death Dis.* 2019, 10, 30.

Mackay, C. R. et al. (1994). Expression and modulation of CD44 variant isoforms in humans. *J. CellBiol.* 124,71-82.

Maino VC, Norcross MA, Perkins MS, Smith RT. Mechanism of Thy-1-mediated T cell activation: roles of Fc receptors, T200, Ia, and H-2 glycoproteins in accessory cell function. *J Immunol* 1981; 126:1829–1836.

Mamabolo M, Noffke C, Raubenheimer E. Odontogenic tumours manifesting in the first two decades of life in a rural African population sample: a 26 year retrospective analysis. *Dentomaxillofac Radiol.* 2011; 40: 331–337.

Mannik LA, Chin-Yee I, Sharif S, Van Kaer L, Delovitch TL, Haeryfar SM. Engagement of glycosylphosphatidylinositol- anchored proteins results in enhanced mouse and human invariant natural killer T cell responses. *Immunology* 2001; 132:361–375

Manor R, Anavi Y, Kaplan I, Calderon S. Radiological features of glandular odontogenic cyst. *Dentomaxillofac Radiol.* 2003 Mar;32(2):73-9

Marrelli M, Codispoti B, Shelton RM, Scheven BA, Cooper PR, Tatullo M, Paduano F. Dental Pulp Stem Cell Mechanoresponsiveness: Effects of Mechanical Stimuli on Dental Pulp Stem Cell Behavior. *ental Pulp Stem Cell Mechanoresponsiveness: Effects of Mechanical Stimuli on Dental.* *Front Physiol.* 2018 Nov 26;9:1685

Marrelli M, Paduano F, Tatullo M. Cells Isolated from Human Periapical Cysts Express Mesenchymal Stem Cell-like Properties. *Int J Biol Sci.* 2013 nov 16; 9(10): 1070-8

Marrelli M, Paduano F, Tatullo M. Human Periapical Cyst–Mesenchymal Stem Cells Differentiate Into Neuronal Cells. *Journal of Dental Research.* 2015: 1 – 10.

Matsumura Y, Tarin D. Significance of CD44 gene products for cancer diagnosis and disease evaluation. *Lancet* 1992;340:1053–1058

Menditti D1, Laino L, Mezzogiorno A, Sava S, Bianchi A, Caruso G, Di Maio L, Baldi A. Oral benign fibrous histiocytoma: two case reports. *Cases J.* 2009 Dec 17;2:9343.

Miura M, Gront hos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100(10): 5807-12.

Prosdócimo ML, Agostini M, Romañach MJ, de Andrade BAB. A retrospective analysis of oral and maxillofacial pathology in a pediatric population from Rio de Janeiro–Brazil over a 75-year period. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2018 Sep 1;23 (5):e511-7.

Mohajerani H, Esmaeelinejad M, Sabour S, Aghdashi F, Dehghani N. Diagnostic Factors of Odontogenic Cysts in Iranian Population: A Retrospective Study Over the Past Two Decades. *Iran Red Crescent Med J.* 2015; 17(6): e21793.

Monroy EAC, Santos PPA, Lopes MLDS, Mosqueda-Taylor A, Pinto LP, Souza LB. Oct-4 and CD44 in epithelial stem cells like of benign odontogenic lesions. *Histochem Cell Biol.* 2018; 150(4): 371-377.

Moraes DA, Sibov TT, Pavon LF, Alvim PQ, Bonadio RS, Silva JR, Pic-Taylor A, Toledo OA, Marti LC, Azevedo RB and Oliveira DM. A reduction in CD90 (THY-1) expression results in increased differentiation of mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Research & Therapy* (2016) 7:97

Morrison SJ, Shah NM, Anderson DJ. Regulatory mechanisms in stem cell biology. *Cell*. 1997; 88: 287–98.

Morsczeck C, Gotz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kuhn U, Mohl C, et al. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol*. 2005; 24(2): 155-65.

