

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

Marisol Martinez Martinez

**TUMORES ODONTOGÊNICOS MALIGNOS: ASPECTOS
HISTOLÓGICOS E IMUNOISTOQUÍMICOS**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Odontologia de Piracicaba da
UNICAMP para obtenção do Título de Mestre em
Estomatopatologia, na área de Patologia.

Orientador: Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO ALUNO MARISOL MARTINEZ MARTINEZ,
E ORIENTADA PELO PROF. DR. OSLEI PAES DE ALMEIDA.**

Assinatura do Orientador

PIRACICABA, 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
GARDÊNIA BENOSSI – CRB8/8644 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

M36t Martinez, Marisol Martinez, 1982-
Tumores odontogênicos malignos: aspectos histológicos e
imunoistoquímicos / Marisol Martinez Martinez. -- Piracicaba, SP :
[s.n.], 2011.

Orientador: Oslei Paes de Almeida.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Patologia bucal. 2. Diagnóstico. 3. Proliferação celular. I.
Almeida, Oslei Paes de. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para a Biblioteca Digital

Título em Inglês: Malignant odontogenic tumors histological and immunohistochemical study

Palavras-chave em Inglês:

Pathology, Oral

Diagnosis

Cell Proliferation

Área de concentração: Patologia

Titulação: Mestre em Estomatopatologia

Banca examinadora:

Oslei Paes de Almeida [Orientador]

Ana Terezinha Marques Mesquita

Francisco José de Souza Filho

Data da defesa: 25-07-2011

Programa de Pós-Graduação: Estomatopatologia



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 25 de Julho de 2011, considerou a candidata MARISOL MARTINEZ MARTINEZ aprovada.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Oslei Paes de Almeida".

Prof. Dr. OSLEI PAES DE ALMEIDA

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Ana Terezinha Marques Mesquita".

Profa. Dra. ANA TEREZINHA MARQUES MESQUITA

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Francisco Jose de Souza Filho".

Prof. Dr. FRANCISCO JOSE DE SOUZA FILHO

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe, **Georgina Martínez Hernández** por ser meu exemplo de vida, por me ajudar a descobrir que posso fazer realidade meus sonhos sem importar o difíceis ou impossíveis que pareçam e sobretudo por seu maior ensino, o de ser feliz.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A **Deus** por cada amanhecer, por me escutar nos meus momentos de alegria e tristeza. Obrigada por me dar força para estar longe de casa.

À minha irmã e melhor amiga **Karen** por todo o amor e respeito com que me acompanhou em todos os momentos da minha vida. Porque não tem preço na vida, que seu melhor amigo tenha o mesmo sangue.

Ao meu companheiro incansável **Wilfredo** por me dar força nos momentos difíceis, por sempre ir do meu lado fazendo a minha vida mais feliz.

Aos meus amigos de **Natanael Sandía** porque simplesmente depois de ter-lhes conhecido, a minha vida mudou para sempre. Obrigada pela amizade e por me ensinar a não desistir na vida.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu Diretor **Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior**.

À coordenadora geral da Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas **Profa. Dra. Renata C. Matheus R. Garcia**.

Ao **Prof. Dr. Ricardo Della Coletta** coordenador do programa de Pós-Graduação em Estomatopatologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas.

Aos **Profs. Drs. Oslei Paes de Almeida, Ricardo Della Coletta, Márcio Ajudarte Lopes, Pablo Agustin Vargas, Edgard Graner, Jacks Jorge Júnior e Alan Roger dos Santos Silva**, professores das áreas de Patologia e Semiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, pela contínua dedicação e entrega de conhecimentos.

À **CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior)** pela concessão de bolsa de estudos.

Ao Prof. **Oslei Paes de Almeida** pela oportunidade de estar aqui, por me ensinar que o conhecimento nunca é suficiente, porque me ensinou a acreditar mais em mim ao fazer este trabalho. Obrigada por todo seu carinho e apoio que me brinda em Piracicaba, simplesmente não tenho palavras para agradecer todo isso.

Ao Prof. **Adalberto Mosqueda Taylor** pelos conhecimentos compartilhados, pela paixão com que exerce seu trabalho, por me incentivar cada dia a ser melhor profissional. Obrigada pela amizade, por todos os momentos compartilhados, por ter sempre as palavras certas quando eu preciso. Obrigada por acreditar em mim.

Ao Prof. **Marco Antonio Diaz Franco** por me iniciar neste caminho da patologia, porque com você aprendi que não existem obstáculos na vida que não as possamos superar. É um grande exemplo para mim como profissional e como pessoa. Obrigada por tanto carinho.

Ao Prof. **Roman Carlos Bregni** por toda a ajuda para realizar este trabalho, pela motivação e por todos os conhecimentos compartilhados. Obrigada pela oportunidade de poder conhecer um pouco da sua grande experiência profissional no meu estágio na Guatemala e sobretudo obrigada pela confiança que deposita em mim.

Ao Prof. **Jacks Jorge Junior** e Prof. **Márcio Ajudarte Lopes** pelos conhecimentos na clínica do Orocentro.

Ao Prof. **Fabio Ramoa Pires** e à Profa. **Beatriz Aldape Barrios** pelo fornecimento de parte dos casos desse estudo.

Ao **Dr. Luciano Dominguez Soto, Dra. Maria Teresa Hoyo Tomoka e Dra. Maria Elisa Vega Memije, Dra. Rosa Maria Lasy Niebla e Dr. Roberto Arenas Guzmán** pelos ensinamentos transmitidos e oportunidades oferecidas no Hospital General Dr. Manuel Gea González.

Jorge Esquiche pelo exemplo de superação. Por me ajudar nos momentos de desilusão que se não fosse por amigos como você poderiam me ter feito desistir desse caminho.

Bruno Benevenuto pela grande amizade, pelos momentos de alegria e pelo companheirismo que o caracteriza.

Katya Pulido e Alicia Rumayor por compartilhar as saudades de nosso país, pelos pequenos momentos que fazem da minha estância aqui em Piracicaba, uma grande experiência. Sei que seremos uma grande equipe quando voltamos.

Luciana Yamamoto pelo incentivo para seguir com alegria neste caminho.

Aos meus companheiros de Orocentro **Patrícia, Sabrina, Renato, Marcondes e Rogério** por esses momentos tão agradáveis na clínica. Obrigada pela oportunidade de aprender juntos.

Aos demais amigos e colegas de pós-graduação em Estomatología, pelas experiências e sorrisos compartilhados: **Débora, Fernanda, Carolina, Sabino, Felipe, Manoela, Marianne, Camilla, Elizabeth, Daniel, Andrea, Fabiana, Rose, Marco Aurélio, Mario, Michelle, Lays, Victor, Marco Antonio, Sibebe, Lara, Isadora.**

Aos amigos do Orocentro **Rogério, Valéria, Maria Aparecida, Erika e Jeane** pelo apoio brindado em todo este tempo.

Às minhas amigas de graduação **Karla e Elizabeth** pela certeza da grande torcida nesse momento.

Aos funcionários do departamento de Patologia, **Fabiana Facco Casarotti, João Carlos Gomes da Silva Júnior, Adriano Luís Martins, Geovania Almeida e Luana Michele Ganhor Alescio**, por compartilhar seus conhecimentos e pela amizade.

Porque não existem na vida encontros por acaso, agradeço a todos os que participaram na realização deste trabalho.

“El hombre grande sabe cuando y en qué es pequeño. El hombre pequeño no lo sabe y tiene miedo de saberlo”

Haz sólo lo que amas y serás feliz y El que hace lo que ama, está benditamente condenado al êxito, que llegará cuando deba llegar, porque lo que debe ser será, e llegará naturalmente.

(Facundo Cabral)

Pelo menos, há um canto no universo que certamente pode melhorar, e é você mesmo.

(Aldous Huxley)

RESUMO

Os tumores odontogênicos (TO) são um grupo heterogêneo de lesões derivadas de tecidos dentários, que ocorrem nos ossos gnáticos e tecidos adjacentes. Os TO são raros, na grande maioria benignos, representando menos de 4% de todos os espécimes recebidos em laboratórios de patologia bucal. Os TO malignos freqüentemente apresentam dificuldades para diagnóstico e correta classificação, com vários pontos ainda não bem esclarecidos. O objetivo deste estudo foi analisar as características clínicas, histopatológicas e imunoistoquímicas em 39 casos de TO malignos. A idade média dos pacientes foi de 43,37 anos, com 16 casos acometendo pacientes do gênero feminino, 20 masculino e 3 de gênero desconhecido. Quatorze casos eram carcinoma ameloblástico (CA), 11 fibrossarcoma ameloblástico (FSA), 7 carcinoma espinocelular intra-ósseo primário (CEIP), 4 carcinoma odontogênico de células claras (COCC) e 3 carcinoma odontogênico de células fantasmas (COCF). Observou-se em alguns casos necrose, invasão perivascular, invasão perineural, infiltrado inflamatório e calcificações distróficas. A análise imunoistoquímica para citoqueratinas mostrou que a maioria dos casos foram positivos para CK5 e CK14 (69,2% e 53,8%), com expressão menor para CK7 e CK19. A imunoexpressão de Ki-67, p53 e p63 para CA foi 19,8%, 33,0% e 94,7%, respectivamente; para CEIP foi 52,9%, 55% e 91,5%; para COCC 9,0%, 4,5% e 60,8%, para COCF 17,4%, 20,9% e 95,9% e para FSA 16%, 28,0% e 10,% respectivamente. Onze casos foram negativos para CD138, e o restante dos casos mostraram variável perda da expressão focal para esse anticorpo. A expressão para E-caderina e β -catenina foi negativa em 12 e 11 casos respectivamente, com perda de expressão focal, associada a variação da intensidade no restante dos casos. Dentre os casos positivos para β -catenina, foram observados 5 casos com marcação nuclear.

Palavras chave: Tumores odontogênicos malignos, imunoistoquímica, citoqueratinas, Ki-67, p53, p63, CD-138 (Syndecan-1), E-caderina, β -catenina.

ABSTRACT

Odontogenic tumors correspond to a heterogenous group of lesions derived from dental tissues, involving the jaws and adjacent tissues. OT are rare, the majority benign, representing less than 4% of all specimens of an oral pathology laboratory. OT frequently present difficulties for the correct diagnosis and classification, with various points yet to be clarified. The objective of this study was to analyse the clinical, histological and the expression of immunohistochemical markers in 39 cases of malignant OT. The mean age of the patients was 43.37 years, with 16 cases occurring in women, 20 in men and in 3 the gender was not possible to obtain. Fourteen cases were ameloblastic carcinoma, 11 ameloblastic fibrosarcoma, 7 primary intraosseous squamous carcinoma, 4 clear cell odontogenic carcinoma and 3 ghost cell odontogenic carcinoma. In some cases markers of malignancies as necrosis, perivascular and perineural invasion, inflammation and dystrophic calcifications were observed. By immunohistochemistry most cases were positive for CKS 5 and 14, with lower expression for CKS 7 and 19. In AC Ki-67, p53 and p63 showed values of 19.8%, 33.0% and 94.7% respectively. Corresponding values for PISC were 52.9%, 55.0% and 91.5%, for CCOC of 9.0%, 4.5% and 60.8%; for GCOC of 17.4%, 20.9% e 95.9% and for AFS of 16%, 28.0%. Eleven cases were negative for CD138, and in all others expression was positive but variable. E-caderin and B-catenin was negative in 12 and 11 cases respectively, with variable expression in the positive cases. In 5 cases B-catenin also showed nuclear expression.

Key words: Malignant odontogenic tumors, immunohistochemistry, cytokeratins, Ki-67, ameloblastic carcinoma, ameloblastic fibrosarcoma, mouth tumors.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TO	Tumores odontogênicos
TOQ	Tumor odontogênico queratocístico
OMS	Organização mundial da saúde
TOM	Tumores odontogênicos malignos
CO	Carcinomas odontogênicos
AM	Ameloblastoma metastatizante
CA	Carcinoma ameloblástico
CAP	Carcinoma ameloblástico primário
CASI	Carcinoma ameloblástico secundário intra-ósseo
CASP	Carcinoma ameloblástico secundário periférico
CEIP	Carcinoma espinocelular intra-ósseo primário
CEIPS	Carcinoma espinocelular intra-ósseo primário sólido
CEIPDQ	Carcinoma espinocelular intra-ósseo primário derivado de queratocisto odontogênico
CEIPDC	Carcinoma espinocelular intra-ósseo primário derivado de cistos odontogênicos
COCC	Carcinoma odontogênico de células claras
COCF	Carcinoma odontogênico de células fantasmas
SO	Sarcomas odontogênicos
FSA	Fibrossarcoma ameloblástico
FDSA	Fibrodentinosarcoma ameloblástico
FOSA	Fibroodontosarcoma ameloblástico
MEV	Microscopia eletrônica de varredura

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
3. PROPOSIÇÃO	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
5. RESULTADOS	27
6. DISCUSSÃO	107
7. CONCLUSÃO	119
REFERÊNCIAS	121

1 INTRODUÇÃO

Os tumores odontogênicos (TO) são um grupo heterogêneo de lesões derivadas de tecidos dentários, que ocorrem exclusivamente nos ossos gnáticos e tecidos adjacentes. São tumores com baixa incidência, a maioria benignos e alguns apresentam características hamartomatosas. O comportamento clínico é variável, podendo ser predominantemente císticos, sólidos, ou mistos. Os TO surgem de remanescentes epiteliais e/ou mesenquimais associados com o desenvolvimento dentário. São tumores incomuns, representando menos de 4% de todos os espécimes recebidos em laboratórios de patologia bucal. Os TO malignos são raros, muitos apresentando dificuldades para diagnóstico e correta classificação, com vários aspectos ainda não bem esclarecidos. Estudos de imunohistoquímica são poucos, e até o momento não são muito úteis para o diagnóstico e melhor compreensão destes tumores. O objetivo deste estudo é analisar as características clínicas, histopatológicas e a expressão de marcadores através de imunohistoquímica em 39 casos de TO malignos. Nos dados clínicos serão considerados idade do paciente, localização e tamanho das lesões. Através da imunohistoquímica serão avaliadas as citoqueratinas CK 5, 7, 14, 19, assim como Ki-67, p53, p63 e as moléculas de adesão, CD138, E-caderina e β -catenina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TUMORES ODONTOGÊNICOS

Os TO se desenvolvem a partir de componentes e remanescentes epiteliais e/ou mesenquimais associados ao desenvolvimento dentário, expressando diferentes graus de diferenciação do órgão dentário (Mosqueda, 2008). Os tecidos que participam da odontogênese e potencialmente dos TO estão citados na tabela 1.

Tabela 1. Componentes epiteliais e mesenquimais que participam da odontogênese (Ten Cate, 2008).

EPITELIAL	ÓRGÃO DO ESMALTE	EPITÉLIO EXTERNO RETÍCULO ESTRELADO EPITÉLIO INTERNO
	LÂMINA DENTAL	LÂMINA PRE-FUNCIONAL LÂMINA POST-FUNCIONAL
MESENQUIMAL	PAPILA DENTÁRIA	
	SACO DENTÁRIO	

Após a formação do esmalte, até a erupção do dente, o esmalte fica recoberto pelo epitélio reduzido do órgão do esmalte, que posteriormente participa da formação do epitélio juncional. Os remanescentes da lâmina dental pós-funcional correspondem aos restos epiteliais de Malassez e de Serres. Os restos de Malassez são ilhas epiteliais comumente encontradas no ligamento periodontal, que persistem após a reabsorção da bainha epitelial radicular de Hertwig durante a formação da raiz dentária. Os restos de Serres podem ser encontrados na gengiva, sendo resultantes da fragmentação da lâmina dental que iniciou a formação do dente. A lâmina dental pré-funcional seria a extensão da lâmina dental na região posterior ao terceiro molar, supostamente mantendo potencial

para formar dentes, apesar do término da odontogênese dos dentes permanentes (Mosqueda *et al.*, 2003; Reichart & Philipsen, 2004).

Os TO são incomuns, representando menos de 4% de todos os espécimes recebidos em laboratórios de patologia bucal (Mosqueda *et al.*, 1997). A tabela 2 mostra a frequência dos TO relatada em diferentes países, mostrando variabilidade provavelmente devido à forma de obtenção da casuística. Os TO ocorrem na maioria dos casos na mandíbula e possuem ligeira predileção pelo sexo masculino (Luo & Li, 2009). O ameloblastoma é o tumor mais freqüente em 64,3% dos relatos da literatura sobre a frequência de TO, enquanto que o odontoma foi descrito como o mais freqüente em 35,7% dos relatos. Esta aparente controvérsia é devido à origem das amostras, ou seja se foram obtidas de serviços hospitalares de patologia cirúrgica geral ou de faculdades de odontologia com serviços especializados em patologia oral. Não há dúvidas que o TO mais comum é o odontoma, que quase sempre é tratado em consultórios odontológicos e o material é enviado para serviços de patologia oral (Fregnani *et al.*, 2002; Fregnani *et al.*, 2010).

É importante mencionar que a frequência dos TO foi modificada em algumas séries após a classificação do queratocisto odontogênico como tumor odontogênico, tópico que causou controvérsias nas opiniões de vários grupos de patologistas orais (Reichart & Philipsen, 2006; Madras & Lapoint, 2008). O queratocisto odontogênico foi considerado como uma neoplasia verdadeira, tendo seu nome mudado para tumor odontogênico queratocístico (TOQ) em 2005 pela OMS. Em algumas destas séries, o TOQ aparece como o tumor mais frequente, acima do odontoma e do ameloblastoma (Luo & Li, 2009; El-Gehani *et al.*, 2009; Gaitán-Cepeda *et al.*, 2010).

Tabela 2. Frequência de TO nos relatos com significativo número de casos.

AUTOR	ANO	PAÍS	TOTAL	ODO	AME	MIX	COC	TOA	FO	FA	FOA	TOEC	CEM	TOM
			N	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Regezi	1978	EUA	614	73,8	12,2	3,1	2,3	3,4	0,0	2,3	1,7	0,9	0,2	0,1
Günhan et al.	1990	Turquia	370	20,0	40,3	13,8	1,1	3,0	4,9	4,9	0,8	1,6	6,2	1,6
Mothes et al.	1991	Alemanha	386	57,8	25,9	1,3	0,3	1,3	6,7	2,3	2,1	0,3	2,1	0,0
Daley et al.	1994	Canada	392	56,4	14,8	5,6	5,0	3,6	5,3	1,7	3,4	1,4	2,0	0,6
Oducoya	1995	Nigeria	289	4,2	58,6	11,8	2,4	6,2	4,5	4,5	0,0	0,4	0,7	5,2
Arotiba et al.	1997	Nigeria	128	0,0	59,0	16,0	2,5	13,0	7,0	*	*	*	*	2,5
Mosqueda et al.	1997	México	349	34,6	23,9	17,7	6,8	7,1	4,5	1,4	0,8	0,8	0,8	1,1
Lu et al.	1998	China	759	6,7	58,6	8,4	4,6	8,3	0,7	1,8	0,2	0,9	2,6	6,1
Santos et al.	2001	Brasil	127	50,4	30,7	4,7	4,6	8,7	*	*	*	*	*	*
Ochsenius et al	2002	Chile	362	44,7	20,4	8,8	7,2	6,6	5,5	0,6	1,7	0,6	1,7	0,6
Simon et al.	2002	Tanzânia	211	*	*	*	*	*	*	*	3,5	0,0	5,3	0,8
Ogunsalu	2003	Jamaica	70	0,0	84,1	4,3	0,0	4,3	*	*	*	*	*	1,5
Rodriguez-Fernandes et al.	2003	Brasil	113	41,6	22,1	10,6	7,9	3,5	3,5	0,8	3,5	0,0	5,3	0,8
Tamme et al.	2004	Estônia	75	34,6	25,3	12,0	0,0	1,3	0,0	16,0	0,0	1,3	8,0	1,3
Adebayo et al.	2005	Nigeria	318	2,2	73,3	11,9	2,5	2,8	*	*	*	*	*	1,3
Fernandes et al.	2005	Brasil	340	25,0	45,3	9,1	3,5	3,8	*	*	*	*	*	0,6
Ladeinde et al.	2005	Nigeria	319	2,5	63,0	6,5	5,3	7,5	*	*	*	*	*	3,4
Simon et al.	2005	Tanzânia	116	2,6	80,1	7,0	1,7	0,9	*	*	*	*	*	0,9
Buchner et al.	2006	EUA	1088	75,9	11,7	22,2	1,6	1,7	1,5	1,6	1,7	0,5	0,9	0,5
Olgac et al	2006	Turquia	527	20,7	25,2	15,7	5,5	2,1	*	*	*	*	*	1,1
Guerrisi et al.	2007	Argentina	153	50,9	18,3	8,5	3,9	5,2	3,2	1,9	4,6	1,3	1,9	0,0
Jing et al.	2007	China	1642	4,7	40,3	4,6	2,2	4,1	0,3	1,2	0,2	0,6	2,0	3,0
Okada et al.	2007	Sri Lanka	226	4,4	69,5	4,9	4,4	9,3	0,4	0,4	1,3	1,3	0,4	2,7
Avelar et al.	2008	Brasil	238	22,7	23,9	6,3	6,3	5,5	0,0	1,8	0,4	6,3	24,0	0,0
Sriram e Shetty	2008	India	250	6,0	61,5	6,0	2,8	12,4	4,8	0,8	1,2	2,4	0,4	1,2
Tawfik e Zyada	2009	Egito	82	13,4	41,5	8,5	0,0	3,7	0,0	2,4	0,0	3,7	3,7	3,7
Luo e Li	2009	China	1309	6,1	36,5	2,6	2,0	2,0	1,6	1,0	0,9	0,5	1,7	6,0
Mohamed et al.	2010	Egito	82	13,4	41,5	8,5	0,0	3,7	0,0	2,4	0,0	3,7	3,7	3,7

(**ODO** Odontoma, **AME** Ameloblastoma, **MIX** Mixoma, **COC** Cisto odontogênico calcificante, **TOA** Tumor odontogênico adenomatoide, **FO** Fibroma odontogênico, **FA** Fibroma ameloblástico, **FOA** Fibro-odontoma ameloblástico, **TOEC** Tumor odontogênico epitelial calcificante, **CEM** Cementoblastoma, **TOM** Tumor odontogênico maligno).

Os TO mostram grande diversidade histológica, e vários autores desenvolveram classificações que foram aprimoradas com o tempo. As primeiras classificações foram feitas por Broca (1869), Bland & Sutton (1888), seguidas por Thoma & Goldman (1946), Pindborg & Clausen (1958) e Pindborg *et al.* (1972). Pindborg *et al.* publicaram a primeira classificação da OMS em 1971 e a mais recente, foi publicada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2005 (Barnes *et al.*). A classificação dos tumores odontogênicos malignos segundo a OMS é mostrada na Tabela 3.

Tabela 3. Classificação dos TO malignos de acordo com a OMS, 2005.

CARCINOMAS ODONTOGÊNICOS	
• Ameloblastoma metastatizante	
• Carcinoma Ameloblástico	a) Primário b) Secundário (desdiferenciado intra-ósseo) c) Secundário (desdiferenciado periférico)
• Carcinoma espinocelular intra-ósseo primário	a) Sólido b) Derivado de queratocisto odontogênico c) Derivado de cistos odontogênicos
• Carcinoma odontogênico de células claras	
• Carcinoma odontogênico de células fantasmas	
SARCOMAS ODONTOGÊNICOS	
• Fibrossarcoma ameloblástico	
• Fibrodentinossarcoma e fibroodontossarcoma ameloblástico	

2.2 TUMORES ODONTOGÊNICOS MALIGNOS

Os tumores odontogênicos malignos (TOM) representam de 0.1 a 5.8% de todos os TO (Regezi.,1978; Luo & Li., 2009). As casuísticas dos TOM descritas na literatura não são uniformes, mas deve-se considerar que são tumores raros, e os dados relatados referem-se a casuísticas pequenas. Os TOM mostram agressividade variável, a etiologia é desconhecida, sendo que alguns resultam da transformação maligna de tumores benignos ou cistos odontogênicos. As características clínicas são similares a outros tumores malignos de boca,

causando frequentemente mobilidade dental e parestesia, podendo invadir ou destruir estruturas adjacentes, além de eventualmente causar metástases (Praetorius., 2009).