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

Mosqueda-Taylor A. New finding and controversies in odontogenic tumor. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 13: 555-558, 2008.

Naik PP, Panda PK, and Bhutia SK. Chapter 11: Oral Cancer Stem Cells Microenvironment. Springer International Publishing AG. 2017. A. Birbrair (ed.), *Stem Cell Microenvironments and Beyond*. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1041.

NAM SM, MAENG YS, KIM EK, SEO KY, LEW H. Ex Vivo Expansion of Human Limbal Epithelial Cells Using Human Placenta-Derived and Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells Int*. 2017;2017:4206187

Narang RS, Manchanda AS, Arora P, Randhawa K. Dentigerous cyst of inflammatory origin—a diagnostic dilemma. *Annals of Diagnostic Pathology* 16 (2012) 119–123.

Noffke C e Raubenheimer EJ. The glandular odontogenic cyst: clinical and radiological features; review of the literature and report of nine cases. *Dentomaxillofac Radiol*. 2002. Nov; 31(6): 333-8.

Nuñez-Urrutia S, Figueiredo R and Gay-Escoda C. Retrospective clinicopathological study of 418 odontogenic cysts. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010; 15(5): e767-e773.

Ochsenius G, Escobar E, Godoy L, Peñafiel C. Odontogenic Cysts: Analysis of 2.944 cases in Chile. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2007;12: E85-91.

OH I, KWON K. Concise Review: Multiple Niches for Hematopoietic Stem Cell Regulations. *STEM CELLS* 2010;28:1243–1249.

PADUANO F, MARRELLI M, PALMIERI F, TATULLO M. CD146 Expression Influences Periapical Cyst Mesenchymal Stem Cell Properties. *Stem Cell Rev*. 2016.

Parfitt, G. J., Geyfman, M., Xie, Y. & Jester, J. V. Characterization of quiescent epithelial cells in mouse meibomian glands and hair follicle/sebaceous glands by immunofluorescence tomography. *The Journal of investigative dermatology* 135, 1175–1177.

Park JC, Kim JM, Jung IH, Kim JC, Choi SH, Cho KS, Kim CS. Isolation and characterization of human periodontal ligament (PDL) stem cells (PDLSCs) from the inflamed PDL tissue: in vitro and in vivo evaluations. *J Clin Periodontol* 2011; 38: 721–731.

Pereira FAC, Vidal MTA, Campos PSF, Neto AAPV, Andrade LCS, Fernandes A, Santos JN. Orthokeratinized odontogenic cyst: Areport of two cases in the mandible. *Rev Odonto Cienc* 2012; 27 (2):174-178.

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

Prætorius F, Ledesma-Montes C. Calcifying cystic odontogenic tumour. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, eds. *World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of head and neck tumours*. Lyon: IARC Press, 2005:313.

Prætorius F, Ledesma-Montes C. Dentinogenic ghost cell tumour. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, eds. *World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of head and neck tumours*. Lyon: IARC Press, 2005; 314.

Purohit S, Shah V, Bhakhar V, Harsh A. Glandular odontogenic cyst in maxilla: A case report and literature review. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2014 May;18(2):320-3.

Raitz R, Assuncao Jr JN, Correa L, Fenyo-Pereira M. Parameters in panoramic radiography for differentiation of radiolucent lesions. *J Appl Oral Sci*. 2009; 17: 381–7.

Rawson KK, Patel N, Sandesara Y. Proliferative ameloblastomatous calcifying cystic odontogenic tumor of the mandible: a rare histological variant. *J Indian Acad Oral Med Radiol* 2015 Nov;27(2):278-281

Rege TA, Hagood JS. Thy-1 as a regulator of cell-cell and cell-matrix interactions in axon regeneration, apoptosis, adhesion, migration, cancer, and fibrosis. *FASEB J*. 2006; 20(8): 1045–54.

Reif, A. E. & Allen, J. M. (1964) *J. Exp. Med.* 120, 413-433.

Reif, A. E. & Allen, J. M. (1966) *Nature (London)* 209, 521-523.

Rompolas P, Mesa KR, Greco V. Spatial organization within a niche as a determinant of stem-cell fate. *Nature*. 2013 Oct 24;502(7472):513-8.

Ruiz P, Schwarzler C and Günthert U. CD44 isoforms during differentiation and development. *bioEssays* vol. 17 no. 1, 1995: 17- 24

Saalbach A, Haustein UF, Anderegg U. A ligand of human thy-1 is localized on polymorphonuclear leukocytes and monocytes and mediates the binding to activated thy-1-positive microvascular endothelial cells and fibroblasts. *J Invest Dermatol* 2000; 115:882–888.

Salehinejad J, Saghafi S, Sharifi N, Zare-Mahmoodabadi R, Saghravanian N, Ghazi N, Shakeri MT (2012) Evaluation of osteopontin and CD44v6 expression in odontogenic cystic lesions by immunohistochemistry. *Pathol Res Pract* 208:410–414

SARGIACOMO C, EL-KEHDY H, DALLMEIER K, DE KOCK J, HERNANDEZ-KELLY C, ROGIERS V, ORTEGA A, NEYTS J, SOKAL E, NAJIMI M. Up regulation of sodium taurocholate cotransporter polypeptide during hepatogenic differentiation of umbilical cord matrix mesenchymal stem cells facilitates hepatitis B entry. *Stem Cell Res Ther*. 2017 Sep 29;8(1):204.

Sawant S, Gokulan R, Dongre H, Vaidya M, Chaukar D, Prabhash K, Ingle A, Joshi S, Dange P, Joshi S, Singh AK, Makani V, Sharma S, Jeyaram A, Kane S, D’Cruz A (2016) Prognostic role of Oct4, CD44 and c-Myc in radio-chemo-resistant oral cancer patients and their tumourigenic potential in immunodeficient mice. *Clin Oral Investig* 20:43–56.

Schubert K, Polte T, Bonisch U, Schader S, Holtappels R, Hildebrandt G, et al. Thy-1 (CD90) regulates the extravasation of leukocytes during inflammation. *Eur J Immunol*. 2011; 41: 645–56.

Screaton, G. R., Bell, M. V., Jackson, D. G., Cornelis, F.B., Gerth, U. & Bell, J.I. Genomic structure of DNA encoding the lymphocyte homing receptor CD44 reveals at least 12 alternatively spliced exons. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 89, 12160–12164 (1992).

Seki T, Spurr N, Obata F, Goyert S, Goodfellow P, Silver J. The human Thy-1 gene: structure and chromosomal location. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985; 82(19):6657–61.

Senbanjo LT, Chellaiah MA. CD44: A Multifunctional Cell Surface Adhesion Receptor Is a Regulator of Progression and Metastasis of Cancer Cells. *Front Cell Dev Biol.* 2017 Mar 7;5:18. doi: 10.3389/fcell.2017.00018. eCollection 2017.

Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet.* 2004; 364: 149-155.

Shaikh MV, Kala M, Nivsarkar M. CD90 a potential cancer stem cell marker and a therapeutic target. *Cancer Biomark.* 2016; 16: 301-307.

Sharifian MJ, Khalili M. Odontogenic cysts: a retrospective study of 1227 cases in an Iranian population from 1987 to 2007. *J Oral Sci.* 2011;53:361-367.