2.2.1 Carcinomas Odontogênicos

Os TOM são classificados em carcinomas e sarcomas, sendo os primeiros os mais freqüentes (Eversole, 1999). Os carcinomas odontogênicos (CO) originam-se dos componentes epiteliais provenientes da odontogênese, mostrando comportamento clínico e aspectos microscópicos variáveis (Barnes *et al.* 2005).

2.2.1.1 Ameloblastoma Metastatizante

Em 1923 foi descrito por Emura o primeiro caso de “adamantinoma”, termo usado para os ameloblastomas, com metástases em linfonodos do pescoço, que corresponderia atualmente ao ameloblastoma metastatizante (AM) (Papaioannou *et al.*, 2009). O AM também chamado ameloblastoma maligno, corresponde ao ameloblastoma convencional porém causando metástases. É mais comum em homens, com proporção de 1,5:1; ocorrendo em ampla faixa de idade, dos 4 aos 81 anos de idade, com média de 30 anos. É mais comum na mandíbula (80%) do que na maxila (20%), com um caso descrito por Lin *et al.* (1989) como AM periférico. Os aspectos radiográficos do AM são idênticos aos do ameloblastoma convencional (Papaioannou *et al.*, 2009, Cardoso *et al.*, 2009). Classicamente o diagnóstico do AM baseia-se na confirmação de um ameloblastoma primário convencional, e ocorrência de metástases, geralmente pulmonares, com características histológicas benignas, idênticas aos dos ameloblastomas convencionais, sendo mais comumente plexiforme (80% dos casos), e alguns predominantemente folicular (Laughlin, 1989, Cardoso *et al.*, 2009). É importante diferenciar o AM do carcinoma ameloblástico, que mostra

características clínicas e microscópicas de malignidade no tumor primário (Papaioannou *et al.*, 2009).

Encontramos na literatura 101 casos de AM, a maioria com metástases em pulmão e linfonodos. Também foram descritas metástases em outros locais como cérebro, ossos, fígado e outros tecidos (Laughlin, 1989; Papaioannou *et al.*, 2009; Praetorius 2009; Van Dam *et al.*, 2010).

Fatores associados ao surgimento do AM incluem presença de ameloblastoma primário grande, tratamento inicial tardio e inadequado, além de recorrências prévias do ameloblastoma. O tratamento do AM consiste na ressecção cirúrgica do tumor primário, se ainda presente, e das metástases. Radioterapia e quimioterapia são pouco eficazes, sendo atualmente recomendadas apenas em casos de tumores irresssecáveis (Cardoso *et al.*, 2009). O prognóstico é reservado, porém Papaionnou *et al.* (2009) relatou um caso de sobrevida de 45 e 19 anos depois do tratamento do tumor primário e da metástase pulmonar respectivamente.

2.2.1.2 Carcinoma ameloblástico

O termo carcinoma ameloblástico (CA) foi introduzido pela primeira vez por Shafer em 1974. É considerado o tumor odontogênico maligno mais comum (Yoon *et al.*, 2009), com pelo menos 104 casos publicados na literatura até 2010. O CA é mais comum na mandíbula com predileção para a porção posterior, com leve predomínio em homens, em faixa ampla de idade, dos 7 aos 91 anos, com media de 49 anos (Yoon *et al.*, 2009).

A última classificação da OMS (Barnes *et al.* 2005) classifica o CA de acordo com sua origem em primário e secundário (desdiferenciado), podendo ser intra-ósseo ou periférico.

Clinicamente os CAs podem ter características de lesão benigna, entretanto pode envolver dentes e outras estruturas adjacentes, causando aumento de volume, dor e parestesia. Radiograficamente o CA caracteriza-se

como lesão radiolúcida irregular, com bordas mal definidas e destrutivas podendo perfurar corticais e infiltrar estruturas adjacentes (Benlyazid *et al*, 2007).

Histologicamente o CA é um ameloblastoma com características de malignidade, mostrando pleomorfismo nuclear, hipercromatismo, mitoses, necrose focal e eventualmente invasão vascular e/ou perineural. As ilhas e cordões de padrão ameloblastomatoso mostram células periféricas poligonais ou colunares, núcleo em paliçada e polarização invertida. O centro das ilhas lembra o retículo estrelado do órgão do esmalte, que pode ou não também mostrar atipias (Cox *et al.*, 2000). Os principais diagnósticos diferenciais do CA são o carcinoma espinoelular intra-ósseo primário e o carcinoma odontogênico de células claras descritos posteriormente neste texto.

O CA é fortemente positivo para as CKs AE1/AE3, 5, 7, 8, 14, 18, 19, (Datta *et al.*, 2003). Embora ainda não esteja bem estabelecido, considera-se que p53, Ki-67 e marcadores musculares como AML, HHF-35 e calponina possam ser úteis na diferenciação entre o CA e o ameloblastoma convencional (Yoon *et al.*, 2009).

O CA é tratado cirurgicamente geralmente sem esvaziamento cervical, não respondendo bem a radioterapia e quimioterapia (Wettan *et al.*, 2001). O prognóstico do CA é reservado, principalmente na maxila quando há proximidade com a órbita, base do crânio e região pterigomaxilar, com dificuldades de acesso e delimitação das margens cirúrgicas. A via mais comum de metástases é a sangüínea e o risco de metástases ocorre principalmente quando acomete a maxila (Dhir K *et al.*, 2003). O paciente deve ser acompanhado por longo tempo devido a possibilidade de recorrências e metástases, que podem ocorrer principalmente nos pulmões, ossos e cérebro (Benlyazid *et al.*, 2007).

Carcinoma ameloblástico primário

Considera-se carcinoma ameloblástico primário (CAP) como surgindo *de novo*, ou seja não é derivado de um ameloblastoma ou cisto

previamente presente. Corresponde a 1/3 dos CA, envolvendo principalmente a mandíbula, sem predileção por sexo.

Carcinoma ameloblástico secundário intra-ósseo

O carcinoma ameloblástico secundário intra-ósseo (CASI) surge a partir de um ameloblastoma que sofreu malignização. É um tumor raro que ocorre mais freqüentemente em adultos na 7ª década de vida, geralmente com longa história de evolução de um ameloblastoma pré-existente ou de um ameloblastoma com múltiplas recorrências (Hayashi *et al.*, 1997).

Carcinoma ameloblástico secundário periférico

O carcinoma ameloblástico secundário periférico (CASP) é a transformação maligna de um ameloblastoma periférico que sofre malignização. Era anteriormente chamado de carcinoma de células basais intra-oral ou gengival (McClatchey, 1987; McClatchey & Sullivan, 1989).

2.2.1.3 Carcinoma espinocelular intra-ósseo primário

Trata-se de um carcinoma intra-ósseo de células escamosas que se originou a partir de restos de epitélio odontogênico (restos epiteliais de Malassez e restos da lâmina dentária). Foi descrito pela primeira vez em 1913 por Loos como carcinoma epidermóide central (Müller & Waldron, 1991). Atualmente considera-se que alguns casos de carcinoma espinocelular intra-ósseo primário (CEIP) são precedidos por tumores ou cistos odontogênicos benignos. Na última classificação da OMS em 2005 o CEIP se encontra subdividido em 3 grupos de acordo com a sua patogênese: 1) sólido, 2) derivado de cisto odontogênico, 3) derivado de tumor odontogênico epitelial. O diagnóstico do CEIP pode ser difícil, principalmente quando causa destruição da cortical óssea, podendo ser confundido com um verdadeiro carcinoma de tecidos moles (Barnes *et al.*, 2005).

Carcinoma espinocelular intra-ósseo primário sólido

É um tumor pouco frequente com somente 86 casos relatados na literatura (Abbas *et al.*, 2010). Possui ligeira predileção pelo gênero masculino com relação de 2:1, ocorrendo frequentemente na quinta década de vida, apesar de alguns casos terem sido relatados em crianças. É mais comum na região posterior da mandíbula (80%), com 20% dos casos envolvendo a região anterior da maxila (Barnes *et al.*, 2005., Proterius, 2009).

Clinicamente pode apresentar parestesia e dor, confundindo-se com dor de origem dentária. (Kramer *et al.*, 1992). Radiograficamente pode-se observar imagens radiopacas ou radiolúcidas mal definidas, difusas ou irregulares, sendo a maioria uniloculares. Geralmente são lesões extensas, com expansão e destruição da cortical e alguns casos podem causar reabsorção radicular (Furuta *et al.*, 2002; Fusconi *et al.*, 2002).

Histologicamente o CEIP mostra ilhas de epitélio escamoso com aspectos de malignidade. A maioria das lesões são moderadamente diferenciadas com proeminente queratinização. O estroma pode conter ou não infiltrado inflamatório. O diagnóstico diferencial inclui carcinoma espinocelular metastático e carcinoma mucoepidermóide. Tem sido relatado metástases nos linfonodos regionais (13 de 33 casos) confirmados histologicamente (Suei *et al.*, 1994).

Carcinoma espinocelular intra-ósseo primário derivado de queratocisto odontogênico

É definido como um carcinoma de células escamosas localizado nos ossos gnáticos derivado de um queratocisto. A maioria destas lesões ocorreram em pacientes adultos masculinos acima dos 40 anos, principalmente na mandíbula (Keszler & Piloni, 2002).

Inicialmente tem curso indolente, como um cisto odontogênico, apresentando posteriormente sintomas como dor, inchaço, perda de órgãos dentários e parestesia. Lesões avançadas estão frequentemente associadas com

ulceração e rápido crescimento. Linfadenopatia regional pode estar presente (Barnes *et al.*, 2005).

Radiograficamente, as lesões podem ser indistinguíveis de um cisto odontogênico, podendo apresentar bordas irregulares mal definidas (Abbas *et al.*, 2010). Posteriormente, as lesões tornam-se mais agressivas com aparência multilocular e destruição de cortical (Barnes *et al.*, 2005).

O quadro histológico é de um carcinoma bem-diferenciado, em conjunto com um tumor odontogênico queratocístico. O diagnóstico diferencial inclui: queratoameloblastoma, tumor odontogênico escamoso, carcinoma mucoepidermóide central e lesões metastáticas (Keszler & Piloni, 2002).

Carcinoma espinocelular intra-ósseo primário derivado de cistos odontogênicos

É definido como um carcinoma espinocelular que não possui relação com a mucosa oral, sendo central e derivado de um cisto odontogênico. Há menos de 15 casos bem documentados. Ocorre principalmente na quinta década de vida, com relação homem:mulher de 2:1 (Barnes *et al.*, 2005).

A maioria desses tumores ocorrem na mandíbula com sintomas de dor, parestesia ou anestesia do lábio inferior. A imagem radiográfica pode imitar um típico cisto odontogênico ou ameloblastoma, sendo que alguns casos podem apresentar margens irregulares e pobremente definidas (Scheer *et al.*, 2004).

Histologicamente caracteriza-se como um cisto odontogênico com epitélio de revestimento da cavidade cística em associação com carcinoma espinocelular. Vários graus de displasia podem ser observados no epitélio cístico, e áreas de hiperplasia verrucosa ou carcinoma verrucoso podem estar presentes (Scheer *et al.*, 2004).

2.2.1.4 Carcinoma odontogênico de células claras

O carcinoma odontogênico de células claras COCC foi descrito em 1985 por Hansen como uma neoplasia epitelial primária maligna de origem odontogênica. No mesmo ano, Waldron *et al.* (1985) descreveram dois casos com o termo carcinoma odontogênico, e o termo COCC foi utilizado pela primeira vez por Bang *et al.* (1989). Ocorre com maior frequência na mandíbula do que na maxila em uma proporção de 6:1, com idade média de acometimento aos 55 anos, com predileção pelo gênero feminino. No passado essa lesão foi designada de ameloblastoma de células claras ou tumor odontogênico de células claras (Waldron *et al.*, 1985; Eversole *et al.*, 1985; Hansen *et al.*, 1985).

Apenas 59 casos foram relatados até 2010, dos quais 46 casos (78%) ocorreram na mandíbula e 13 na maxila. Vinte e um pacientes tiveram seguimento de 5 anos e destes 8 (13.5%) morreram da doença. Desses 59 casos, 41 (69.5%) eram mulheres e 18 (30.5%) homens, o que mostra forte predileção pelo gênero feminino (Werle *et al.*, 2009). A idade dos pacientes variou de 17 a 89 anos, com maior frequência em adultos de 60 anos (Mosqueda *et al.*, 2002).

Os sintomas incluem dor, parestesia do lábio inferior, bem como envolvimento dos molares inferiores. Clinicamente é comum aumento de volume na mandíbula frequentemente com perda de dentes. Na maxila pode causar proptose, com perda da acuidade visual. Radiograficamente observa-se imagem radiolúcida mal-definida, acompanhada por reabsorção radicular (Chera *et al.*, 2008; Bang *et al.*, 1989). Apresenta padrão de crescimento agressivo, com freqüentes recorrências e metástases regionais e a distância, principalmente nos pulmões (Barnes *et al.*, 2005).

Células claras podem ser encontradas em outras neoplasias malignas da região orofacial, incluindo-se tumores metastáticos de rim, fígado, cólon, próstata e tireóide assim como no carcinoma mucoepidermóide, mioepitelioma, adenoma pleomórfico, carcinoma de células acinares e também em tumores

melanocíticos, tumor odontogênico epitelial calcificante variante de células claras e ameloblastoma de células claras (Barnes *et al.*, 2005; Chera *et al.*, 2008).

As características histológicas incluem três padrões: O primeiro padrão considerado bifásico, composto por ninhos de células claras misturadas com pequenos grupos de células poligonais com núcleo picnótico e escasso citoplasma; o segundo é monofásico composto de ilhas e cordões formados por células claras com membrana celular e núcleo irregular, picnótico e polarizado. O terceiro padrão é formado por ilhas de células claras com histomorfologia ameloblastomatosa com células periféricas em paliçada e polarização inversa à lâmina basal, além de diferenciação escamosa (Werle *et al.*, 2009). Histoquimicamente as células tumorais contêm abundantes grânulos PAS positivos, que correspondem a glicogênio (Bang *et al.*, 1989; Dahiya *et al.*, 2002; Werle *et al.*, 2009).

As células tumorais são variavelmente reativas para CKs 8, 13, 14, 18, 19 e EMA, sendo os mais consistentes CK19 e EMA. O tumor é negativo para vimentina, proteína S-100, desmina, actina de músculo liso, HMB45, CD31, CD45, GFAP e calponina. A imunoistoquímica também é útil para distinguir as células claras deste tumor das células dos tumores mioepiteliais e de tumores de glândulas salivares. Nestes tumores, ao contrário do COCC, Ki-67 e p53 mostram menos de 5% de imunoreatividade nas células tumorais. (Eversole *et al.*, 1985; Li *et al.*, 2001; Siriwardena *et al.*, 2004).

O tratamento baseia-se na excisão cirúrgica da lesão com margens de segurança, sendo mandatório o acompanhamento pós-operatório. Radioterapia adjuvante é uma opção para tumores que tenham causado erosão do osso cortical (Brandwein *et al.*, 2002).

2.2.1.5 Carcinoma odontogênico de células fantasmas

O carcinoma odontogênico de células fantasmas (COCF) é um tumor odontogênico epitelial maligno com características de tumor dentinogênico de células fantasmas ou tumor odontogênico cístico calcificante. Foi descrito pela primeira vez em 1985 por Ikemura *et al.* embora um caso similar tenha sido descrito na monografia de tumores odontogênicos da classificação da OMS em 1971. O COCF pode ser encontrado na literatura sob a denominação de carcinoma odontogênico calcificante de células fantasmas, tumor odontogênico epitelial de células fantasmas maligno, carcinoma decorrente de um cisto odontogênico calcificante, tumor odontogênico epitelial de células fantasmas agressivo, cisto odontogênico calcificante maligno e tumor odontogênico calcificante de células fantasmas maligno (Barnes *et al.* 2005).

Apenas 27 casos foram relatados na literatura até 2010, com idade variando dos 13 aos 72 anos, com pico de incidência na 4^a década. Cerca de 75% dos casos foram descritos em homens, envolvendo principalmente a maxila, correspondendo à distribuição do cisto odontogênico calcificante. De acordo com Sun *et al.* (2007) é mas comum em asiáticos.

Clinicamente causa aumento de volume, muitas vezes com parestesia. Radiograficamente apresenta-se como lesão radiolúcida osteolítica, com bordas mal definidas, frequentemente associada com áreas de radiopacidade. Somente cinco casos na literatura foram totalmente radiolúcidos e dois casos com bordas bem definidas. Deslocamento de dentes e raízes dos órgãos dentários é observado, com ocasionais reabsorções radiculares. Lesões de grande tamanho envolvendo a maxila podem comprometer a parede do seio maxilar, estendendo-se à estruturas adjacentes como cavidade nasal e a órbita (Sun *et al.*,2007).

Macroscopicamente consiste em uma porção cística bem circunscrita e uma porção mais sólida, sendo alguns completamente sólidos (Sun *et al.*,2007).

O diagnóstico histológico deste tumor é baseado na identificação de um tumor maligno epitelial que contém as características histopatológicas de um

tumor odontogênico calcificante cístico benigno. O tumor exibe dois padrões celulares, um de células pequenas redondas do tipo basalóide indiferenciadas e outro formado por células maiores com núcleo vesiculado e diferenciação escamosa. Estas células epiteliais mostram núcleo picnótico e vesiculado. O tumor geralmente mostra grande número de mitoses e proeminente pleomorfismo celular. O número de células fantasmas no tumor é variável e podem ser encontradas solitárias ou organizadas em grupos. Material dentinóide displásico, focos de necrose e calcificação podem estar presentes (Kim *et al.*, 2000; Sun *et al.*, 2007). Colorações especiais como a de Heidenhain-Azan podem ser utilizadas para mostrar as células fantasmas e o material dentinóide (Sun *et al.*, 2007).

Os estudos de imunoistoquímica mostram positividade para marcadores epiteliais como citoqueratinas e EMA e negatividade para AML, proteína S-100, CEA, Vimentina. Marcadores de proliferação celular, são importantes na diferenciação do carcinoma odontogênico de células fantasmas com os seus homólogos benignos. Também tem sido descrito superexpressão da proteína p53 (Lu *et al.*, 1999).

O tratamento é cirúrgico, não estando estabelecido o papel da radioterapia adjuvante e quimioterapia (Castle & Arendt, 1999; Kim *et al.*, 2000). O paciente deverá ser mantido em supervisão com estudos de imagem como radiografias e tomografias computadorizadas para rastrear lesões novas ou recidivas locais, assim como metástases à distância (Sun *et al.*, 2007).

2.2.2 Sarcomas odontogênicos

Como já foi mencionado antes, os TOM estão classificados em carcinomas e sarcomas. Os sarcomas odontogênicos (SO) são formados principalmente por tecido mesenquimatoso maligno, mostrando também epitélio odontogênico com características benignas.

2.2.2.1 Fibrossarcoma ameloblástico

O fibrossarcoma ameloblástico (FSA) é um tumor odontogênico raro descrito pela primeira vez por Heath em 1887. Até agora 68 casos foram relatados na literatura com maior predileção pelo gênero masculino (Bregni *et al.*, 2001). Pode ser encontrado na literatura com o nome de sarcoma ameloblástico. Ocorre em amplo intervalo de idade de 5 a 78 anos com idade média de 31 anos (Kousar *et al.*, 2009). A localização mais comum é a mandíbula seguida da maxila, sendo em ambos os locais a região posterior a mais frequentemente atingida (Bregni *et al.*, 2001).

Aproximadamente 2/3 dos pacientes que apresentam FSA possuem histórico de fibroma ameloblástico. Nestes casos a idade média é de 33 anos, enquanto que naqueles que surgem *de novo*, a idade média é de 22,9 anos. (Bregni *et al.*, 2001, Kousar *et al.*, 2009).

Clinicamente mostra, aumento de volume associado com dor, ulceração e parestesia do lábio inferior (Bregni *et al.*, 2001; Kousar *et al.*, 2009).

Radiograficamente, observa-se uma lesão radiolúcida com bordas mal definidas, que pode apresentar radiopacidades de formas e tamanhos diversos, sendo uma lesão de rápido crescimento causando expansão e adelgaçamento das corticais. Na maxila tem sido relatada como uma lesão antral com aparente erosão da parede dos seios. Macroscopicamente é uma lesão branca amarelada de consistência borrachóide (Slater, 1999; Kousar *et al.*, 2009).

Histologicamente o FSA é constituído por tecido epitelial benigno e componente mesenquimal maligno. O epitélio é composto de cordões e ilhas, além de pequenos acúmulos formados por células poligonais. Algumas ilhas têm na periferia células colunares de núcleos hiper cromáticos. O estroma é composto por células fusiformes, mostrando atividade mitótica às vezes abundante (Slater, 1999). Tumores recorrentes tendem a mostrar maior celularidade estromal e mitoses atípicas. Além disso, o montante do componente epitelial pode diminuir ou desaparecer com o crescimento do tumor (Slater, 1999; Takeda, 1999). Os

estudos de imunistoquímica baseiam-se na expressão de citoqueratinas mostrando o componente misto da lesão, enquanto que Ki-67 e p53 podem ser úteis para o diagnóstico e prognóstico da lesão (Kousar *et al.*, 2009).

O FSA é um tumor altamente agressivo, com pouca probabilidade de metástases à distância (Kousar *et al.*, 2009).

2.2.2.2 Fibroentinossarcoma ameloblástico

O primeiro caso de fibroentinossarcoma ameloblástico (FDSA) foi descrito por Altini e Smith em 1976. Pode ser encontrado na literatura com o nome de dentinossarcoma; odontossarcoma ameloblástico, sarcoma ameloblástico (Barnes *et al.*, 2005).

Até agora, apenas 15 casos foram relatados na literatura, 9 em homens e 6 em mulheres. A faixa etária varia de 12 a 83 anos com a maior parte dos casos ocorrendo na terceira década de vida.

O FDSA pode ser o precursor destas lesões (Howell & Burkes, 1977; Mainenti *et al.*, 2009).

A maioria dos casos apresenta aumento de volume de lento crescimento com pouca dor. Radiograficamente estas lesões são radiolúcidas, multiloculares, sendo algumas com bordas mal definidas. Há também presença de áreas radiopacas, representando tecido mineralizado que pode estar presente na lesão (Barnes *et al.* 2005).

O tratamento recomendado para essas lesões é a ressecção cirúrgica (Altini *et al.*, 1985; Slater, 1999). O fibroentinossarcoma ameloblástico é o que tem o melhor prognóstico dos sarcomas de mandíbula, sendo geralmente de baixo grau. Apenas um caso mostrou metástase regional. Recorrências locais foram mais freqüentemente observadas (Takeda *et al.*, 1990).

3 PROPOSIÇÃO

3.1 OBJETIVO GERAL

Essa pesquisa teve por objetivo analisar as características clínicas, histopatológicas e a expressão de marcadores imunoistoquímicos em 39 casos de tumores odontogênicos malignos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar as características clinicopatológicas de 39 casos de TO malignos.
2. Determinar o padrão de marcação imunoistoquímico das células tumorais dos TO malignos através das citoqueratinas 5, 7, 14, 19; p53 e p63.
3. Avaliar o índice de proliferação celular dos TOM por imunoistoquímica utilizando o marcador Ki-67.
5. Avaliar a expressão de moléculas de adesão celular através dos marcadores CD138, E-caderina e β -catenina.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA

Foram retrospectivamente analisados e selecionados 39 casos de TOM, sendo 14 casos de CA, 7 casos de CEIP, 4 casos de COCC, 3 casos de COCF e 11 casos de FSA. Os casos foram obtidos dos seguintes serviços de histopatologia oral: Departamento de Diagnóstico Oral, Área de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP (Piracicaba/SP, Brasil); Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado de Rio de Janeiro (Rio de Janeiro, Brasil), Centro Clínico de Cabeça e Pescoço (Cidade da Guatemala, Guatemala); Departamento de Ciências Clínicas, Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Autônoma Metropolitana (Cidade do México, México), Laboratório de Patologia Bucal e Maxilofacial Peribact (Cidade do México, México).