Shear M, Speight P (2007). Gingival cyst of adults, lateral periodontal cyst, botryoid odontogenic cyst. In: *Cysts of the oral and maxillofacial regions.*

Shetty RM e Dixit U. Dentigerous Cyst of Inflammatory Origin. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, September-December 2010;3(3):195-198

Shu X, Liu H, Pan Y, Sun L, Yu L, Sun L, Yang Z, Ran Y. Distinct biological characterization of the CD44 and CD90 phenotypes of cancer stem cells in gastric cancer cell lines. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 2019

Silva FP, Dias A, Coelho CA, Guerra EN, Marques AE, Decurcio DA, Mantesso A, Cury SE, Silva BS. Expression of CD90 and P75NTR stem cell markers in ameloblastomas: a possible role in their biological behavior. *Braz Oral Res.* 2016; 30: e109.

Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS One.* 2006; 1: e79.

Speight P, Devillers P, Li T-J, Odell EW, Wright JM. Odontogenic Keratocyst. In: El-Nagger AK, Ohan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ, eds. *WHO Classification of Head and Neck Tumours WHO/IARC Classification of Tumors, 4th Edition, Volume 9, 2017, pp. 235–236.*

Stamenkovic, I., Amiot, M., Pesando, J. M. & Seed, B. A lymphocyte molecule implicated in lymph node homing is a member of the cartilage link protein family. *Cell* 56, 1057–1062 (1989).

Swetha P, Ramesh K, Madhavan N, Veeravarmal V, Sameera A. Expression of inducible nitric oxide synthase in the epithelial linings of odontogenic keratocyst, dentigerous cyst and radicular cyst: a pathological insight. *Ann Med Health Sci Res.* 2014; 4(4): 583–9.

Takata T, Lu Y. Ghost cell odontogenic carcinoma. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart HP, Sidransky D, eds. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of head and neck tumours. Lyon: IARC Press, 2005; 293.

Tamiolakis P, Thermos G, Tosios KI, Sklavounou-Andrikopoulou A. Demographic and Clinical Characteristics of 5294 Jaw Cysts: A Retrospective Study of 38 Years. *Head and Neck Pathology*. 2019

Tang KH, Dai YD, Tong M, Chan YP, Kwan PS, Fu L, et al. A CD90⁺ Tumor-Initiating Cell Population with an Aggressive Signature and Metastatic Capacity in Esophageal Cancer. *Cancer Res*. 2013; 73(7): 2322-32.

Tekkesin MS, Olgac V, Aksakalli N, Alatli C. ODONTOGENIC AND NONODONTOGENIC CYSTS IN ISTANBUL: ANALYSIS OF 5088 CASES. *Head Neck* 00: 000–000, 2011

Ten Cate AR. Oral histology. 8nd ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 2013.

Thapa R, Wilson GD. The Importance of CD44 as a Stem Cell Biomarker and Therapeutic Target in Cancer. *Stem Cells Int*. 2016; 2016:2087204.

Thesleff I and Tummers M. Tooth organogenesis and regeneration (January 31, 2009), *StemBook*, ed. The Stem Cell Research Community, *StemBook*.

Thompson LDR. Dentigerous cyst. *PATHOLOGY CLINIC*. Volume 97, Number 3. From the Department of Pathology, Southern California Permanente Medical Group, Woodland Hills Medical Center, Woodland Hills, Calif.

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

Tiveron MC, Barboni E, Pliego Rivero FB, et al. Selective inhibition of neurite outgrowth on mature astrocytes by Thy-1 glycoprotein. *Nature* 1992; 355:745–748.

Tsuneki M, Cheng J, Maruyama S, Ida-Yonemochi H, Nakajima M, Saku T (2008) Perlecan-rich epithelial linings as a background of proliferative potentials of keratocystic odontogenic tumor. *J Oral Pathol Med* 37(5):287–293

Tumbar T, Guasch G, Greco V, Blanpain C, Lowry WE, Rendl M, and Fuchs E. Defining the Epithelial Stem Cell Niche in Skin. *Science*. 2004 January 16; 303(5656): 359–363.

Vitetta ES, Uhr JW. Dynamics of immunoglobulin and alloantigens on lymphocytes. *J Reticuloendothel Soc.* 1974 Mar;15(3):247-53.