Os dados sócio-demográficos tais como idade, gênero, localização e características clínicas foram obtidos a partir dos registros nos respectivos laboratórios.

4.2 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Todos os casos foram revisados considerando-se os critérios e classificação da OMS (2005), usando-se novos cortes de parafina de 5 µm de espessura, corados com hematoxilina e eosina (HE). Além do diagnóstico, foram considerados vários parâmetros, como pleomorfismo celular e mitoses atípicas; áreas de necrose; invasão perineural; invasão perivascular; invasão de tecido muscular; presença de infiltrado inflamatório e presença de calcificações distróficas. Nos CA também considerou-se o padrão predominante, plexiforme ou folicular; presença de epitélio semelhante ao retículo estrelado; presença de camada basal em paliçada e de polarização inversa do núcleo das células da camada basal.

A análise histológica foi realizada com auxílio de microscópio binocular (Nikon YS 100, Japão) adaptado com ocular WSCF 10X/18 e objetivas NIKON 4X/0,10, 10X/0,25, 40X/0,65 e 100X/1,25. Todos os casos foram seqüencialmente numerados e a identificação do registro original foi omitida.

4.3 ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA

Para as reações imunoistoquímicas foram realizados cortes de 3 µm de espessura dos tecidos incluídos em parafina, colocados sobre lâminas previamente tratadas com 3-aminopropil-trietoxi-silano (Sigma Chemical Company, EUA).

Inicialmente os cortes foram desparafinados com duas sequências de xilol por 10 minutos cada uma, em temperatura ambiente, hidratados em solução de concentrações decrescentes de etanol (100%, 90%, 70% e 50%) e, posteriormente, lavados em água corrente por 30 segundos.

O procedimento para a recuperação antigênica foi realizado de maneira semelhante para todos os anticorpos analisados através da imersão das lâminas em solução de EDTA/TRIS em água destilada, pH 9,0 a 25°C e levadas ao forno de microondas (Panasonic Modelo NN7809BH) em potência alta (consumo de energia- 1380W) por 24 minutos. Após 20 minutos em temperatura ambiente, tempo necessário para que ocorresse o resfriamento do líquido, os cortes foram lavados em água corrente, e a atividade da peroxidase endógena foi bloqueada utilizando-se peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 20 volumes, em cinco incubações de cinco minutos cada. Após a inativação da peroxidase endógena, os cortes foram lavados em água corrente por 30 segundos e colocados em solução salina tamponada com fosfato (PBS: phosphat-buffered saline), a 10 mM (pH 7,4). Os cortes foram incubados com os anticorpos primários, diluídos em albumina sérica bovina (BSA) a 1% e azida sódica (NaN₃) a 0,1% em PBS, em câmara úmida por 18 horas a 4°C. Os anticorpos primários, as especificações e as titulações empregadas encontram-se descritos na tabela 4.

Tabela 4. Anticorpos primários e seus respectivos clones, diluições e fabricantes, utilizados no estudo imunoistoquímico.

Anticorpo primário	Clone	Diluição	Fabricante
Citoqueratina 5	XM26	1:400	Novocastra
Citoqueratina 7	OV-TL 12/30	1:300	Dako
Citoqueratina 14	LL 002	1:200	Novocastra
Citoqueratina 19	RCK 108	1:200	Dako
Ki-67	MIB-1	1:100	Dako
p53	DO-7	1:200	Dako
p63	4A4	1:300	Dako
CD138	MI15	1:100	Dako
E-caderina	36B5	1:200	Novocastra
β -catenina	17C2	1:200	Novocastra

Após a incubação com os anticorpos primários, os cortes foram lavados em PBS (3 trocas), e o anticorpo secundário conjugado à peroxidase foi então adicionado (Strept AB Complex/HRP Duet, Dako, EUA) na diluição de 1:500, durante 30 minutos a 37°C. Posteriormente os cortes foram novamente lavados em PBS (3 trocas) e expostos ao sistema estreptavidina-biotina-peroxidase (Strept AB Complex/HRP Duet, Dako, 1:500) por mais 30 minutos a 37°C. A revelação foi feita com 120mg de substrato cromogênico 3,3 diaminobenzidina (DAB, Sigma) diluído em 200ml de PBS, 2ml de peróxido de hidrogênio (10 volumes) e 2ml de dimetilsulfóxido (DMSO), incubando-se em câmara seca a 37°C durante 5 minutos. Terminada esta etapa, as lâminas foram novamente lavadas em água corrente e destilada e contra-coradas com Hematoxilina de Carrazi durante 2 minutos, desidratadas através de 3 banhos em solução de etanol a 100%, diafinizadas em xilol com 2 trocas de 10 minutos cada, e montadas em Bálsamo

do Canadá. Preparados histológicos controles positivos e negativos foram utilizados em todas as reações.

A quantificação da positividade da reação para as citoqueratinas 5, 7, 14 e 19 foi realizada considerando-se a média da porcentagem de células tumorais coradas em 10 campos de grande aumento (400X), levando-se também em consideração a intensidade da marcação. Os critérios usados foram: negativo; positivo fraco: entre 1 e 25% das células tumorais; positivo moderado: entre 25 e 50% das células tumorais e positivo forte: mais que 50% das células tumorais. Com relação à intensidade de marcação os critérios estabelecidos foram: fraca (+), moderada (++) e forte (+++).

A quantificação das células malignas com positividade nuclear para Ki-67, p53 e p63 foi determinada de acordo com a média de células coradas em cinco campos de grande aumento (400X) de cada espécime sob microscópio óptico, não considerando-se a intensidade, sendo que a escolha da região foi determinada pela integridade estrutural do tecido e positividade mais evidente. As imagens foram observadas e fotografadas em microscópio conectado através de vídeo câmera (Leica Microsystems, Alemanha). A análise das imagens fotografadas foi feita com auxílio do programa Scion Image (Scion Corporation, E.U.A.). Esse programa permite a possibilidade da inserção de grade de correção, marcação e contagem das áreas de interesse. As células positivas e negativas foram contadas e os resultados expressos em porcentagem de células positivas por campo. As imagens foram capturadas no formato TIFF (True Image Format File).

Para a classificação quanto à positividade para CD138, E-caderina e β -catenina considerou-se os mesmos critérios usados para as citoqueratinas. Avaliou-se também se a marcação era citoplasmática, de membrana ou nuclear.

Os resultados do perfil sócio-demográfico e clínico, dos achados histopatológicos, assim como do perfil imunoistoquímico dos TOM foram apresentados de forma descritiva.

A presente pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP sob número de protocolo 129/2010.

5 RESULTADOS

Dos 39 casos analisados, 28 casos (71,8%) ocorreram na mandíbula, 8 casos (20,5%) na maxila e 3 casos (7,7%) não foi possível determinar a localização. Dos tumores de mandíbula 26 foram na região posterior e associados a molares inclusos, um caso envolveu a região anterior e um caso de região desconhecida. Dos tumores de maxila 6 foram da região posterior e 2 de região desconhecida. A idade dos pacientes variou de 7 a 81 anos (média de 43,37 anos), com 16 casos (41%) em pacientes do gênero feminino, 20 (51,3%) do gênero masculino e 3 casos (7,7%) de gênero desconhecido. A avaliação microscópica dos 39 casos de TOM corados com HE mostrou que 28 casos (71,8%) correspondiam a lesões odontogênicas malignas de origem epitelial e 11 casos (28,2%) de malignas mesenquimais. Quatorze casos (35,9%) foram diagnosticados como CA, 7 casos (17,9%) como CEIP, 4 (10,3%) COCC, 3 (7,7%) COCF, 11 (28,2%) FSA (Tabela 5).

Tabela 5. Trinta e nove casos de tumores odontogênicos malignos distribuídos de acordo com o diagnóstico histológico e número de casos.

Diagnóstico	Casos No.	Porcentagem %
CA	14	35,9
CEIP	7	17,9
COCC	4	10,3
COCF	3	7,7
FSA	11	28,2

CA- carcinoma ameloblástico, **CEIP-** carcinoma espinocelular intra-ósseo primário, **COCC-** carcinoma odontogênico de células claras, **COCF-** carcinoma odontogênico de células fantasmas, **FSA-** fibrossarcoma ameloblástico.

5.1. CARCINOMA AMELOBLÁSTICO

5.1.1 Características sócio-demográficas.

A média de idade dos 14 pacientes com diagnóstico de CA em nossa casuística foi de 49,6 anos (variação de 30 a 81 anos). Sete casos afetaram homens, 5 mulheres e 2 de gênero desconhecido. Todos os casos apresentaram-se como imagens radiolúcidas (Figuras 1 e 2), com bordas irregulares. Dez casos (71.4%) foram em mandíbula, 2 (14,3%) na maxila e 2 de região não determinada. Nove casos ocorreram na região posterior. Nos casos que foi possível obter-se o tempo de evolução, a variação foi de 3 meses até 10 anos. As informações clínicas dos CA podem ser observadas na tabela 6.



Figura 1. Aspecto radiográfico de carcinoma ameloblástico na região retromolar, em um homem de 30 anos de idade. Observe a imagem radiolúcida unilocular bem definida com bordas festonadas, causando aparentemente reabsorção da raiz distal do segundo molar.



Figura 2. Carcinoma ameloblástico em paciente feminina, 50 anos de idade. Imagem radiolúcida com bordas irregulares e escleróticas, envolvendo a região anterior de mandíbula, com perfuração da basilar.

Tabela 6. Informações clínicas dos 14 casos de carcinoma ameloblástico.

Caso	Gênero	Idade	Imagem radiográfica	Local	Região
1	D	D	radiolúcida	D	D
2	M	32	radiolúcida	mandíbula	D
3	F	38	radiolúcida	mandíbula	33-45
4	F	50	radiolúcida	mandíbula	35-44
5	M	61	radiolúcida	mandíbula	posterior
6	M	36	radiolúcida	mandíbula	36
7	F	60	radiolúcida	maxila	posterior
8	M	37	radiolúcida	mandíbula	D
9	F	81	radiolúcida	maxila	posterior
10	M	33	radiolúcida	mandíbula	posterior
11	M	30	radiolúcida	mandíbula	47
12	D	D	radiolúcida	D	D
13	M	73	radiolúcida	mandíbula	anterior
14	F	64	radiolúcida	mandíbula	posterior

D- desconhecido

5.1.2 Características histopatológicas.

As características histológicas observadas nos 14 casos de CA incluíram, ilhas ou cordões de epitélio ameloblástico, formadas basicamente por uma camada celular periférica em paliçada, com polarização nuclear inversa à lâmina basal. No centro das ilhas as células poliédricas lembram o retículo estrelado do órgão do esmalte, características pouco evidentes em alguns casos. Nas ilhas epiteliais observou-se células com pleomorfismo, além de figuras de mitose. O estroma formado de tecido fibroso mostrou poucos focos de inflamação em alguns casos. Com relação ao subtipo histológico, 12 casos (85,7%) foram de predomínio plexiforme (Figura 3) e 2 (14,3%) de predomínio folicular (Figura 4).

Alguns parâmetros considerados relevantes no processo de malignização dos CA foram avaliados nos 14 casos estudados, como perda do retículo estrelado do órgão do esmalte no interior das ilhas epiteliais, perda da camada externa em paliçada e da polarização inversa à lâmina basal.

Dos casos que mostraram epitélio com características de retículo estrelado do órgão do esmalte no interior das ilhas de células tumorais, 3 casos ainda conservavam mais de 50%, 5 casos apresentavam de 25-50% e 6 casos conservaram menos de 25%, sendo que alguns destes últimos casos o retículo estrelado estava praticamente ausente, exceto em poucas áreas focais úteis para confirmação do diagnóstico. Sete casos foram observados com mais de 50% de células em paliçada, três casos apresentavam de 25-50% e 4 casos conservavam menos de 25%. Seis casos mostravam polarização inversa à lâmina basal em mais de 50% das ilhas epiteliais, 2 casos mostravam de 25-50% e 6 casos em menos de 25%, alguns desses conservaram escassas áreas apenas para o diagnóstico (Tabela 7).

Todos os casos mostraram pleomorfismo celular e mitoses atípicas, em vários graus. Nos casos com pouco retículo estrelado do órgão do esmalte, escassa camada celular em paliçada e polarização inversa à lâmina basal, apresentavam maior número de mitoses e pleomorfismo celular (Figura 5).

Necrose foi observada em 4 casos (28,6%) (Figura 6), infiltrado inflamatório associado ao tumor foi encontrado em 5 casos (35,7%) (Figura 7), invasão perivascular em 6 casos (42,8%), invasão perineural em 3 casos (21,4%) e 3 casos (21,4%) mostraram calcificações distróficas.

Tabela 7. Avaliação histológica da presença do retículo estrelado, células em paliçada e polarização inversa em 14 casos de carcinoma ameloblástico.

Caso	Retículo estrelado	Células em paliçada	Polarização inversa
1	++	++	+
2	+	+++	+++
3	++	+++	+++
4	+	+++	+++
5	+	+	+
6	++	++	++
7	+++	+++	+++
8	++	+	+
9	++	+	+
10	+++	+++	++
11	+	++	+
12	+	+	+
13	+++	+++	+++
14	+	+++	+++

+ (1-25%); ++ (25-50%); +++ (50-100%)

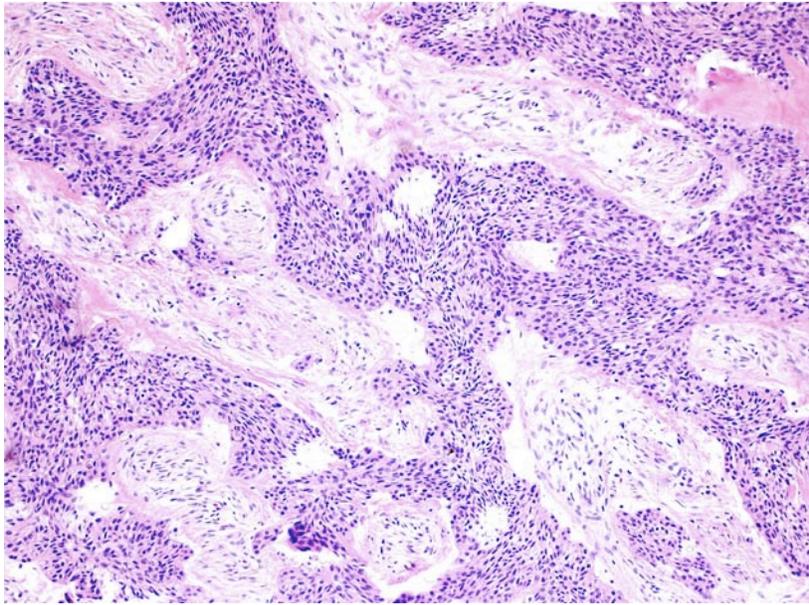


Figura 3. Carcinoma ameloblástico (caso 4) mostrando formação de cordões entrelaçados correspondendo ao padrão plexiforme (HE, 200X).

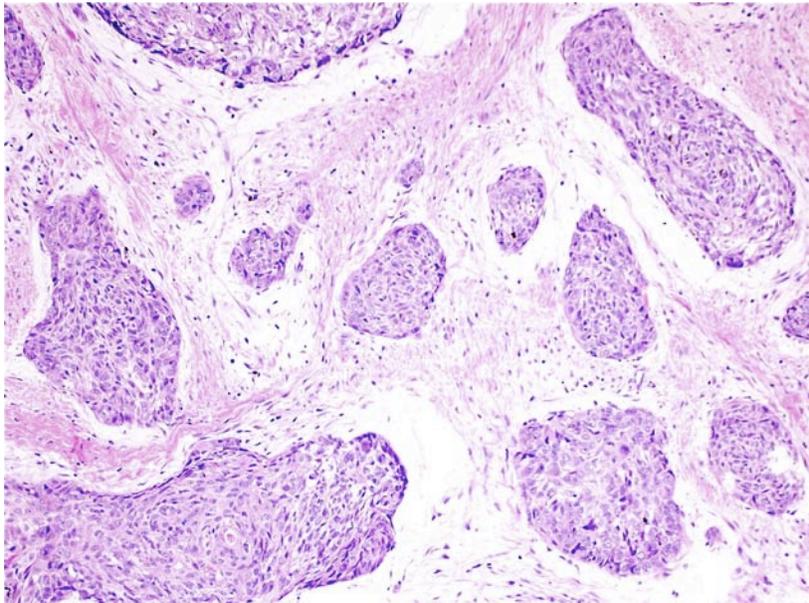


Figura 4. Carcinoma ameloblástico (caso 2) mostrando ilhas epiteliais imersas em conjuntivo fibroso com áreas mais frouxas, configurando padrão folicular (HE, 200X).

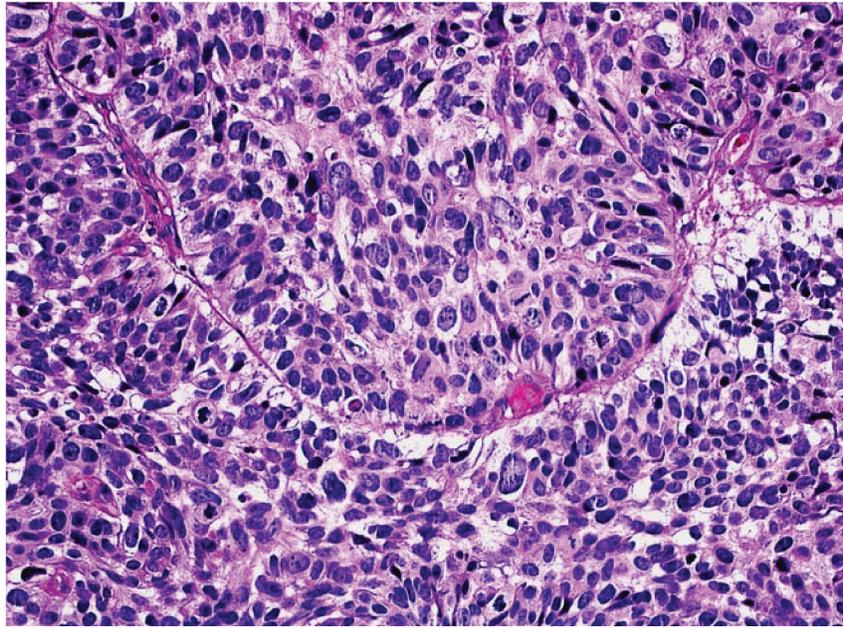


Figura 5. Carcinoma ameloblástico (caso 3) com alto grau de pleomorfismo celular e abundantes figuras de mitose. Observe o hiperchromatismo na maioria das células epiteliais (HE, 400X).

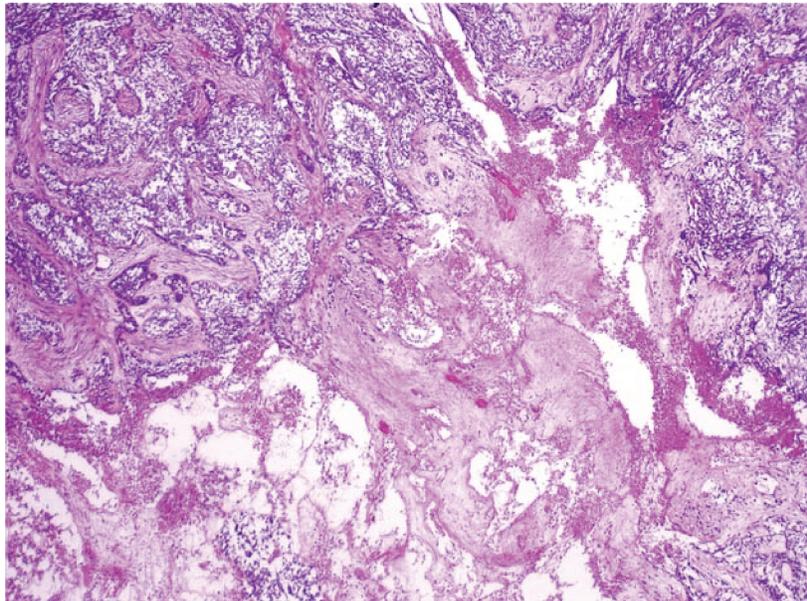


Figura 6. Caso 7 da série de carcinoma ameloblástico, mostrando presença de necrose entre as ilhas epiteliais . (HE,100X).

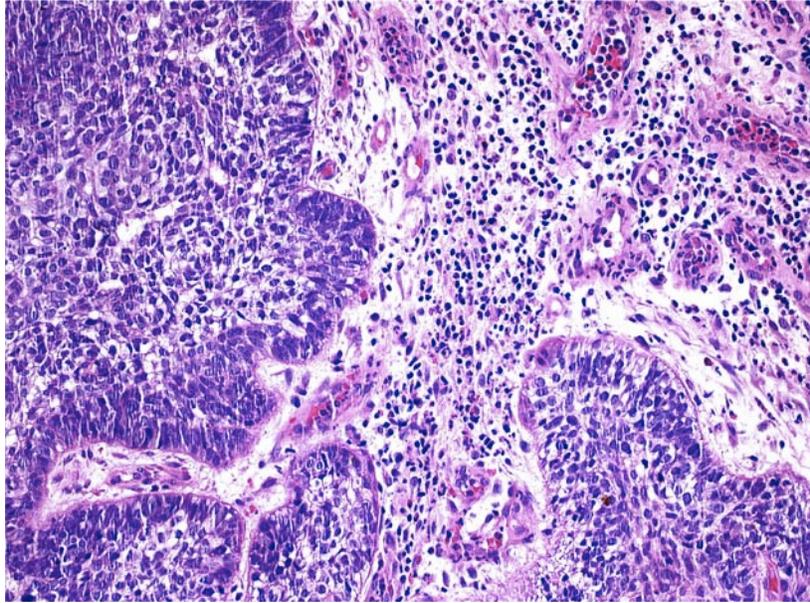


Figura 7. Carcinoma ameloblástico (caso 12) mostrando abundante infiltrado inflamatório linfocítico no tecido conjuntivo fibroso com ligeira exocitose nas ilhas epiteliais (HE, 200X).

5.1.3 Características imunoistoquímicas

Foram avaliadas as expressões de CK5, 7, 14, 19 nos 14 casos de CA. A CK5 marcou mais de 50% das células epiteliais incluindo-se as células basais e as supra-basais, ou seja as mais internas das ilhas epiteliais. Todos os casos apresentaram marcação forte, exceto um caso onde a marcação foi moderada.

Nove casos de CA foram negativos para CK7, e em apenas um caso a marcação foi em mais de 50% das células, sendo que nos 4 casos restantes a positividade foi em menos de 25% das células tumorais. CK7 marcou as células centrais das ilhas epiteliais, sendo praticamente negativa nas células periféricas.

CK14 marcou tanto as células basais como as mais centrais, sendo a expressão mais intensa nas últimas. Todos os casos foram positivos, 10 casos apresentaram mais de 50% das células marcadas, na maioria a marcação foi considerada forte. Dois casos (14,3%) mostraram positividade em 25-50% das células tumorais, 1 caso com marcação forte e outro com marcação fraca. Dois casos (14,3%) foram positivos em menos de 25% das células tumorais, entretanto com marcação forte.

CK19 foi positiva em 11 casos, marcando a camada periférica e central das ilhas epiteliais. Nos casos de padrão folicular a marcação foi mais intensa nas células poliédricas que lembram o retículo estrelado do órgão do esmalte. A expressão de CK19 foi negativa em 3 casos, e variável nos casos positivos, como mostra a tabela 8. Em 6 casos mais de 50% das células estavam marcadas, em 3 casos 25-50% das células, e em 2 casos a positividade foi em menos de 25% das células (Figura 8).

Tabela 8. Positividade e intensidade da reação imunoistoquímica para CKs 5, 7, 14, 19 nos 14 casos de carcinoma ameloblástico.