Wang YP, Liu BY (2009) High expression of osteopontin and CD44v6 in odontogenic keratocysts. *J Formos Med Assoc* 108:286–292.

Williams AF, Gagnon J. Neuronal cell Thy-1 glycoprotein: homology with immunoglobulin. *Science.* 1982; 216(4547):696–703. [PubMed: 6177036]

Wirth, K. etal. (1993). Expression of CD44 isoforms carrying metastasis associated sequences in newborn and adult rats. *Eur. J. Cancer* 29A, 1 172-1177.

Wright JM (1981). The odontogenic keratocyst orthokeratinized variant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 51:609-18. PMID:6166916

Wysocki GP, Brannon RB, Gardner DG, Sapp P (1980). Histogenesis of the lateral periodontal cyst and the gingival cyst of the adult. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 50: 327-334.

Xiong J, Mrozik K, Gronthos S, and Bartold PM. Epithelial Cell Rests of Malassez Contain Unique Stem Cell Populations Capable of Undergoing Epithelial–Mesenchymal Transition. *STEM CELLS AND DEVELOPMENT.* Volume 21, Number 11, 2012.

YAN M, LIU X, DANG Q, HUANG H, YANG F, LI Y. Intra-Articular Injection of Human Synovial Membrane-Derived Mesenchymal Stem Cells in Murine Collagen-Induced Arthritis: Assessment of Immunomodulatory Capacity In Vivo. *Stem Cells Int.* 2017;2017:9198328.

Yan, Y.; Zuo, X.; Wei, D. Concise review: Emerging role of CD44 in cancer stem cells: A promising biomarker and therapeutic target. *Stem Cells Transl. Med.* 2015, 4, 1033–1043.

YANG Z, CAO H, GAO S, YANG M, LYU J, TANG K. Effect of Tendon Stem Cells in Chitosan/ β -Glycerophosphate/Collagen Hydrogel on Achilles Tendon Healing in a Rat Model. *Med Sci Monit.* 2017 Sep 27;23:4633-4643.

Yang ZF, Ho DW, Ng MN, Lau CK, Yu WC, Ngai P, Chu PW, Lam C T, Poon RT and Fan ST: Significance of CD 90+ Câncer stem cells in human liver cancer. *Cancer Cell* 13: 153-166, 2008.

Yang SB, Pang BX, Xue J, Yuan RT. Epigallocatechin-3-gallate inhibits proliferation and induces apoptosis in odontogenic keratocyst keratinocytes. *Oral Dis.* 2019 May;25(4):1175-1184.

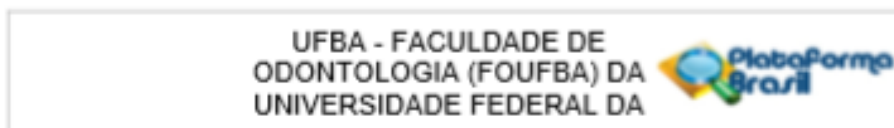
Yu M, He P, Liu Y, He Y, Du Y, Wu M, Zhang G, Yang C, Gao F. Hyaluroan-regulated lymphatic permeability through S1P receptors is crucial for cancer metastasis. *Med Oncol.* 2015 Jan;32(1):381.

Zhang F, Schmidt WG, Hou Y, Williams AF, Jacobson K. Spontaneous incorporation of the glycosyl-phosphatidylinositol-linked protein Thy-1 into cell membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992; 89(12):5231–5.

Zhang, H. et al. Defining the localization and molecular characteristic of minor salivary gland label-retaining cells. *Stem cells* 32, 2267–2277 (2014).