Caso	CK5		CK7		CK14		CK19	
	Intens	Posit (%)						
1	+++	50-100	+++	1-25	+++	50-100	+++	50-100
2	+++	50-100	Neg	Neg	+++	50-100	++	1-25
3	+++	50-100	+++	1-25	+++	1-25	+++	50-100
4	+++	50-100	+++	1-25	+++	50-100	+++	50-100
5	+++	50-100	Neg	Neg	+	25-50	Neg	Neg
6	+++	50-100	Neg	Neg	+++	50-100	+++	50-100
7	+++	50-100	+++	50-100	+++	25-50	+++	25-50
8	+++	50-100	Neg	Neg	+++	50-100	+++	1-25
9	+++	50-100	Neg	Neg	++	50-100	++	25-50
10	++	50-100	Neg	Neg	+++	1-25	Neg	Neg
11	+++	50-100	Neg	Neg	+++	50-100	+++	50-100
12	+++	50-100	Neg	Neg	+++	50-100	+++	50-100
13	+++	50-100	Neg	Neg	+	50-100	Neg	Neg
14	++	50-100	+	1-25	+	50-100	+	25-50

Intens- intensidade; Posit- positividade; Neg- Negativo; + (1-25%); ++ (25-50%); +++ (50-100%).

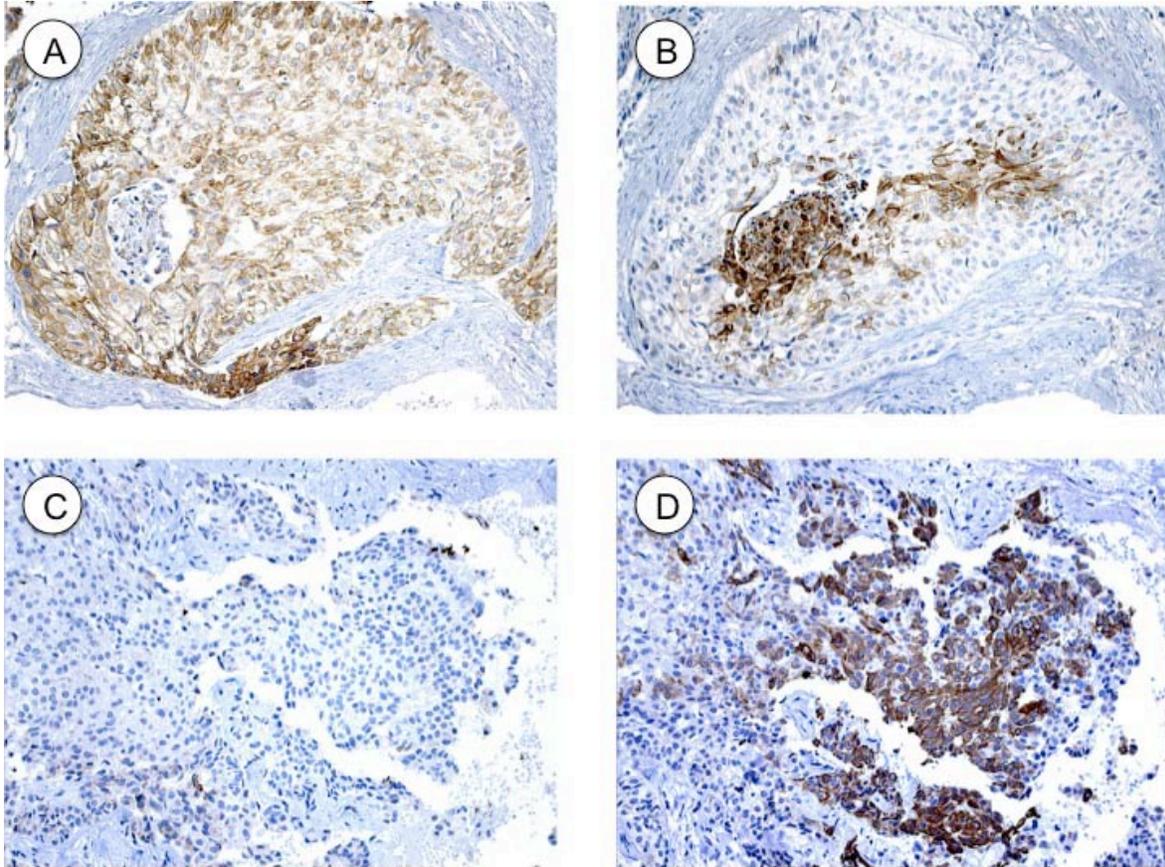


Figura 8. A) Forte imunoposição de CK5 nas células periféricas e centrais de carcinoma ameloblástico (200X); B) Imunoposição de CK7 apenas nas células centrais da ilha epitelial, na mesma região mostrada para CK5 (200X); C) CK14 marcando apenas algumas células do CA (200X) D); Forte expressão de CK19 na mesma região negativa para CK14 mostrada na figura anterior (200X).

A quantificação de KI-67, p53 e p63 considerou a média de células marcadas em cinco campos de grande aumento, não levando-se em consideração a intensidade. A escolha da região foi feita nas áreas com boa integridade estrutural do tecido e positividade mais evidente.

Ki-67 foi positivo nos 14 casos de CA, com média de marcação de 19,8% das células tumorais. A expressão foi principalmente nas células das camadas basais e suprabasais (Figura 9). A expressão foi maior nos tumores onde as células poliédricas centrais das ilhas epiteliais eram pouco evidentes. Semelhante ao Ki-67 a expressão de p53 também foi principalmente nas camadas basal e suprabasal (Figura 10). A marcação com p63 foi forte em todos os casos, marcando 94,7% das células tumorais (Figura 11). A tabela 9 mostra os resultados obtidos com estes 3 marcadores.

Tabela 9. Média de positividade para Ki-67, p53 e p63 em 14 casos de carcinoma ameloblástico.

Diagnóstico	Ki-67	p53	p63
No.	(%)	(%)	(%)
1	12,2	50,4	99,3
2	8,4	10,2	94,3
3	32,2	30,4	100
4	9,6	24,3	98
5	11,3	21,6	86,7
6	26,9	43,1	93,2
7	18,4	45,7	84,6
8	10,7	24,4	97,9
9	22,6	29,9	98,5
10	36,5	42,3	92,1
11	28,7	31,4	98,6
12	29,2	34,2	96,5
13	8,9	42,7	90,4
14	21,1	31,3	95,9
Total (14)	19,8	33,0	94,7

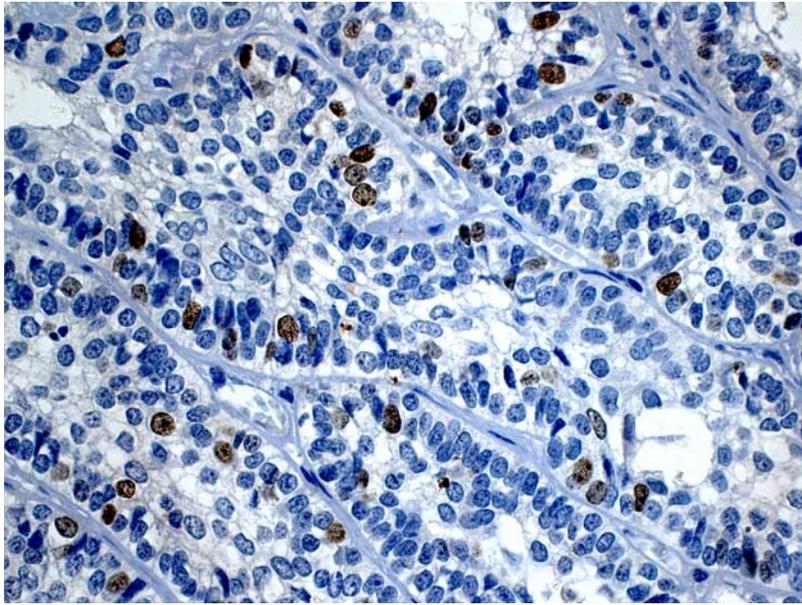


Figura 9. Carcinoma ameloblástico mostrando positividade para Ki-67 nas células das camadas basal e suprabasal das ilhas/cordões de células tumorais (400X).

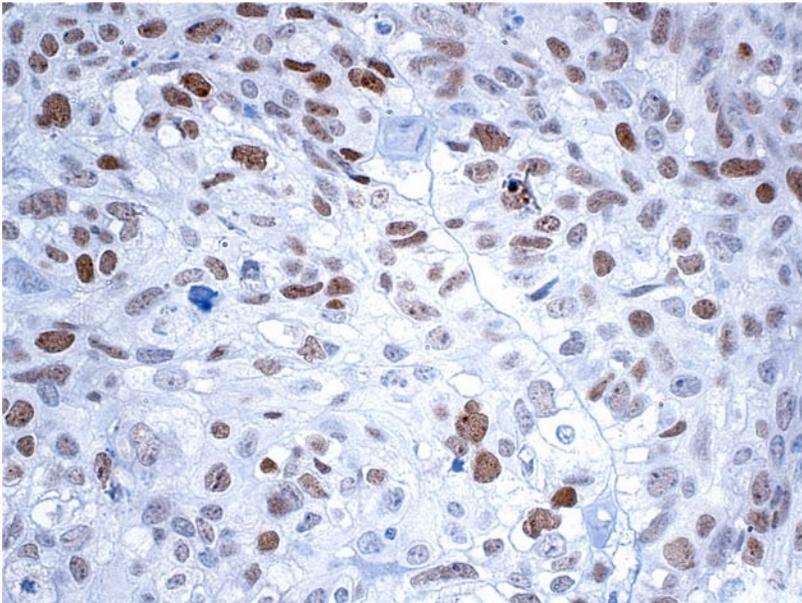


Figura 10. Carcinoma ameloblástico mostrando intensa marcação de p53 na maioria das células epiteliais (400X).

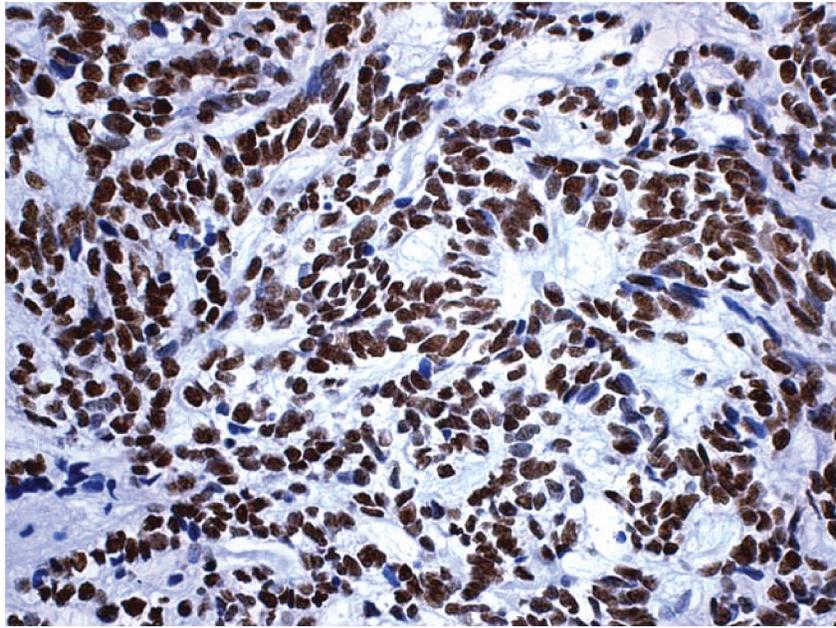


Figura 11. CA mostrando alta expressão das células tumorais para p63 (400X).

Dos marcadores de adesão celular, avaliou-se a expressão de CD138, E-caderina e β -catenina. A expressão de CD138 foi observada com maior intensidade principalmente nas células próximas à lâmina basal. Plasmócitos reativos no estroma fibroso também mostraram forte expressão para este marcador. Muitas ilhas epiteliais mostravam diminuição da intensidade ou perda da expressão de CD138 (Figura 12). Em 4 casos a expressão foi positiva em mais de 50% das células tumorais, em 6 casos a expressão ocorreu em 25-50% das células, e em 4 casos menos de 25% das células estavam marcadas (Tabela 10). E-caderina foi expressa em quantidade e intensidade variável nos 14 casos de CA (Figura 13), sendo negativa em 1 caso (Tabela 10). Dos casos positivos, 7 mostraram marcação em mais de 50% das células; 5 em 25-50% das células tumorais e em um caso a marcação foi em menos de 25% das células (Tabela 10). A marcação com β -catenina também foi variável, sendo negativa em 1 caso. De acordo com a quantificação feita, foi positiva em mais de 50% das células em 6 casos; em 4 com expressão em 25-50% e em 3 casos a marcação foi em menos de 25% das células tumorais. A expressão de β -catenina nuclear foi observada em 4 casos, mais frequentemente observou-se marcação citoplasmática (Figuras 15 e 16).

Tabela 10. Expressão de CD138, E-caderina e β -catenina nos 14 casos de carcinoma ameloblástico.

Caso	CD138		E-caderina		β -catenina	
	Intens.	Posit. (%)	Intens.	Posit. (%)	Intens.	Posit. (%)
1	++	1-25	+	50-100	+	50-100
2	+	1-25	+	25-50	+	1-25
3	+++	25-50	++	50-100	++	50-100
4	+++	50-100	++	25-50	+	1-25
5	+	25-50	Neg	Neg	Neg	Neg
6	+++	50-100	++	50-100	++	50-100
7	+++	50-100	+	50-100	+++	50-100
8	++	25-50	++	25-50	+	50-100
9	+	1-25	+	25-50	+	25-50
10	+++	25-50	+	50-100	+	50-100
11	+++	25-50	+	50-100	+	25-50
12	+++	25-50	++	25-50	+	25-50
13	+++	1-25	+	1-25	+	1-25
14	++	50-100	+	50-100	+	25-50

Intens- intensidade; Posit- positividade; Neg- Negativo; + (1-25%); ++ (25-50%); +++ (50-100%).

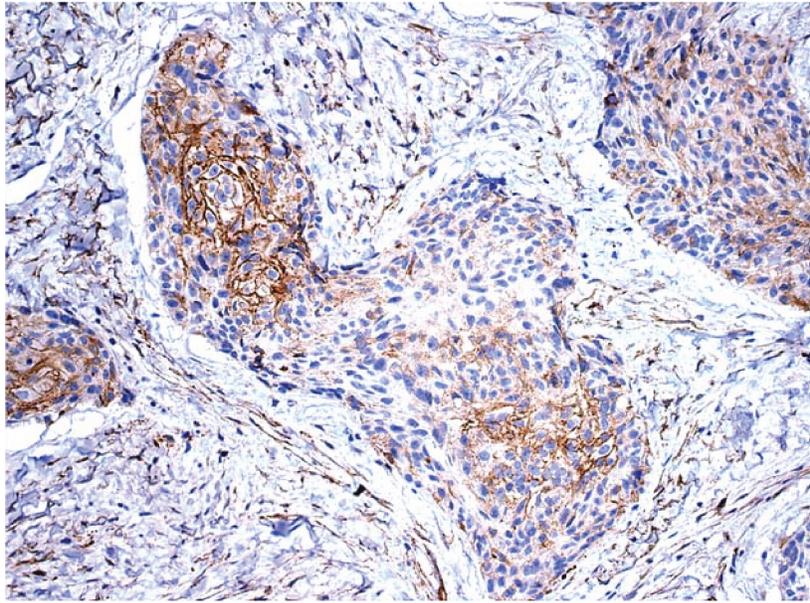


Figura 12. Carcinoma ameloblástico (caso 8) mostrando expressão de CD138. Na mesma ilha epitelial observa-se áreas com marcação forte, fraca e perda de expressão (200X).

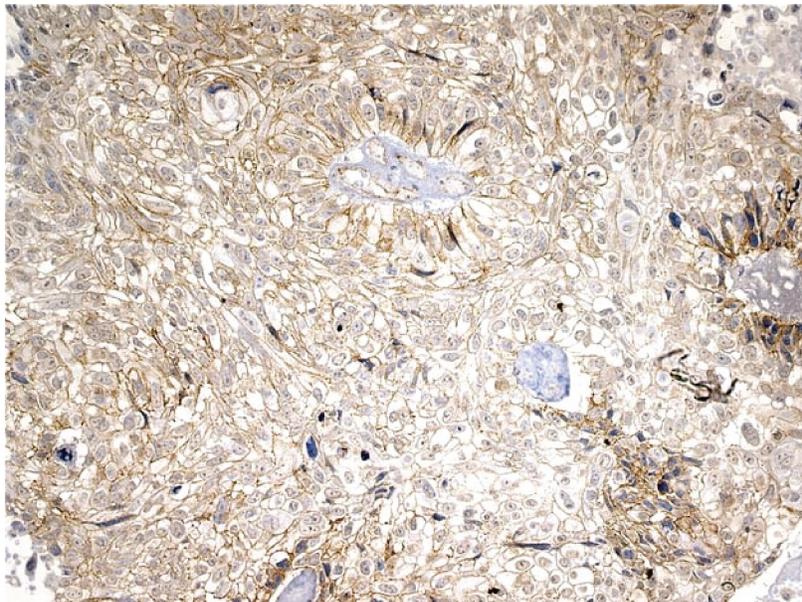


Figura 13. Carcinoma ameloblástico (caso 3) mostrando forte marcação para E-caderina (200X).

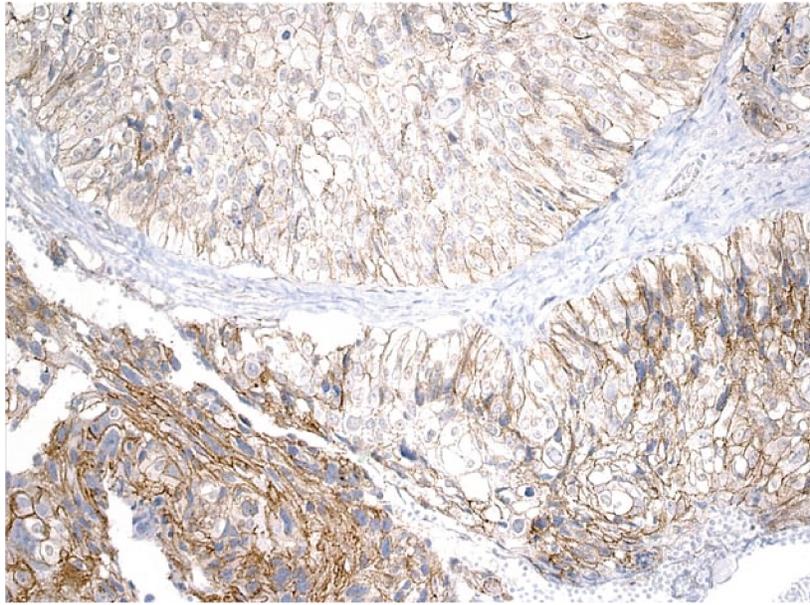


Figura 14. Carcinoma ameloblástico. Expressão de β -catenina no caso 3. A intensidade é variável nas diferentes áreas, indicando diferentes graus de união das células epiteliais (200X).

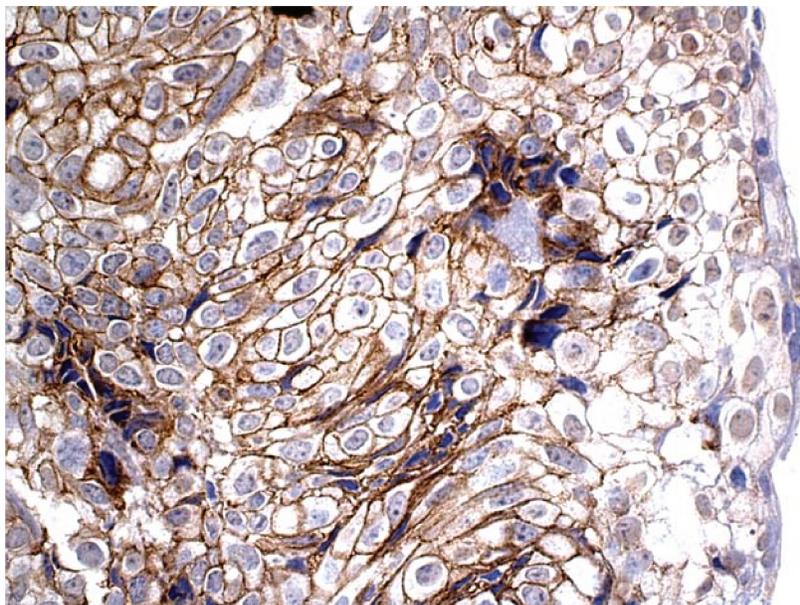


Figura 15. Carcinoma ameloblástico. Caso 3 mostrando algumas células com positividade nuclear para β -catenina sem perda da expressão inter-celular (400X).

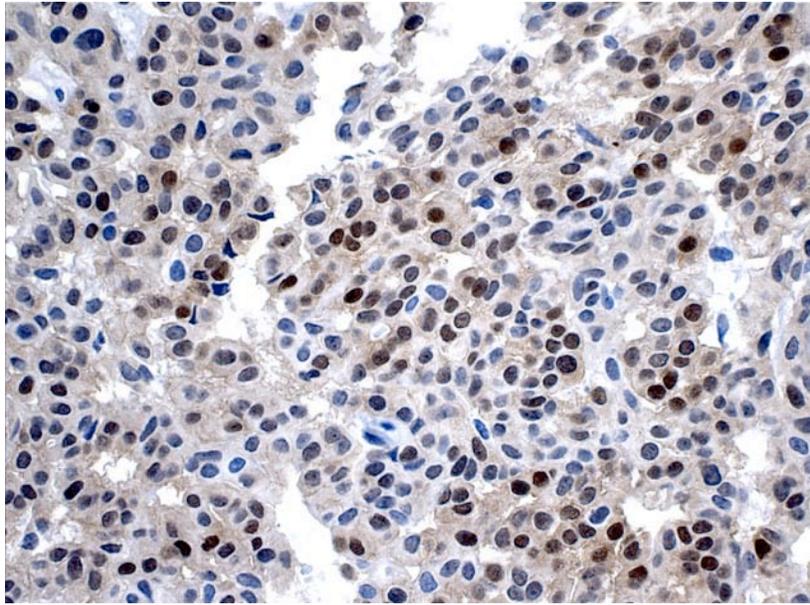


Figura 16. Carcinoma ameloblástico. Caso 7 mostrando a imunoposição de β -catenina em núcleo e citoplasma, além da marcação de membrana (400X).

5.2 CARCINOMA ESPINOCELULAR INTRA-ÓSSEO PRIMÁRIO

5.2.1 Características sócio-demográficas

Dos 7 casos diagnosticados como CEIP, a média de idade foi de 59,6 anos com variação de 19 a 73 anos, sendo 6 homens e 1 mulher. Destes casos, 5 apresentaram-se em mandíbula e 2 em maxila, todos ocorrendo na região posterior. O tempo de evolução registrado em 4 pacientes foi de 2 meses até 1 ano (Tabela 11).

Tabela 11. Informações clínicas dos 7 casos de carcinoma espinocelular intra-ósseo primário.

Caso	Idade	Gênero	Raça	Local	Região	Evolução
15	F	73	D	mandíbula	35-38	D
16	M	67	branco	mandíbula	posterior	1 ano
17	M	71	mestiço	mandíbula	47	5 meses
18	M	57	D	maxila	posterior	D
19	M	50	D	maxila	23-25	D
20	M	19	branco	mandíbula	47	2 meses
21	M	59	mestiço	mandíbula	36 e 37	9 meses

D-desconhecido

Dos sete casos de CEIP 4 foram do tipo sólido e 3 derivados de queratocisto odontogênico (Figuras 17 e 18).



Figura 17. Carcinoma espinocelular intra-ósseo primário. Radiografia panorâmica do caso 21, mostrando uma lesão radiolúcida associada aos dentes 36 e 37 com diagnóstico inicial de queratocisto odontogênico.



Figura 18. Radiografia da peça cirúrgica do paciente do caso 21 com tumoração na mandíbula. Extensa destruição óssea do corpo, ramo e côndilo, com diagnóstico final de CEIP.

5.2.2 Características histopatológicas

Os 4 casos de CEIP do tipo sólido apresentaram as características descritas na classificação dos tumores odontogênicos da OMS, ou seja ilhas ou cordões formados de células escamosas bem diferenciadas, com características similares ao carcinoma epinocelular de mucosa bucal (Figura 19). Em 50% dos casos (2) encontramos a presença de necrose, invasão perivascular e infiltrado inflamatório associado, e em 1 invasão perineural (Figura 20). As principais características histológicas dos 4 casos de CEIP sólido podem ser vistas na tabela 12.

Tabela 12. Avaliação histopatológica da presença de necrose, invasão perivascular, perineural, infiltrado inflamatório e calcificações distróficas dos 4 casos de carcinoma epinocelular intra-ósseo primário subtipo sólido.

Caso	Necrose	Invasão perivascular	Invasão perineural	Inflamação	Calcificação distrófica
15	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
16	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente
17	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
18	Presente	Ausente	Presente	Presente	Ausente

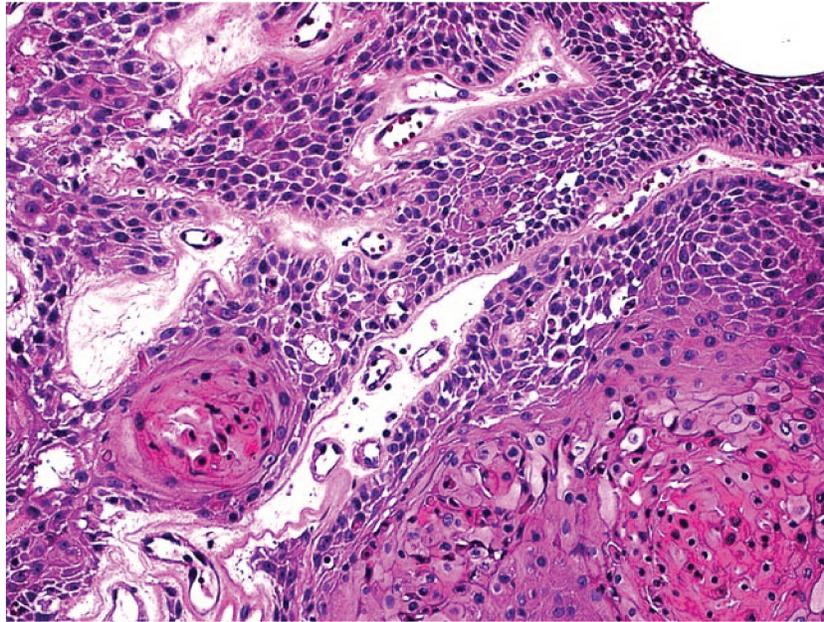


Figura 19. Aspecto histológico de CEIP tipo sólido do caso número 16. No centro das ilhas as células mostram diferenciação escamosa e formação incompleta de pérolas de queratina (HE, 200X).

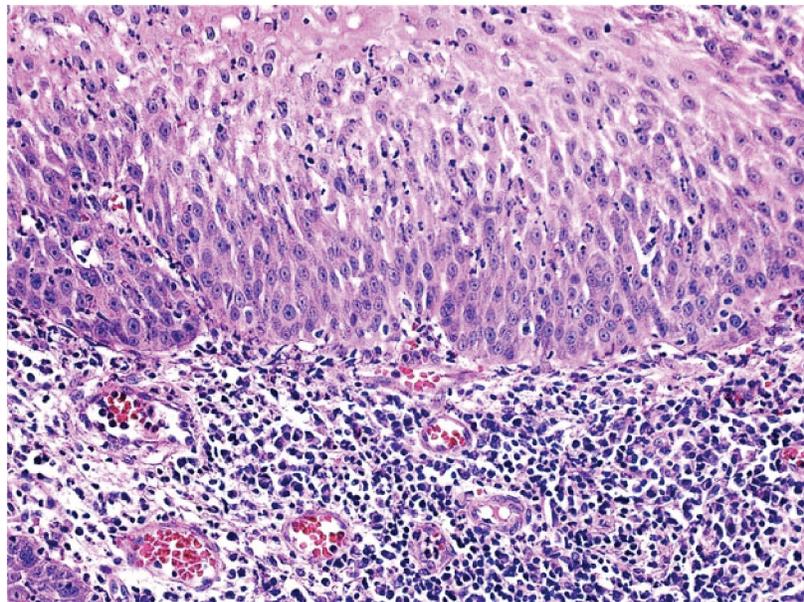


Figura 20. CEIP tipo sólido do caso 18, mostrando processo inflamatório associado ao epitélio neoplásico. Observe abundante exocitose no epitélio escamoso (HE, 200X).

Os 3 casos de CEIP derivados de queratocisto odontogênico apresentavam ilhas e cordões formados por células escamosas com pleomorfismo celular e figuras de mitoses. Em algumas destas ilhas observou-se formação de grande quantidade de queratina e características de queratocisto odontogênico (Figuras 21 a 23). Fragmentos de epitélio estavam soltos no conjuntivo, sem associação com os lençóis de células epiteliais. Necrose, invasão perivascular, perineural foram observados em apenas 1 caso, enquanto que em 3 casos observou-se infiltrado inflamatório associado (Tabela 13) (Figura 24).

Tabela 13. Avaliação histopatológica da presença de necrose, invasão perivascular, perineural, infiltrado inflamatório e calcificações distróficas dos 3 casos de carcinoma espinocelular intra-ósseo primário derivados do queratocisto odontogênico.

Caso	Necrose	Invasão perivascular	Invasão perineural	Inflamação	Calcificação distrófica
19	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente
20	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente
21	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausente

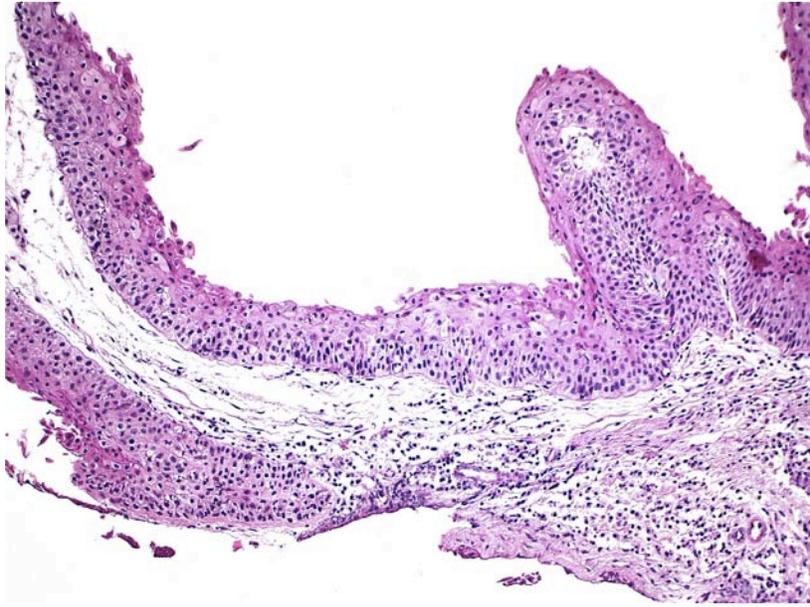


Figura 21. CEIP do caso 19 mostrando fragmento de epitélio com características de queratocisto odontogênico (HE, 50X).

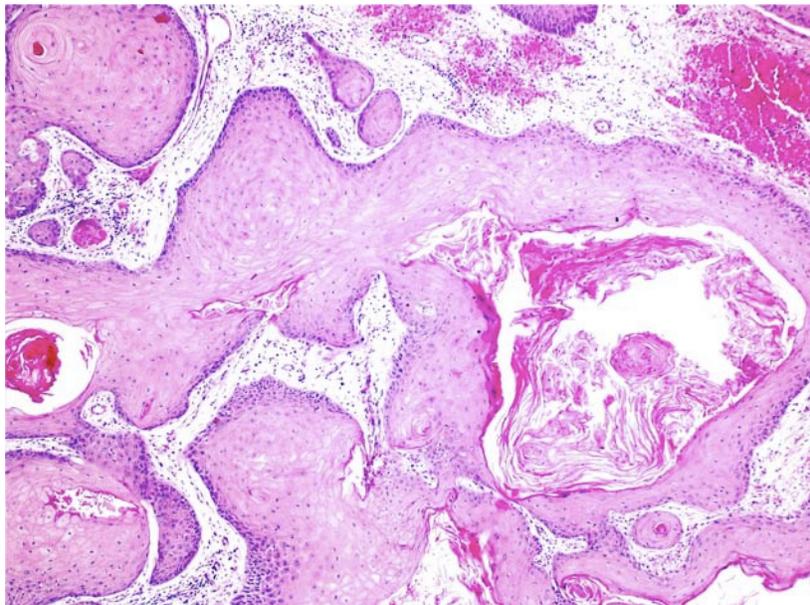


Figura 22. CEIP do caso 20, mostrando a presença de fragmento de epitélio com características de queratocisto e transformao para carcinoma espinocelular intra-ósseo primário (HE, 200X).

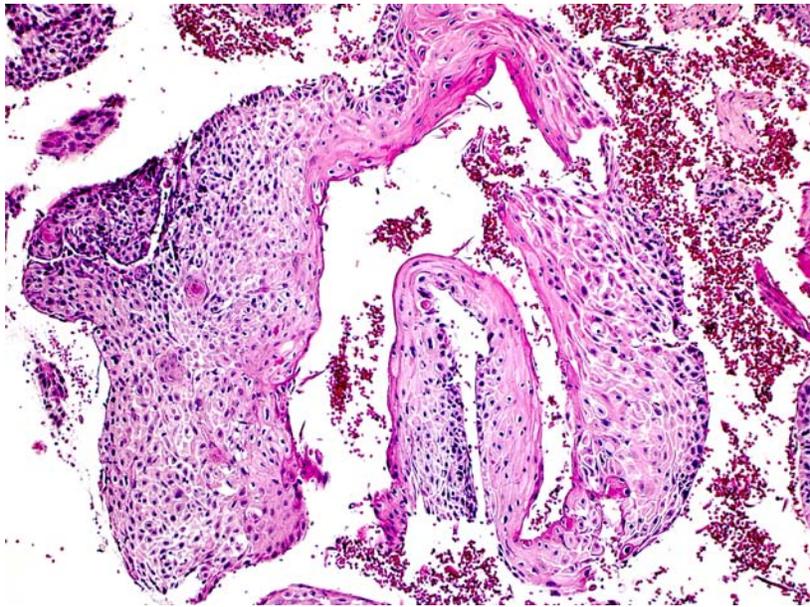


Figura 23. Caso 21 mostrando região de transição do queratocisto para neoplasia maligna, CEIP derivado de queratocisto (HE, 200X).

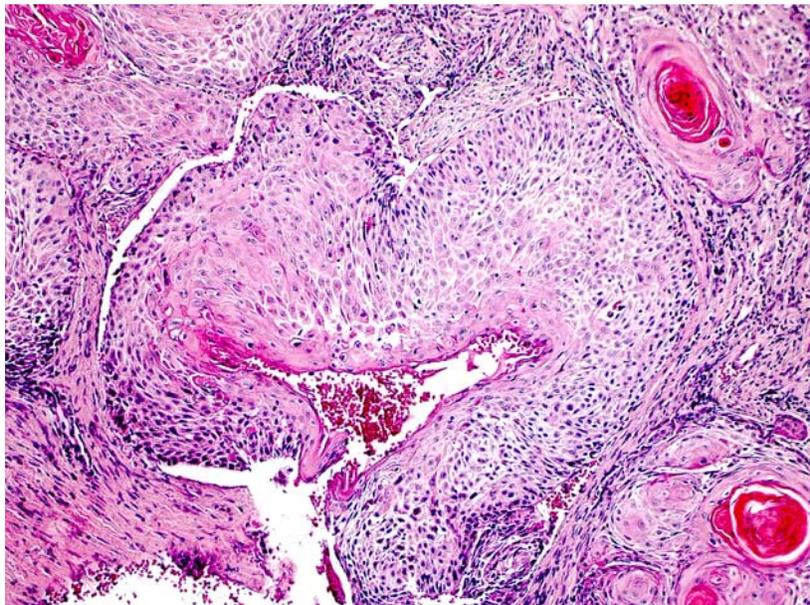


Figura 24. Caso 21 mostrando CEIP derivado de queratocisto. A porção luminal da ilha no centro do campo ainda conserva características de queratocisto. Pequenas ilhas epiteliais invadem o conjuntivo adjacente, observando também infiltrado inflamatório no conjuntivo adjacente (HE, 200X).

5.2.3 Características imunoistoquímicas

Nos 4 casos de CEIP tipo sólido foi avaliada a expressão de citoqueratinas 5, 7, 14 e 19.

Nos casos de CEIP sólido a imunoexpressão de CK5 foi observada em todo o epitélio neoplásico, com ligeira maior intensidade na camada basal. Todos os casos mostraram mais de 50% das células tumorais marcadas.

A imunoexpressão de CK7 foi variável, sendo positiva em mais de 50% das células em um caso, em 2 casos em 25-50%, e negativo em um caso. CK14 foi positivo em 3 casos em mais de 50%, sendo negativo para um caso.

CK19 foi positiva principalmente nas células periféricas das ilhas epiteliais, sendo negativa na maioria das células centrais. Dos 4 casos avaliados 3 foram positivos em proporções variáveis de células centrais. Na avaliação dos 4 casos de CEIP sólido para CK19, observamos que o padrão de marcação foi principalmente nas camadas periféricas das ilhas epiteliais, sendo negativa na maioria das células centrais (Tabela 14 e Figura 25).

Na avaliação dos tumores com diagnóstico de CEIP derivados de queratocisto odontogênico a imunoexpressão de CK5 foi observada em todo o epitélio neoplásico, com ligeira maior intensidade na camada basal. Os 3 casos analisados mostraram mais de 50% das células tumorais marcadas. A imunoexpressão de CK7 foi positiva em 2 casos em menos de 25% das células tumorais, entretanto a marcação foi intensa. Um caso não expressou CK7. Os 3 casos analisados foram positivos para CK14 em mais de 50% das células tumorais, sendo que em 2 casos a marcação foi forte e no outro caso foi moderada. Na avaliação dos 3 casos para CK19, dois foram negativos e em 1 caso a positividade foi forte e em mais de 50% das células (Tabela 15 e Figura 26).

Tabela 14. Positividade e intensidade da reação imunoistoquímica para CKs 5, 7 14 e 19 nos 4 casos de carcinoma espinocelular intra-ósseo primário sólido.

Caso	CK5		CK7		CK14		CK19	
	Intens	Posit (%)						
15	+++	50-100	+	25-50	+++	50-100	+	1-25
16	++	50-100	Neg	Neg	+++	50-100	Neg	Neg
17	++	50-100	+	25-50	++	50-100	++	50-100
18	++	50-100	++	50-100	Negat	Negat	+	25-50

Intens- intensidade; Posit- positividade; Neg- Negativo; + (1-25%); ++ (25-50%); +++ (50-100%).

Tabela 15. Positividade e intensidade da reação imunoistoquímica para CKs 5, 7 14, 19 nos 3 casos de carcinoma espinocelular intra-ósseo primário derivado de queratocisto odontogênico.

Caso	CK5		CK7		CK14		CK19	
	Intens	Posit (%)						
19	+++	50-100	+++	1-25	+++	50-100	Negat	Negat
20	+++	50-100	Negat	Negat	+++	50-100	+++	50-100
21	++	50-100	+++	1-25	++	50-100	Negat	Negat

Intens- intensidade; Posit- positividade; Neg- Negativo; + (1-25%); ++ (25-50%); +++ (50-100%).

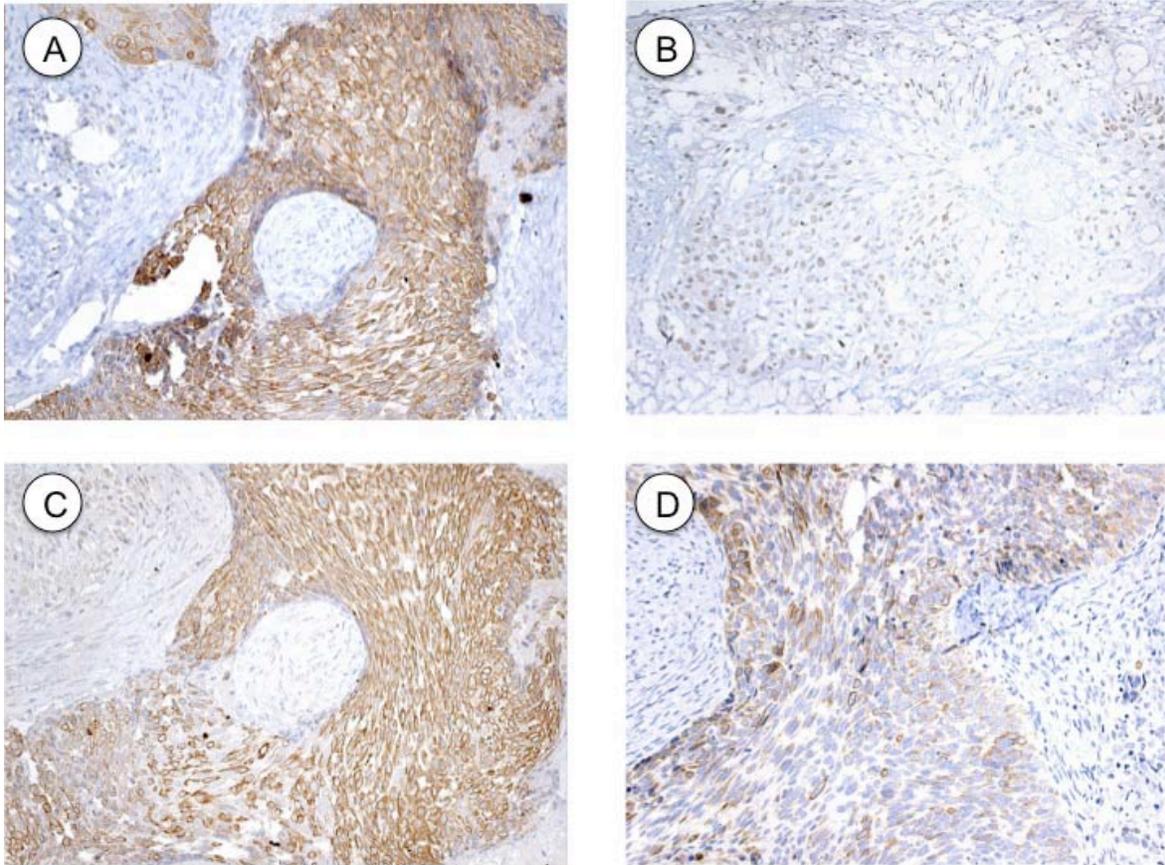


Figura 25. CEIP. A) Intensa imunoposição para CK5 no caso 17. As camadas periféricas estão marcadas (200X); B) Escassa imunoposição para CK7 no caso 17 (200X); C) Forte imunoposição de CK14 (caso 17) na mesma região que foi positiva para CK5 (200X); D) Moderada imunoposição de CK19 no caso 17 com células marcadas focalmente (200X).

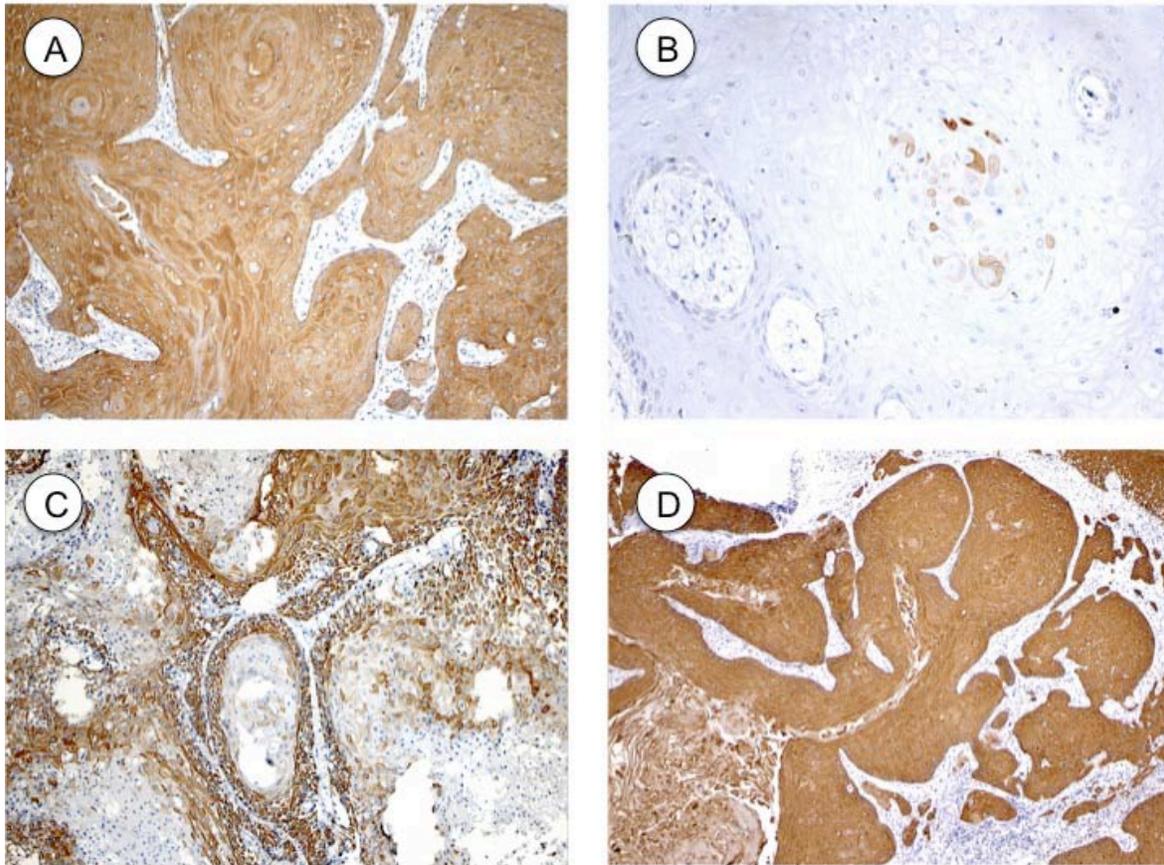


Figura 26. CEIP derivado de queratocisto. A) Intensa imunoexpressão para CK5 no caso 20. Nota-se o padrão de marcação generalizado na camada basal como no interior da ilha epitelial (200X); B) Escassa imunoexpressão para CK7 no caso 21, mas com intensidade forte (200X); C) Imunoexpressão de CK14 no caso 20 (200X); D) Imunoexpressão de CK19 no caso 20 com intensa marcação em todas as células epiteliais (200X).

A análise de Ki-67, p53 e p63 foi feita como descrito anteriormente para CA. Nos 4 casos de CEIP sólido, a média de expressão de Ki-67 foi de 53,2%, principalmente nas camadas basal e suprabasal. Por outro lado, p53 marcou as várias áreas do epitélio neoplásico, com média de 53% das células marcadas.

A expressão para p63 foi forte e observada em 91,3% das células do epitélio tumoral. As médias de positividade para Ki-67, p53 e p63 podem ser observadas na tabela 16.

Nos casos de CEIP derivado de queratocisto a imunoexpressão de Ki-67 foi positiva em 52,6% das células tumorais, 54,4% para p53 e 91,3% para p63, sendo positivo nos 3 casos avaliados (Tabela 17 e Figuras 27 a 29).

Tabela 16. Média de positividade para Ki-67, p53 e p63 nos 4 casos de carcinoma espinocelular intra-ósseo primário subtipo sólido.

Diagnóstico	Ki-67	p53	p63
No.	(%)	(%)	(%)
15	72,7	64,3	93,9
16	52,5	33,9	90,5
17	53,7	45,7	98,2
18	34	73,6	82,4
CEIP TS(4)	53,2	54,4	91,3

CEIPS- carcinoma espinocelular intra-ósseo primário sólido.

. Tabela 17. Média de positividade para Ki-67, p53 e p63 nos 3 casos de carcinoma espinocelular intra-ósseo primário derivado de um queratocisto.

Diagnóstico	Ki-67	p53	p63
No.	(%)	(%)	(%)
19	34,7	100	98,2
20	49,0	38,8	91,6
21	74,1	28,1	85,4
CEIP DQ (3)	52,6	55,6	91,7

CEIPDQ- carcinoma espinocelular intra-ósseo primário derivado de um queratocisto.