Zöllner M. CD44: can a cancer-initiating cell profit from an abundantly expressed molecule? *NATURE REVIEWS | CANCER. VOLUME 11 | APRIL 2011: 254-267.*

ANEXO A



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IMUNOEXPRESSIONÃO DE MARCADORES DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS EM CISTOS E TUMORES ODONTOGÊNICOS

Pesquisador: Ágida Cristina Gomes Henriques Leitão

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 10607719.8.0000.5024

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.244.093

Apresentação do Projeto:

Os cistos e tumores odontogênicos exibem características morfológicas bastante diversificadas, em função da pluripotencialidade dos tecidos odontogênicos e demonstram também comportamento biológico variado, de forma que alguns cistos podem apresentar, por vezes, comportamento mais agressivo como os tumores. Diversos fatores biológicos estão associados à progressão dessas lesões e tentam explicar comportamentos biológicos mais agressivos. Dentre os fatores mais recentemente estudados, destacam-se as células-tronco. Tem sido demonstrada a presença e participação de células-tronco tumorais no desenvolvimento de tumores benignos e malignos.

Objetivo da Pesquisa:

Identificar a presença de células-tronco mesenquimais (CTMs), através da expressão imunohistoquímica de STRO-1, CD90, CD146 e CD44 em uma série de casos de cistos e tumores odontogênicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Todas as informações obtidas serão sigilosas, para evitar qualquer risco de constrangimento, o participante não será identificado em nenhum momento. Os dados do trabalho serão guardados em local seguro e a divulgação dos resultados será feita de forma sigilosa. Existe o risco de extravio ou danificação de fichas clínicas, lâmina ou bloco da lesão que será evitado pelo cuidado.

Endereço: Av. Anísio Pinho nº 62 - Sala do Comitê de Ética - 4º andar
Bairro: Canaleta **Cidade:** 40.110-150
UF: BA **Município:** SALVADOR
Telefone: (71)3293-8965 **Fax:** (71)3293-8965 **E-mail:** cep@ufba.br

UFBA - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA (FOUFBA) DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA



Continuação do Parecer: 3.244.093

organização e responsabilidade dos profissionais que irão manusear esse material e que já fazem isso rotineiramente.

Este trabalho terá como benefícios: proporcionar o maior conhecimento sobre a atuação das células-tronco nestas lesões aos Dentistas, identificação de uma nova fonte de células-tronco, possibilitando o desenvolvimento de novos tratamentos no futuro.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de grande importância científica e com possibilidade de execução.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios foram apresentados

Recomendações:

No preenchimento das informações básicas do projeto foi assinalado que Não haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc), no entanto foram acessadas as informações dos prontuários. Recomenda-se reavaliar o preenchimento deste campo.

Conclusões ou Pendências e Lista de inadequações:

Sem pendências

Considerações Finais e critério do CEP:

A plenária acompanha o parecer do relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PIB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1323290.pdf	29/03/2019 13:45:42		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	29/03/2019 13:43:39	Aguida Cristina Gomes Henriques Leitão	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CEP.docx	29/03/2019 13:43:18	Aguida Cristina Gomes Henriques Leitão	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	29/03/2019 13:42:48	Aguida Cristina Gomes Henriques Leitão	Aceito

Endereço: Av. Antônio Pinto nº 52 - Sala de Coord. de Ética - 4º andar
Bairro: Cidade **Cid:** 40.110-100
UF: BA **Município:** SALVADOR
Telefone: (71)3283-8965 **Fax:** (71)3283-8965 **E-mail:** cep@ufba.br

UFBA - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA (FOUFBA) DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA



Continuação do Parecer: 1244.083

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Aprovação da CONEP:

Não

SALVADOR, 04 de Abril de 2019

Assinado por:
FABIOLA BASTOS DE CARVALHO
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Araújo Pinho nº 62 - Sala do Comitê de Ética - 4º andar
Bairro: Carola **Cep:** 40.110-190
UF: BA **Município:** SALVADOR
Telefone: (71)3283-8965 **Fax:** (71)3283-8965 **E-mail:** cepodobaia@ufba.br