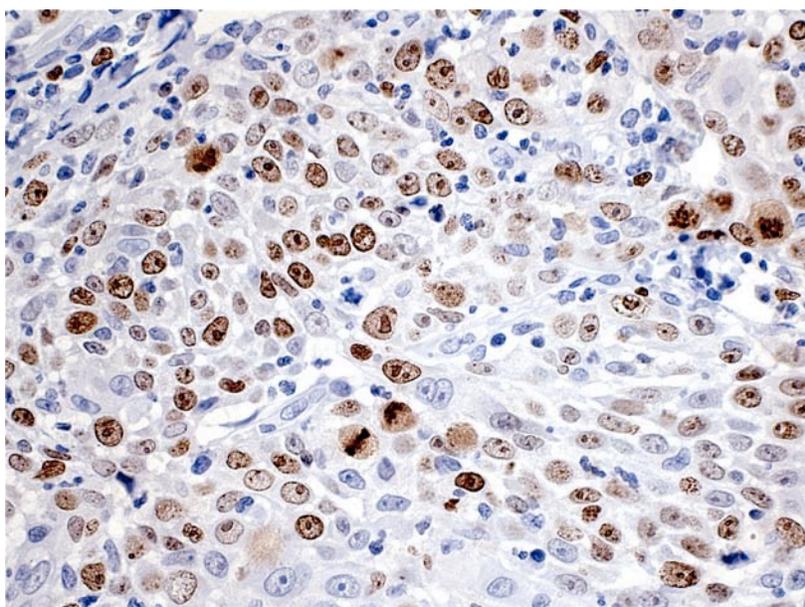


Figura 27. Forte imunoexpressão de Ki-67 no caso 21 de CEIP derivado de queratocisto (400X).

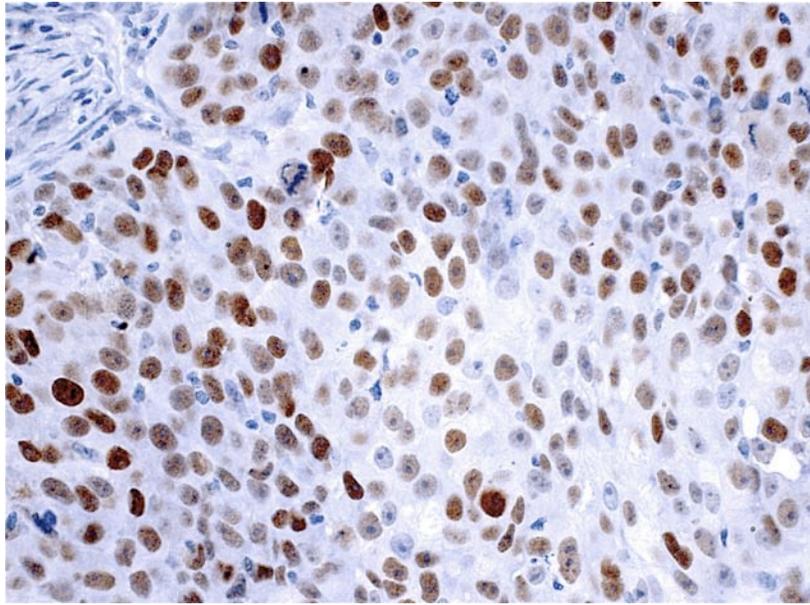


Figura 28. Imunoexpressão de p53 no caso 20, CEIP derivado de queratocisto (400X).

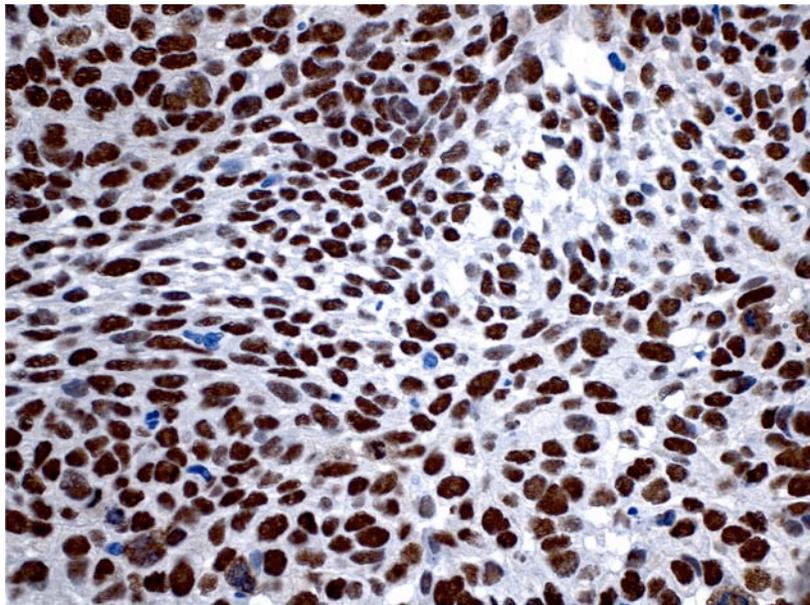


Figura 29. Forte imunoexpressão de p63 no caso 17 de CEIP derivado de queratocisto (400X).

Na análise dos 4 casos com diagnóstico de CEIP sólido encontramos que o padrão de marcação com CD138 foi mais intenso nas camadas basais e suprabasais, com perda da expressão ou da intensidade em áreas focais ou mais extensas. Todos os casos foram positivos, com 2 casos mostrando mais de 50% das células marcadas.

A expressão de E-caderina também foi observada em todos os casos, com 3 casos mostrando marcação em mais de 50% das células tumorais. β -catenina foi expressa principalmente nas camadas basal e suprabasal, tendo sido positiva nos 4 casos avaliados, e em mais de 50% das células estavam marcadas. Nestes casos não foram observadas expressões nucleares (Tabela 18 e Figuras 30 a 32).

Tabela 18. Média e intensidade de marcação de CD138, E-caderina e β -catenina nos 4 casos de carcinoma espinocelular intra-ósseo primário tipo sólido.

Caso	CD-138		E-caderina		β -catenina	
	Intens.	Posit. (%)	Intens.	Posit. (%)	Intens.	Posit. (%)
15	++	1-25	++	50-100	++	50-100
16	++	50-100	++	50-100	+	50-100
17	++	50-100	++	50-100	++	50-100
18	+	25-50	+	1-25	+	1-25

Intens- intensidade; Posit- positividade; Neg- Negativo; + (1-25%); ++ (25-50%); +++ (50-100%).

Os 3 casos de CEIP derivados de queratocistos também foram avaliados com as moléculas de adesão, com o padrão de marcação foi similar ao observado nos casos do tipo sólido para os três marcadores (Figuras 30-32). Na análise de CD138 encontramos que 2 casos (66,7%) foram positivos em mais de 50% das células tumorais, com intensidade moderada. Um caso mostrou positividade em 25-50% das células neoplásicas.

A expressão de E-caderina nos três casos de CEIP derivados de queratocistos foi positiva em mais de 50% das células neoplásicas, sendo todos de intensidade leve.

Na análise de β -catenina os 3 casos foram positivos, sendo 2 casos em mais de 50% das células neoplásicas. Não foi observada marcação nuclear nos 3 casos de CEIP derivados de queratocisto (Tabela 19).

Tabela 19. Média e intensidade de marcação de CD138, E-caderina e β -catenina nos 3 casos de carcinoma espinocelular intra-ósseo primário derivado de um queratocisto.

Caso	CD-138		E-caderina		β -catenina	
	Intens.	Posit. (%)	Intens.	Posit. (%)	Intens.	Posit. (%)
19	++	50-100	+	50-100	++	50-100
20	++	25-50	+	50-100	+	25-50
21	++	50-100	+	50-100	++	50-100

Intens- intensidade; Posit- positividade; Neg- Negativo; + (1-25%); ++ (25-50%); +++ (50-100%).

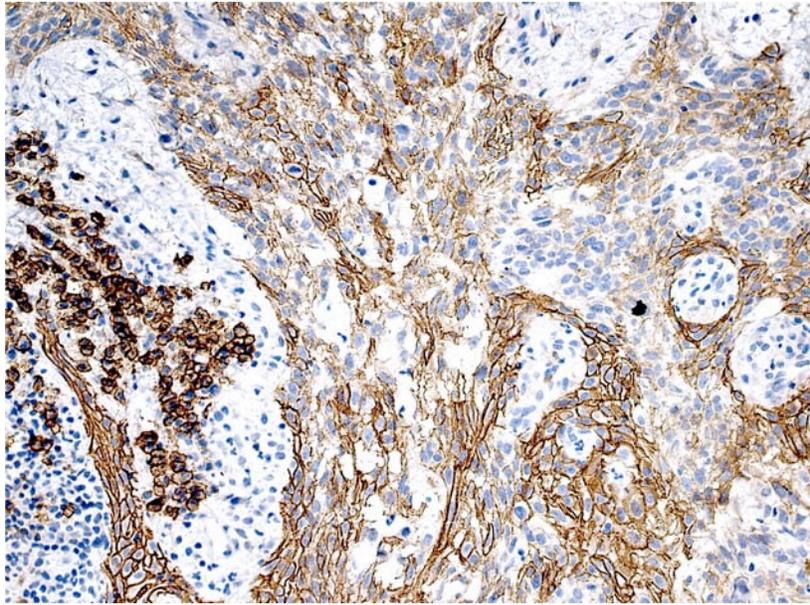


Figura 30. Imunoexpressão de CD138 no caso 19 de CEIP derivado de queratocisto. A marcação é variável, sendo mais intensa nas áreas periféricas. Observa-se a positividade de plasmócitos no estroma fibroso (200X).

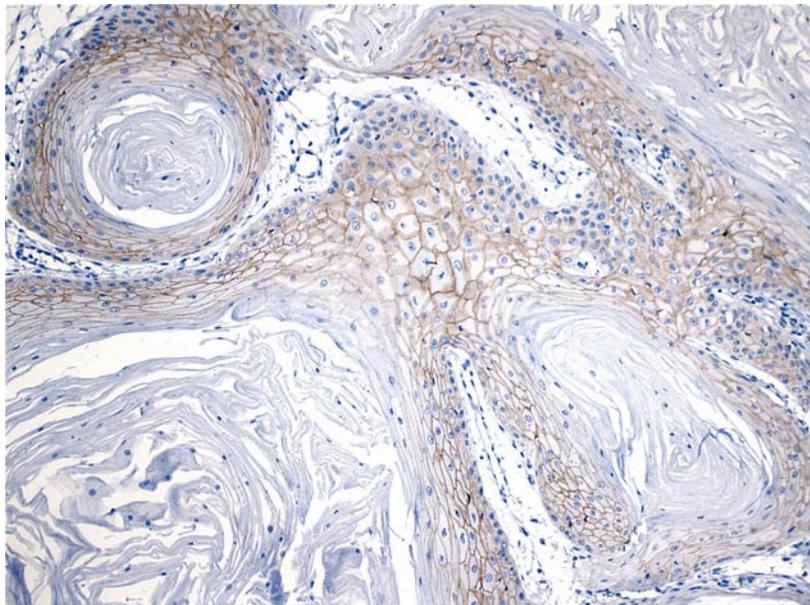


Figura 31. Imunoexpressão de E-caderina no caso 18. As áreas centrais mais queratinizadas são negativas (200X).

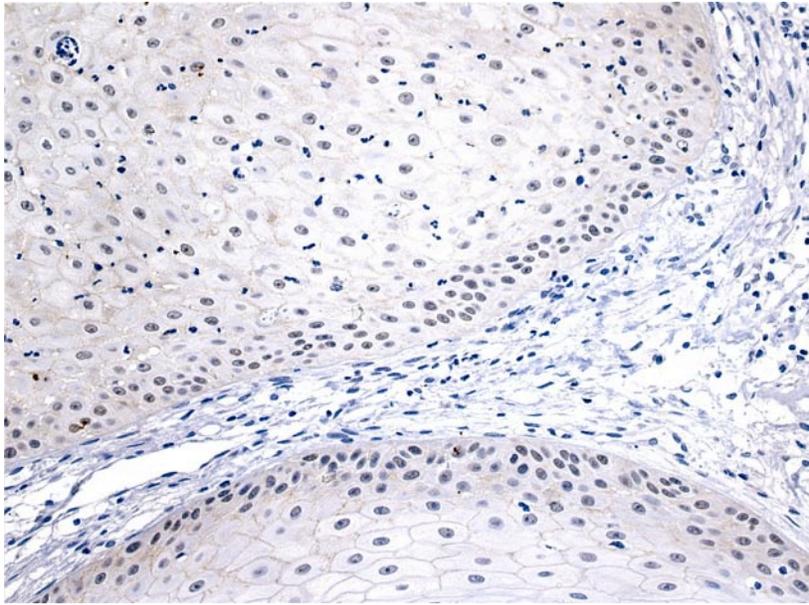


Figura 32. Marcação positiva mas bastante fraca para β -catenina no caso 18. (200X).

5.3 CARCINOMA ODONTOGÊNICO DE CÉLULAS CLARAS

5.3.1 Características sócio-demográficas

Considerando-se os 4 casos de COCC, a idade média foi de 73,6 anos, com variação de 63 a 81 anos, sendo 3 do gênero feminino e um desconhecido. Radiograficamente todas as lesões foram radiolúcidas (Figura 33), 3 acometendo a região posterior da mandíbula e 1 desconhecido (Tabela 20).

Tabela 20. Características clínicas dos casos de carcinoma odontogênico de células claras.

Caso	Gênero	Idade	Raça	Local	Região	Evolução
22	F	77	branca	mandíbula	44 e 45	2 meses
23	D	D	D	D	D	D
24	F	63	branco	mandíbula	45	2 meses
25	F	81	D	mandíbula	posterior	D

D- Desconhecido



Figura 33. Radiografia panorâmica de carcinoma odontogênico de células claras que corresponde ao caso 24, mostrando lesão radiolúcida unilocular no corpo mandibular direito com bordas irregulares.

5.3.2 Características histopatológicas

Os 4 casos de COCC mostraram histologicamente padrão bifásico, com ilhas e ninhos de células claras, além de células poligonais de núcleo picnótico e citoplasma eosinofílico (Figuras 34 e 35). O estroma é fibroso, ligeiramente hialino. A maioria das ilhas não apresentava camada em paliçada, além de pouco pleomorfismo e figuras de mitoses. Quanto a outras alterações, dois casos mostravam invasão perivascular, mas necrose, invasão perineural, calcificações distróficas e inflamação eram ausentes.

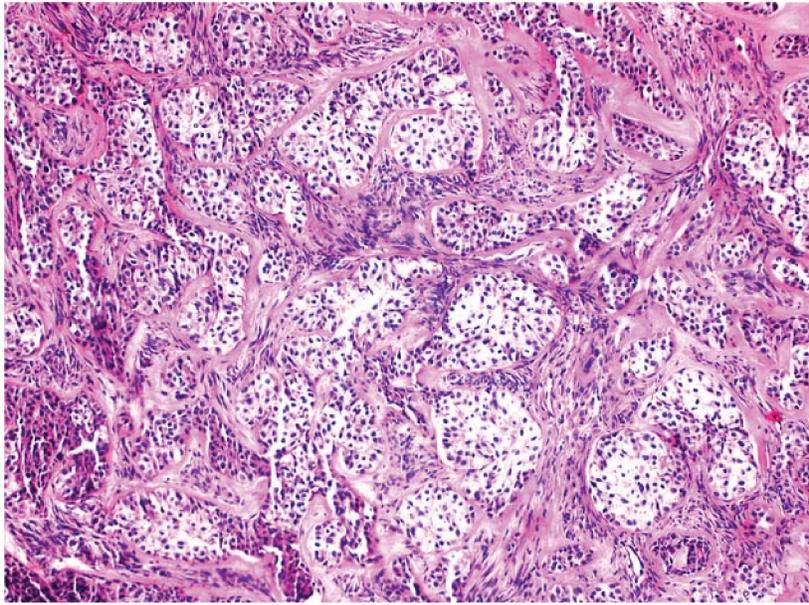


Figura 34. Carcinoma odontogênico de células claras (caso 23) constituído por ninhos de células neoplásicas, envolvidos por abundante tecido fibroso hialino (HE, 200X).

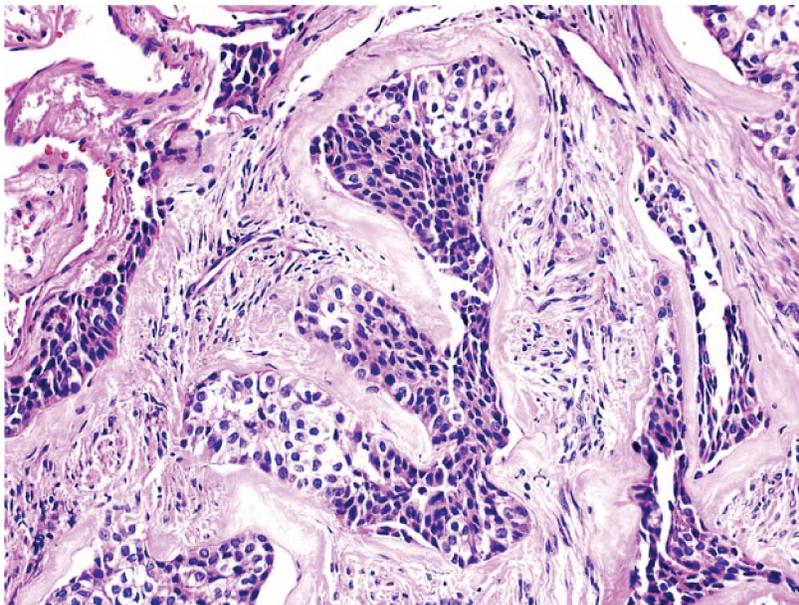


Figura 35. Caso 24 que corresponde a um carcinoma odontogênico de células claras de padrão bifásico, com células claras e eosinofílicas (HE, 200X).

As células claras mostram glicogênio no interior do citoplasma, como é mostrado pela reação de PAS (Figura 36).

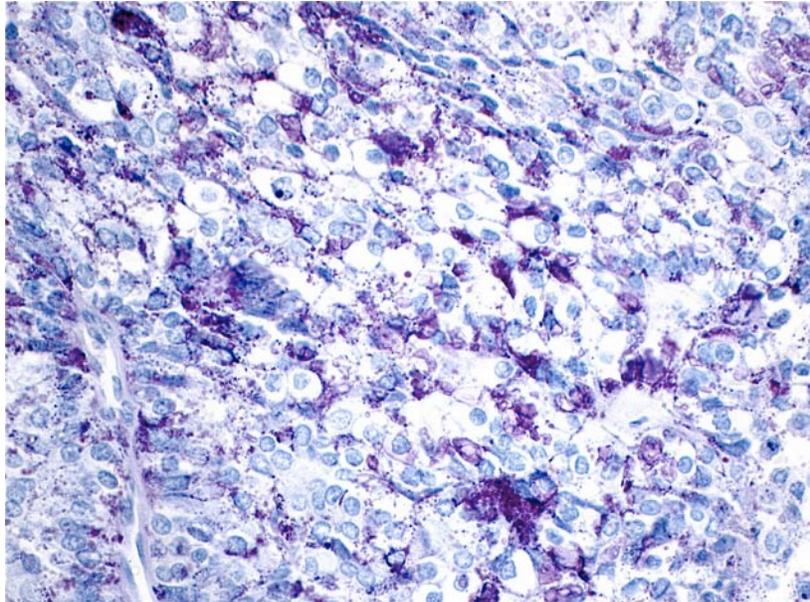


Figura 36. Carcinoma odontogênico de células claras mostrando grânulos de glicogênio dentro do citoplasma das células claras (PAS sem diastase, 400X).

5.3.3 Características imunoistoquímicas

A imunoexpressão de CK5 foi de intensidade forte em todos os casos e observada em todas as células das ilhas epiteliais. Em todos os casos a expressão foi em mais de 50% das células tumorais. A imunoexpressão de CK7 foi negativa em 3 casos, sendo positiva apenas em 1 caso, em escassas células eosinofílicas.

CK14 foi positiva nos 4 casos analisados em mais de 50% das células, sendo forte em 1 caso, moderado em 1 e leve em dois casos. CK19 foi expressa nos 4 casos, sendo que em 2 casos em mais de 50% das células (Tabela 21), (Figura 37).

Tabela 21. Positividade e intensidade da reação imunoistoquímica para CKs 5, 7, 14, 19 nos 4 casos de carcinoma odontogênico de células claras.

Caso	CK5		CK7		CK14		CK19	
	Intens	Posit (%)						
22	+++	50-100	Neg	Neg	+	50-100	+++	1-25
23	+++	50-100	Neg	Neg	+++	50-100	+++	50-100
24	+++	50-100	+	1-25	++	50-100	+++	50-100
25	++	50-100	Neg	Neg	+	50-100	+++	1-25

Intens- intensidade; Posit- positividade; Neg- Negativo; + (1-25%); ++ (25-50%); +++ (50-100%).

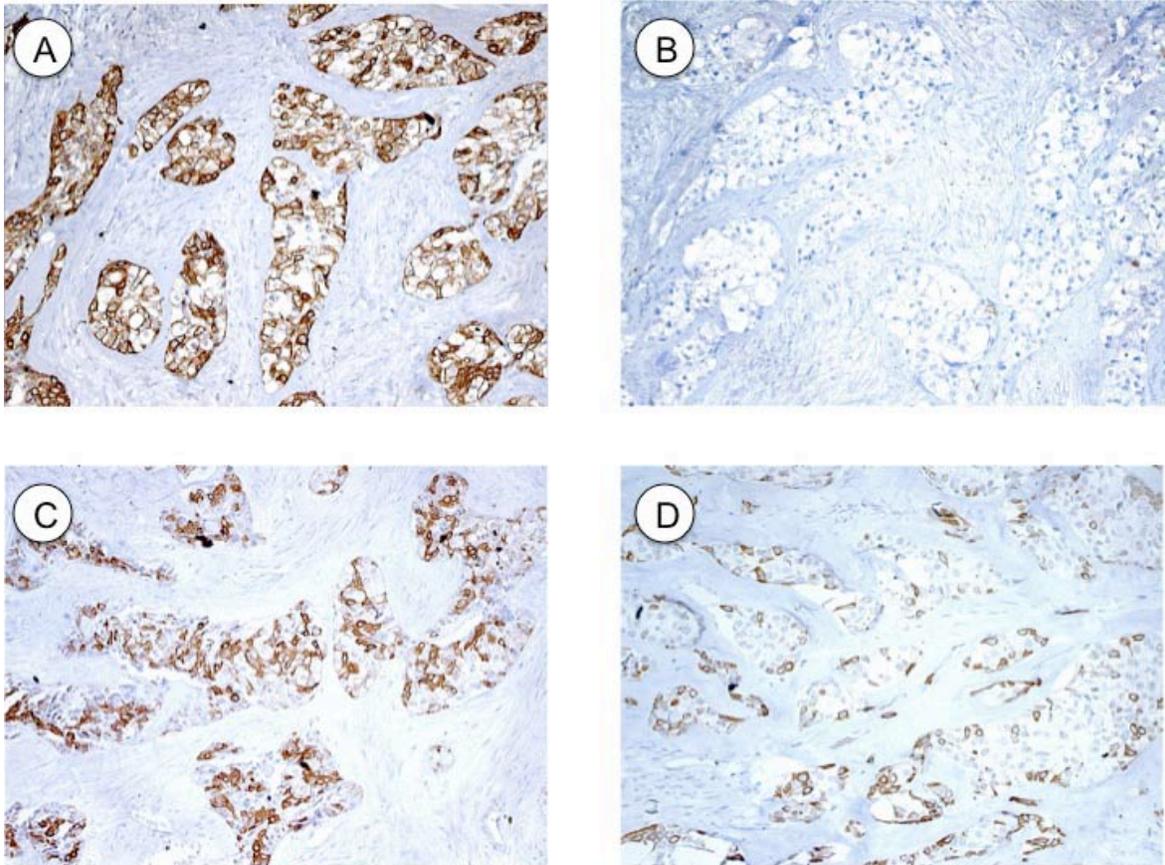


Figura 37. A) Intensa imunoexpressão para CK5 no caso 23 de COCC (200X); B) Imunoexpressão negativa para CK7 no caso 24 (200X); C) Forte imunoexpressão de CK14 em algumas células epiteliais do caso 23 (200X); D) Imunoexpressão de CK19 no caso 24, principalmente nas células periféricas (200X).

A expressão para Ki-67 foi observada focalmente em poucas regiões do tecido neoplásico, mostrando variação na intensidade de marcação (Figura 38). A maioria das ilhas foram negativas, mas em algumas o índice de marcação chegou a 9,0%.

A expressão de p53 foi pequena, com marcação de 4,5% das células (Figura 39). No análise de p63, todos os casos foram positivos com 60,8% das células, exceto no caso 22 que mostrou ser negativo (Figura 40). A tabela 22 mostra as porcentagens de Ki-67, p53 e p63 nos 4 casos de COCC.

Tabela 22. Porcentagem da imunoexpressão de Ki-67, p53 e p63 nos 4 casos de carcinoma odontogênico de células claras.

Diagnóstico	Ki-67	p53	p63
No.	(%)	(%)	(%)
22	5,1	0,0	0,0
23	2,3	0,0	81,9
24	19,3	10,9	98,9
25	9,4	7,0	62,4
COCC (4)	9,0	4,5	60,8

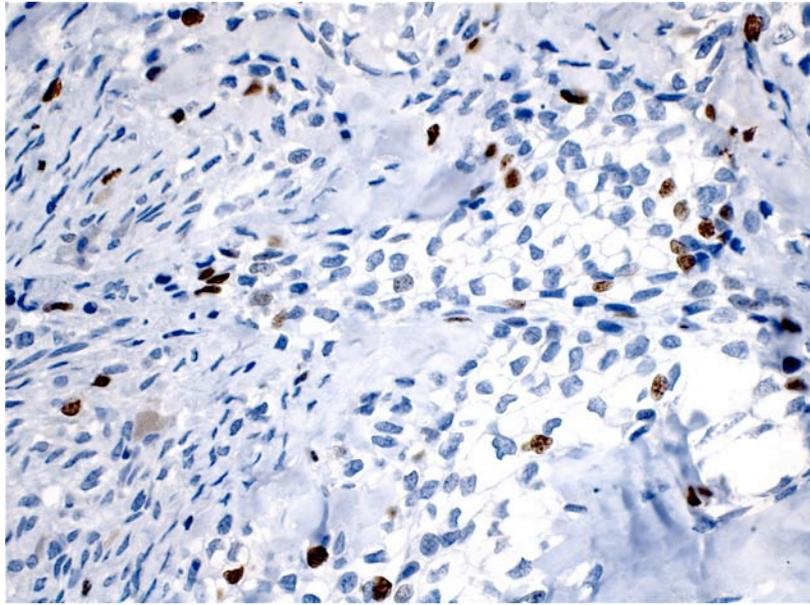


Figura 38. Imunoexpressão de Ki-67 no caso 24, com marcação nuclear (400X).

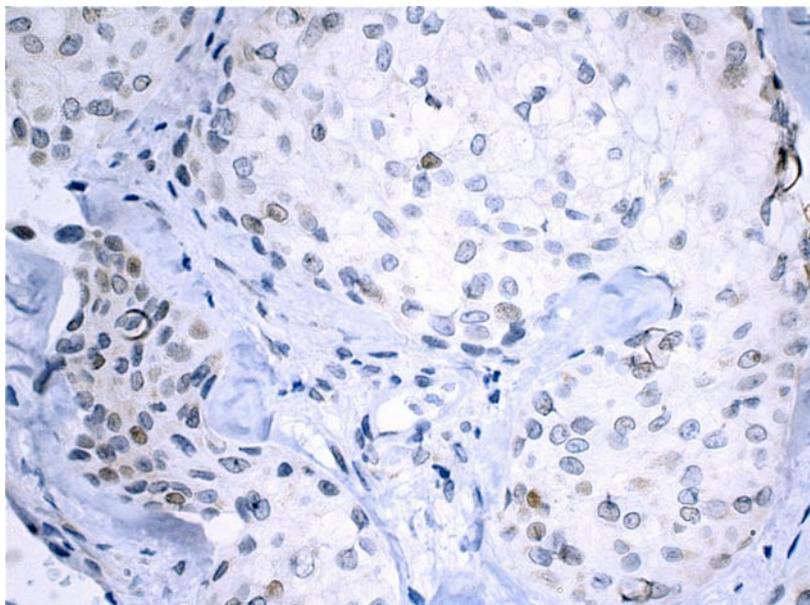


Figura 39. Imunoexpressão de p53 no caso 25 com escassas células neoplásicas marcadas fracamente (400X).

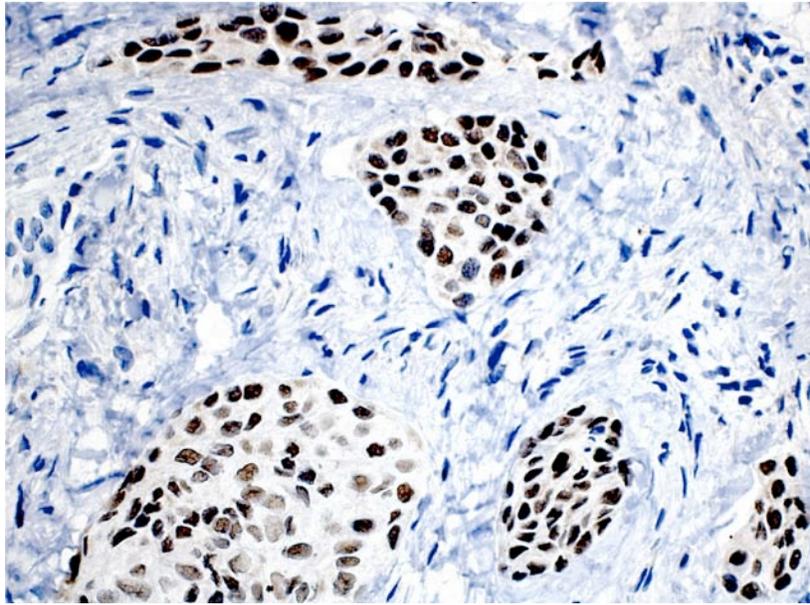


Figura 40. Carcinoma odontogênico de células claras exibindo alta positividade para p63. Observa-se expressão em praticamente todas as células com intensidade forte (400X).

Quanto à expressão de CD138, 3 casos foram positivos em 25-50% das células tumorais, e em um caso em menos de 25% das células (Figura 41). E-caderina foi expressa principalmente nas células poligonais eosinofílicas (Figura 42). Em 2 casos marcou mais de 50% das células tumorais, em um 25-50%, e também em 1 caso menos de 25% das células. Todos os casos expressaram β -catenina, mas em intensidade e quantidade variáveis, sendo que apenas um caso mostrou marcação em mais de 50% das células tumorais (Figura 43) e um caso mostrou marcação nuclear com esse marcador (Figura 44). Os dados da expressão destes marcadores são mostrados na tabela 23.

Tabela 23. Média de positividade e intensidade de marcação de CD138, E-caderina e β -catenina nos 4 casos de carcinoma odontogênico de células claras.

Caso	CD138		E - caderina		β -catenina	
	Intens.	Posit. (%)	Intens.	Posit. (%)	Intens.	Posit. (%)
22	++	1-25	++	50-100	+	25-50
23	++	25-50	+	1-25	+	1-25
24	+++	25-50	++	25-50	++	50-100
25	+++	25-50	++	50-100	++	25-50

Intens- intensidade; Posit- positividade; Neg- Negativo; + (1-25%); ++ (25-50%); +++ (50-100%).

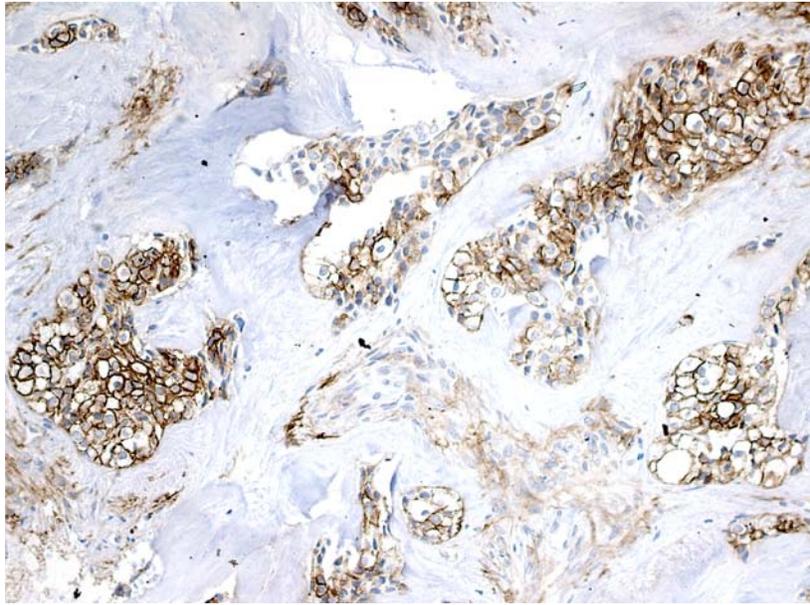


Figura 41. Carcinoma odontogênico de células claras mostrando expressão para CD138. A marcação é variável, sendo forte em algumas áreas e praticamente negativa em outras (200X).

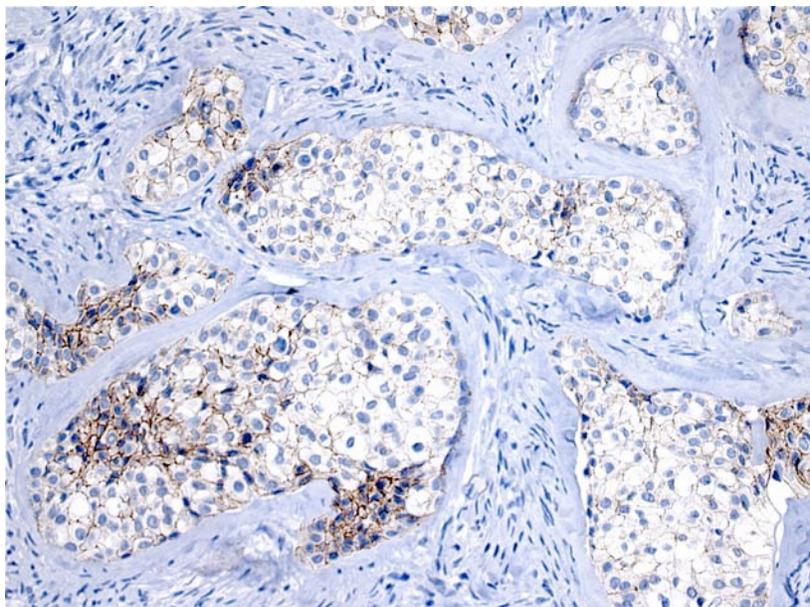


Figura 42. Imunoexpressão de E-caderina em COCC. Observe maior intensidade de marcação nas células poligonais que nas células claras nos ninhos epiteliais (200X).

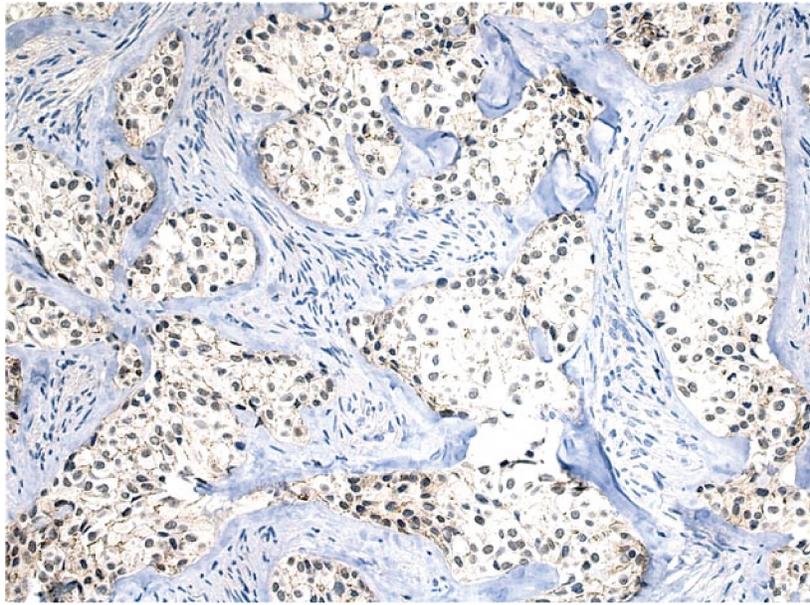


Figura 43. Imunoexpressão de β -catenina no caso 24. Observe maior intensidade de marcação na membrana das células poligonais, e negatividade ou fraca marcação nas células claras (200X).

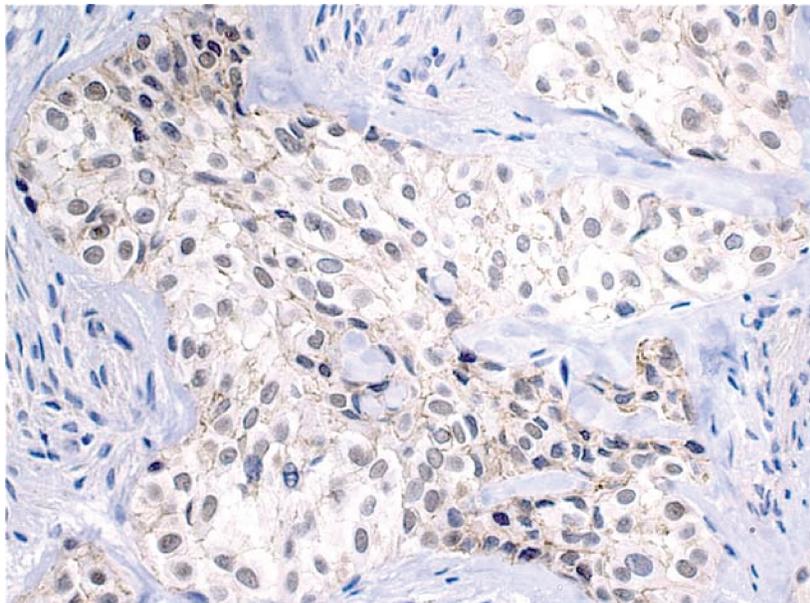


Figura 44. Imunoexpressão de β -catenina no caso 24. Observe marcação nuclear, principalmente nas células claras, conservando moderada expressão de membrana na maior parte da ilha epitelial (200X).

5.4 CARCINOMA ODONTOGÊNICO DE CÉLULAS FANTASMAS

5.4.1 Características sócio-demográficas

Foram diagnosticados 3 casos como COCF. Dentre as características clínicas encontramos que a idade média foi de 41,7 anos com variação de 27 a 57 anos, sendo os 3 do gênero masculino. Todas as lesões mostraram radiograficamente imagens radiolúcidas, sendo que 2 ocorreram em maxila e 1 em mandíbula, todos na região posterior (Tabela 24).

Tabela 24. Características clínicas dos 3 casos de carcinoma odontogênico de células fantasmas.

Caso	Gênero	Idade	Local	Região	Evolução
26	M	41	mandíbula	48	1 ano
27	M	27	maxila	13-16	8 anos
28	M	57	maxila	posterior	D

D- desconhecido

5.4.2 Características histopatológicas

Os 3 casos de COCF mostravam abundante epitélio ameloblástico, com algumas cavidades císticas de variados tamanhos, com escassas células claras e abundantes células eosinofílicas, anucleadas correspondentes às células fantasmas (Figura 45). Estas neoplasias apresentavam pleomorfismo celular e muitas células em mitose. Três casos mostravam presença de necrose, invasão perivascular e inflamação, enquanto que calcificação distrófica foi encontrada em 1 caso (Tabela 25 e Figuras 46 e 47).

Tabela 25. Avaliação histopatológica da presença de necrose, invasão perivascular, perineural, infiltrado inflamatório e calcificações distróficas dos 4 casos de carcinoma odontogênico de células fantasmas.

Caso	Necrose	Invasão perivascular	Invasão perineural	Inflamação	Calcificação distrófica
26	Presente	Presente	Ausente	Presente	Ausente
27	Presente	Presente	Ausente	Presente	Ausente
28	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente

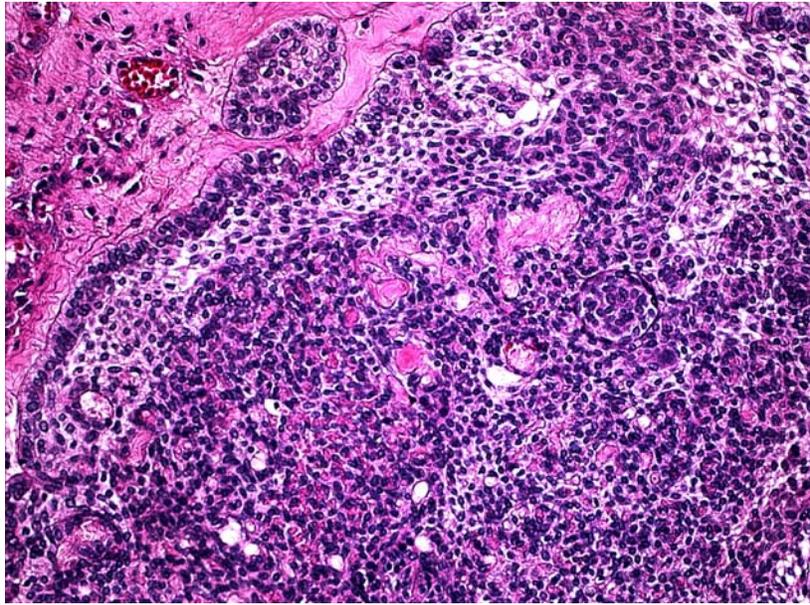


Figura 45. Carcinoma odontogênico de células fantasmas com abundante epitélio ameloblástico e células eosinofílicas anucleadas (HE, 200X).

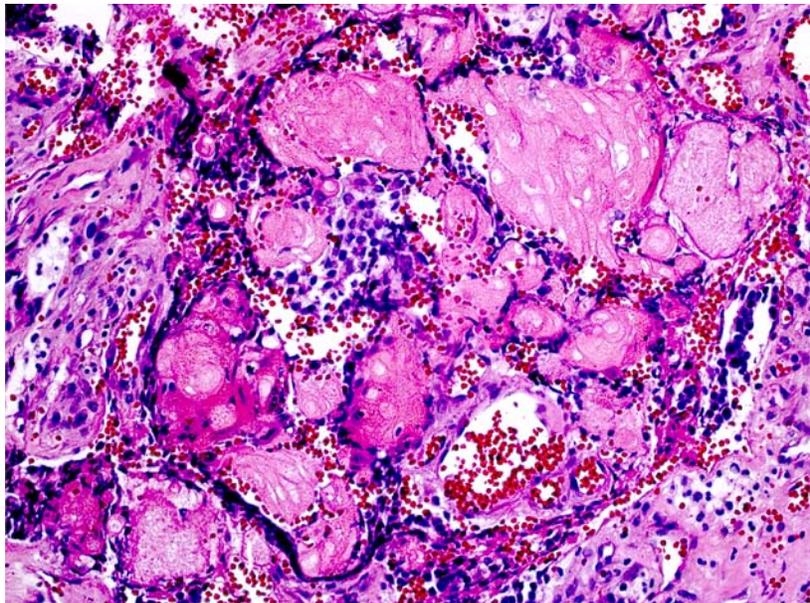


Figura 46. Carcinoma odontogênico de células fantasmas com invasão perivascular pelas células tumorais (HE, 400X).

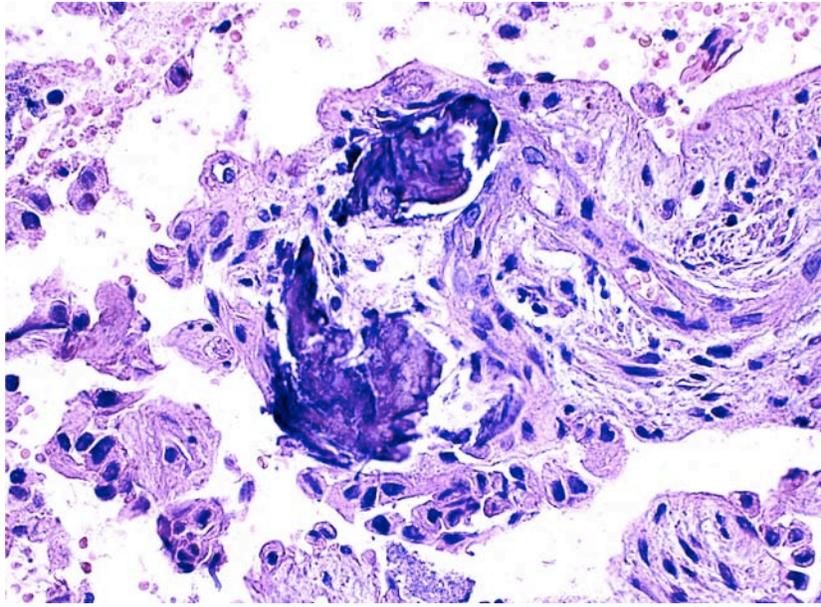


Figura 47. Calcificações distróficas observadas no caso 27. Observe o epitélio odontogênico ao redor das calcificações distróficas (HE, 400X).

5.4.3 Características imunoistoquímicas

A imunoexpressão de CK5 foi forte em todos os casos e observada em mais de 50% das células tumorais, principalmente nas células da camada basal.

CK7 foi positiva em 2 casos em mais de 50% das células tumorais, sendo 1 caso com intensidade de marcação leve e 1 forte. Um caso apresentou positividade de 25-50% das células tumorais com intensidade leve.

CK14 foi observada basicamente nas células periféricas das ilhas de epitélio ameloblástico, sendo que em dois casos mais de 50% das células estavam marcadas, com intensidade moderada, e em um caso 25-50% das células expressavam este marcador. Por outro lado, CK19 nas áreas que foi expressa, marcava principalmente as células poliédricas que lembram o retículo estrelado do órgão do esmalte, isto nas ilhas epiteliais de padrão folicular. Nas regiões plexiformes todas as células estavam marcadas. Apenas um caso marcou mais de 50% das células, sendo que um caso foi negativo. As células fantasmas foram negativas para as citoqueratinas analisadas em todos os casos. As características principais da imunoexpressão de citoqueratinas nos casos de COCF podem ser observadas na Tabela 26 e Figura 48.

Tabela 26. Positividade e intensidade da reação imunoistoquímica para CKs 5, 7, 14, 19 nos 3 casos de carcinoma odontogênico de células fantasmas.

Caso	CK5		CK7		CK14		CK19	
	Intens	Posit (%)						
26	+++	50-100	+	25-50	++	50-100	Negat	Neg
27	+++	50-100	+++	50-100	++	50-100	++	50-100
28	+++	50-100	+	50-100	+++	25-50	+++	25-50

Intens- intensidade; Posit- positividade; Neg- Negativo; + (1-25%); ++ (25-50%); +++ (50-100%).

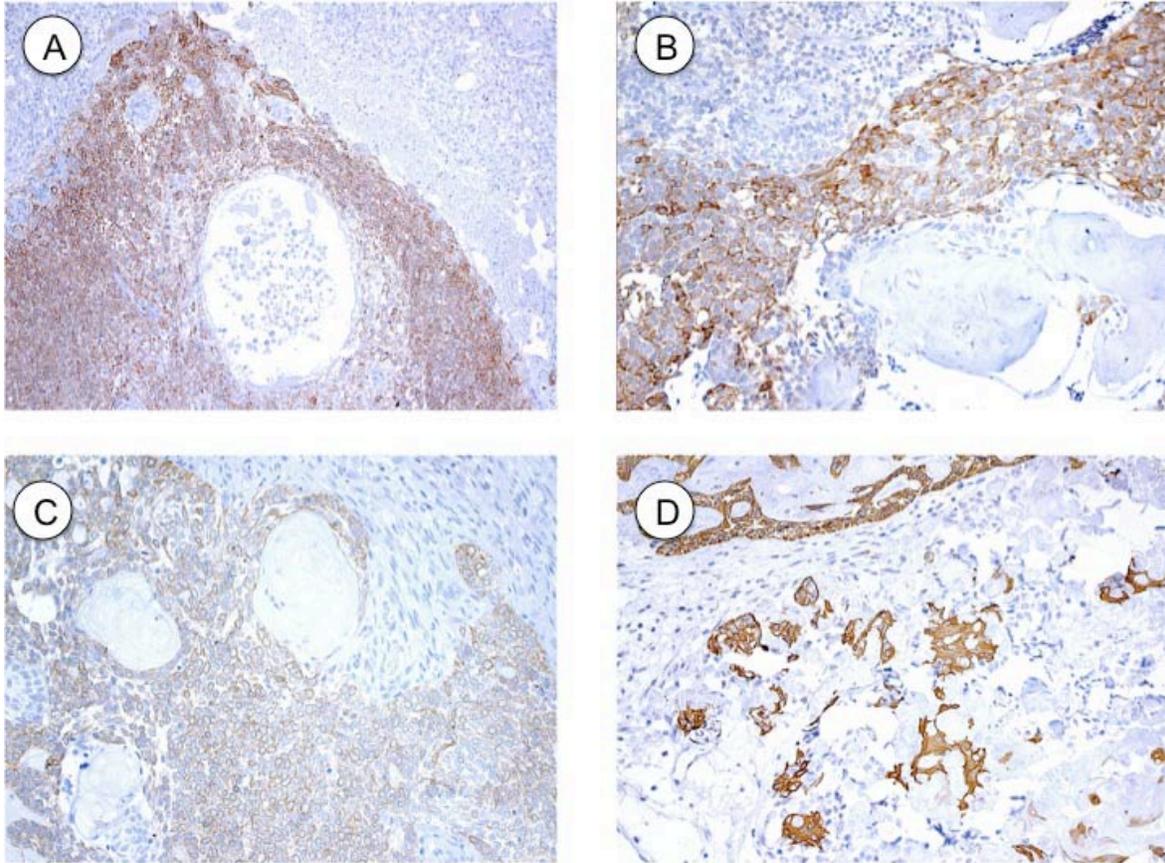


Figura 48. A) Imunoexpressão para CK5 no caso 26 de COCF. (200X); B) Imunoexpressão positiva para CK 7 no caso 26 (200X); C) Imunoexpressão de CK 14 no caso 27. Observa-se a moderada intensidade de marcação na maioria das células neoplásicas (200X); D) Imunoexpressão de CK19 no caso 28 com forte marcação em algumas áreas do epitélio neoplásico (200X).

Ki-67 marcou algumas células das camadas basais e suprabasais do epitélio ameloblástico, e eventualmente células de epitélio odontogênico isoladas no estroma fibroso (Figura 49). A média de positividade encontrada para Ki-67 foi de 17,4%.

A expressão de p53 também foi principalmente nas células basais e suprabasais, em 20,9% das células tumorais. A intensidade foi considerada fraca (Figura 50). A expressão de p63, foi forte em 95,9% das células (Tabela 27) (Figura 51). As células fantasmas mostraram negatividade para os três marcadores analisados.

Tabela 27. Porcentagem da imunoexpressão de Ki-67, p53 e p63 nos 3 casos de carcinoma odontogênico de células fantasmas.

Diagnóstico	Ki-67	p53	p63
No.	(%)	(%)	(%)
26	5,3	38,4	98,4
27	14,0	1,7	99,8
28	17,4	22,7	89,5
COCF (3)	17,4	20,9	95,9

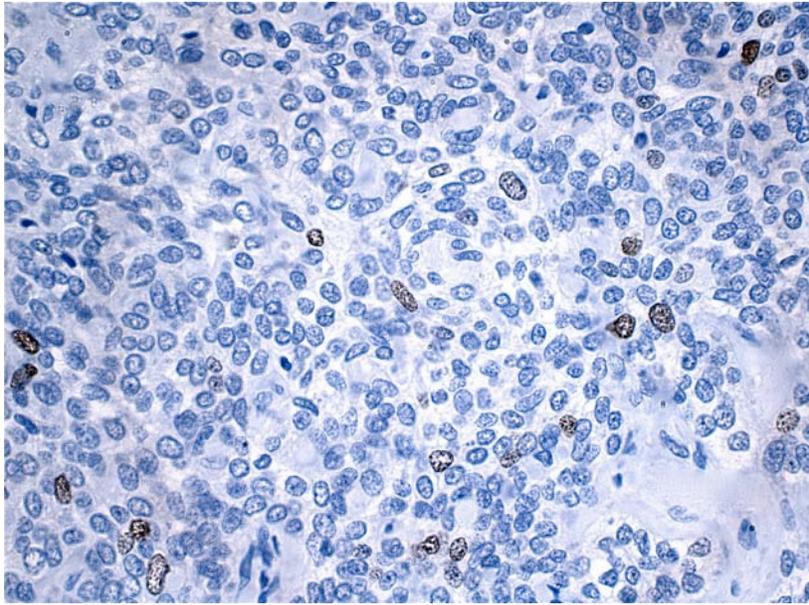


Figura 49. Carcinoma odontogênico de células fantasmas. Imunoexpressão para Ki-67 no caso 26. Observar o padrão de marcação nuclear em algumas células (400X).

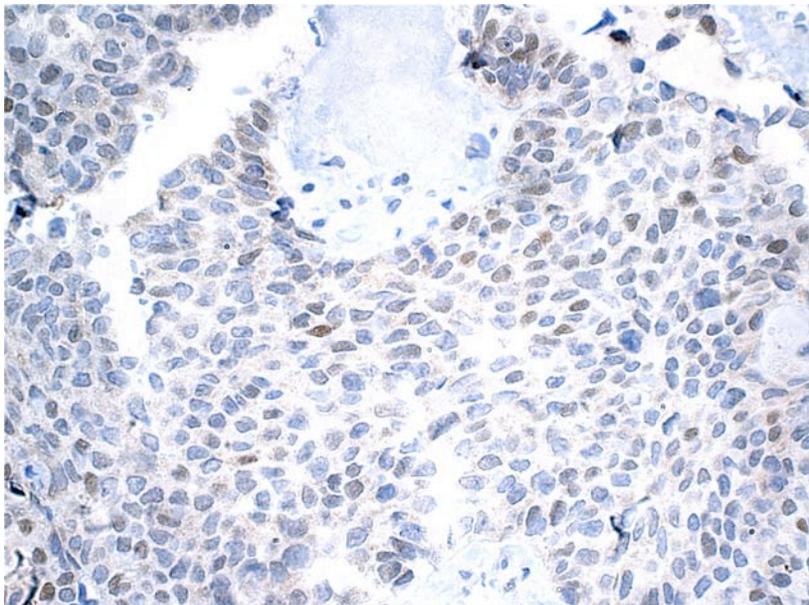


Figura 50. Carcinoma odontogênico de células fantasmas mostrando fraca imunoexpressão para p53 (400X).

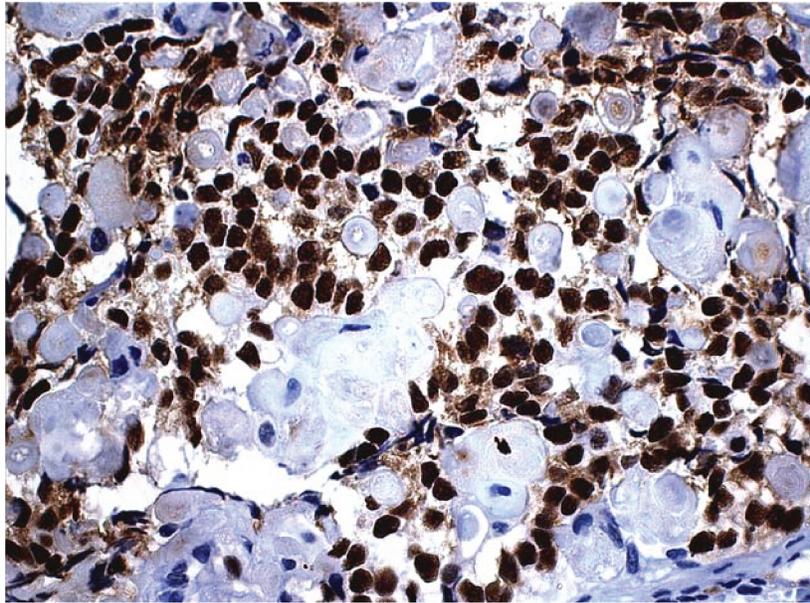


Figura 51. Imunoexpressão intensa de p63 em um caso de carcinoma odontogênico de células fantasmas (400X).

A expressão de CD138 nos casos de COCF foi observada basicamente nas camadas basal e suprabasal do epitélio ameloblástico (Figura 52). Os 3 casos avaliados foram positivos em 25-50% das células neoplásicas, com intensidade de marcação variável.

E-caderina foi observada em todas as camadas epiteliais, com perda da expressão em áreas focais (Figura 53). Em apenas um caso a expressão foi em mais de 50% das células.

β -catenina foi observada em todo o epitélio neoplásico com perda da expressão focal (Figura 54). Dois casos mostraram positividade em mais de 50% das células.

As células fantasmas foram negativas para os três marcadores analisados. Os resultados com CD138, E-caderina e β -catenina nos casos de COCF podem ser observados na tabela 28.

Tabela 28. Média de positividade e intensidade da marcação de CD138, E-caderina e β -catenina nos 3 casos de carcinoma odontogênico de células fantasmas.

Caso	CD138		E-caderina		β -catenina	
	Intens.	Posit. (%)	Intens.	Posit. (%)	Intens.	Posit. (%)
26	+++	25-50	+	1-25	+	50-100
27	++	25-50	+	25-50	++	50-100
28	+	25-50	+++	50-100	+++	25-50

Intens- intensidade; Posit- positividade; Neg- Negativo; + (1-25%); ++ (25-50%); +++ (50-100%).

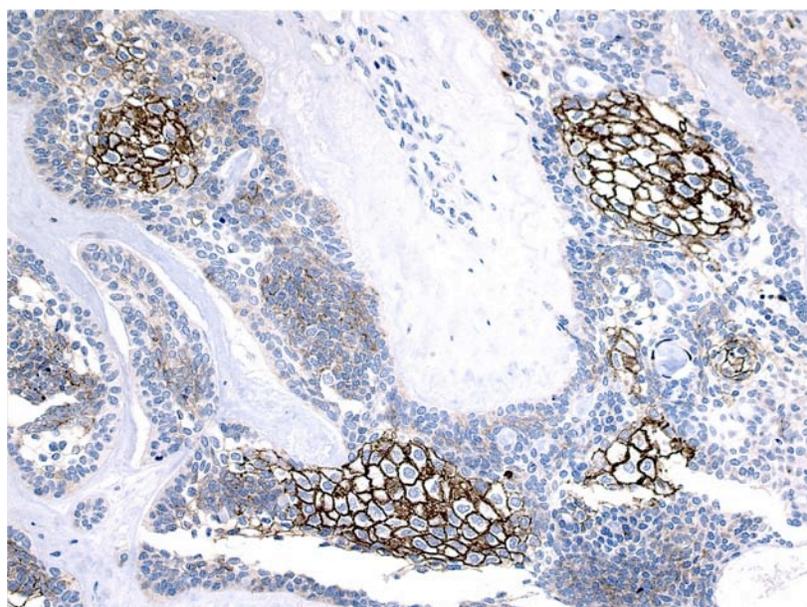


Figura 52. Carcinoma odontogênico de células fantasma mostrando marcação focal para CD138, com variação na intensidade em diferentes áreas (200X).

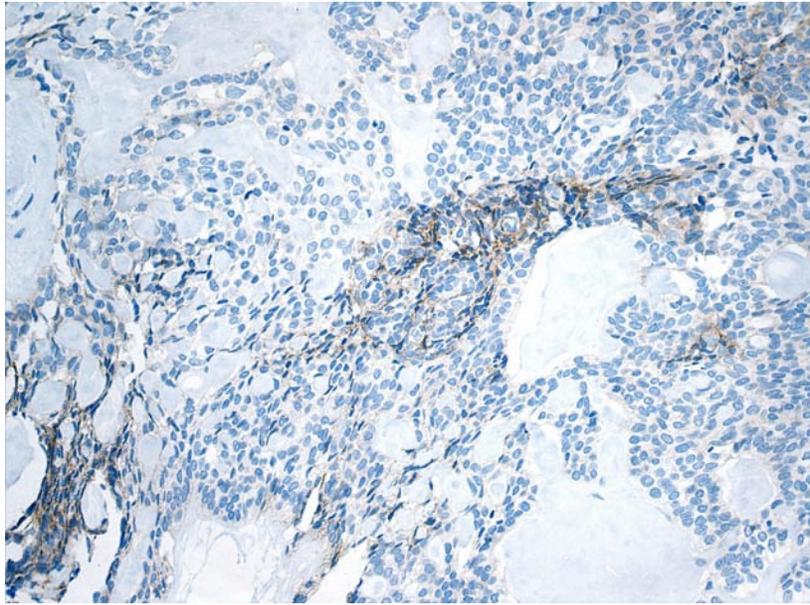


Figura 53. Imunoexpressão focal de E-caderina no caso 26. (200X).

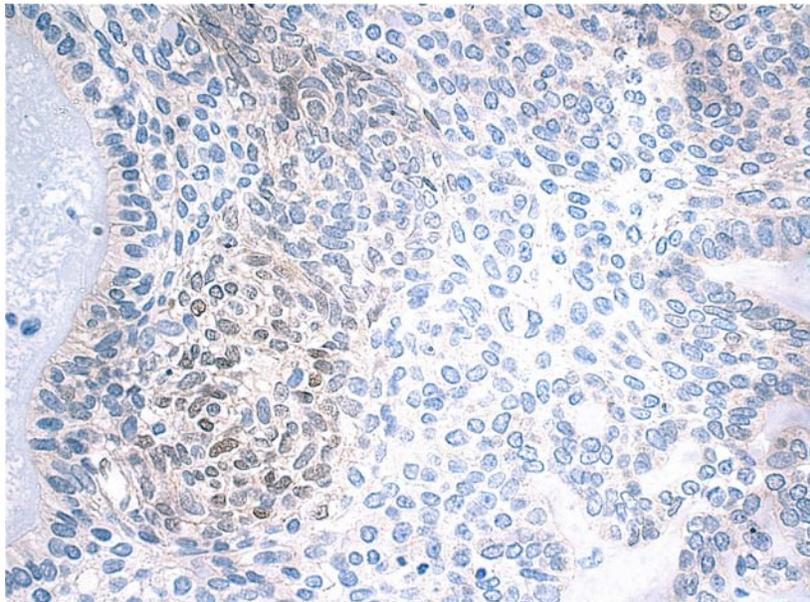


Figura 54. Imunoexpressão de β -catenina no caso 26. Observar maior intensidade de marcação nas células basais e pequenos grupos celulares, além de perda da expressão focal (200X).

5.5 FIBROSSARCOMA AMELOBLÁSTICO

5.5.1 Características sócio-demográficas

Foram diagnosticados 11 casos de FSA, a idade média foi de 21,6 com amplitude de 7 a 38 anos, sendo 7 de gênero feminino e 4 do gênero masculino. Nove casos acometeram a mandíbula, sendo 8 em região posterior e um em anterior e 2 casos ocorreram na região posterior da maxila (Figura 55). Radiograficamente todas as lesões eram radiolúcidas (Tabela 29) (Figura 56).

Tabela 29. Características clínicas principais dos 11 casos de fibrossarcoma ameloblástico.

Caso	Gênero	Idade	Local	Região	Evolução
29	F	24	mandíbula	47	4 meses
30	M	24	mandíbula	34 e 35	2 meses
31	F	7	mandíbula	posterior	D
32	M	31	mandíbula	D	D
33	M	38	mandíbula	D	D
34	F	14	maxila	D	D
35	F	20	mandíbula	anterior	D
36	F	18	maxila	D	D
37	F	33	mandíbula	D	D
38	F	19	mandíbula	46	D
39	M	10	mandíbula	33	D

D- desconhecido

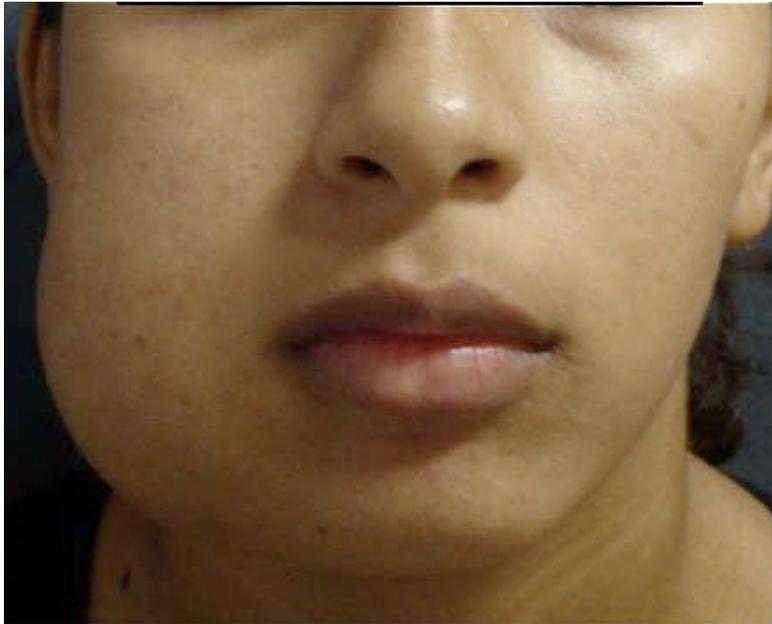


Figura 55. Paciente jovem com FSA (caso 38) mostrando assimetria facial do lado direito causada por tumoração na região posterior da mandíbula.

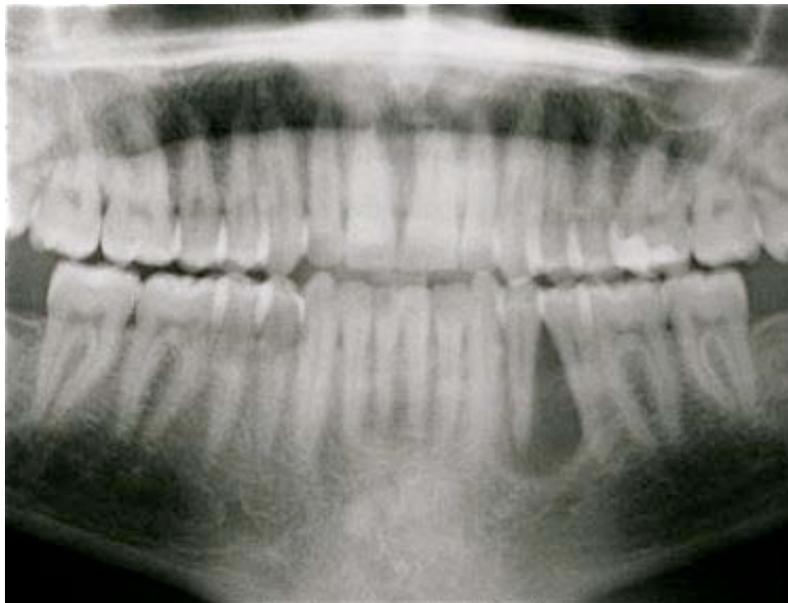


Figura 56. Radiografia panorâmica do caso 30 correspondente a (FSA), mostrando lesão radiolúcida bem delimitada na região periapical do dente 34.

5.5.2 Características histopatológicas

Onze casos de FSA foram analisados na nossa série, todos mostrando abundante tecido mesenquimatoso hipercelularizado, com grande número de figuras de mitoses e pleomorfismo celular (Figura 57). Quantidades variáveis de cordões ou ilhas de epitélio ameloblástico com características de benignidade foram observadas em todos os casos. Nas áreas adjacentes às ilhas/cordões epiteliais, o tecido mesenquimal mostrava-se mais celularizado e o pleomorfismo celular parecia ser mais intenso (Figura 58). Alterações sugestivas de malignidade estão mostradas na tabela 32, tendo sido observado em 6 casos necrose, invasão perivascular em 1 caso (Figura 59), invasão perineural em 1 caso, infiltrado inflamatório em 3 casos e 3 casos com calcificações distróficas (Tabela 30).

Tabela 30. Avaliação histopatológica da presença de necrose, invasão perivascular, perineural, infiltrado inflamatório e calcificações distróficas dos 11 casos de fibrossarcoma ameloblástico.

Caso	Necrose	Invasão perivascular	Invasão perineural	Inflamação	Calcificação distrófica
29	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
30	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
31	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
32	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
33	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente
34	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Presente
35	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Presente
36	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Presente
37	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
38	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
39	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

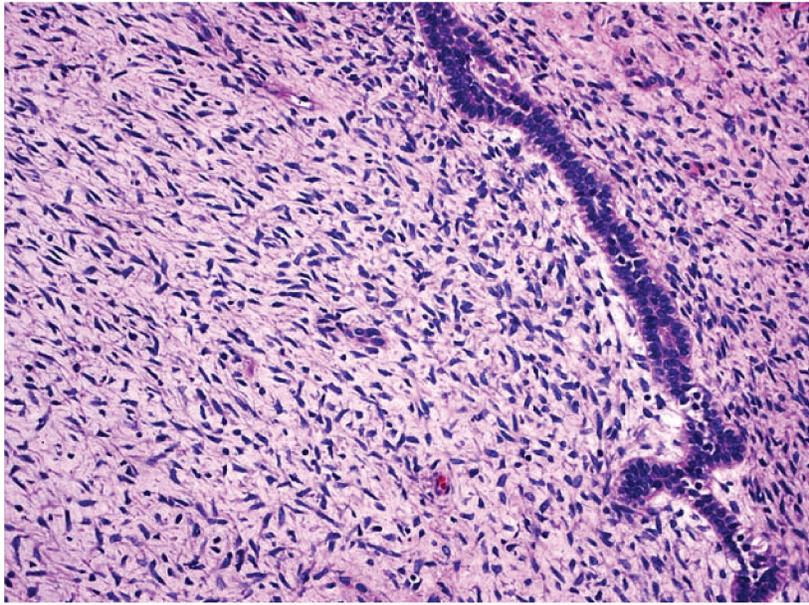


Figura 57. Caso 31 que corresponde a FSA mostrando tecido mesenquimatoso bem celularizado, com maior densidade celular ao redor das ilhas epiteliais (HE, 200X).

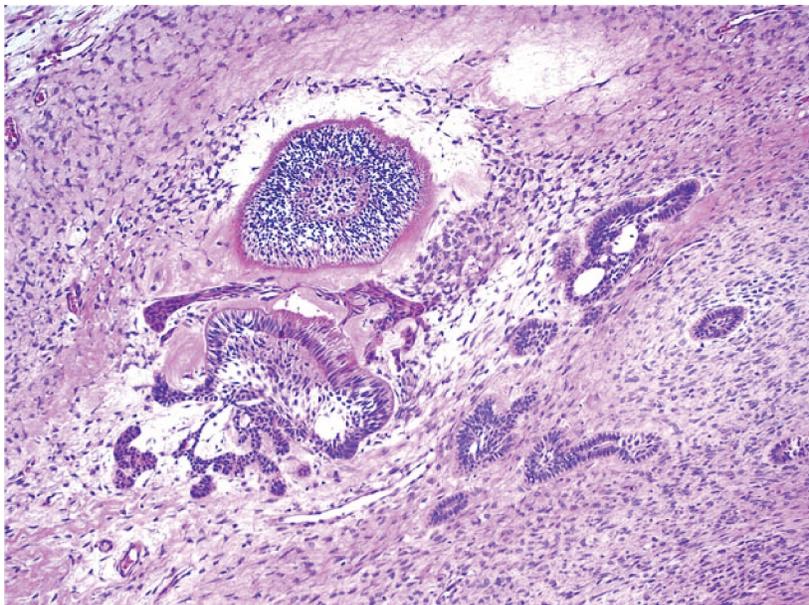


Figura 58. Caso 32 correspondente à FSA, mostrando ilhas de epitélio ameloblástico envolvidas por mesênquima com alta celularidade (HE, 100X).

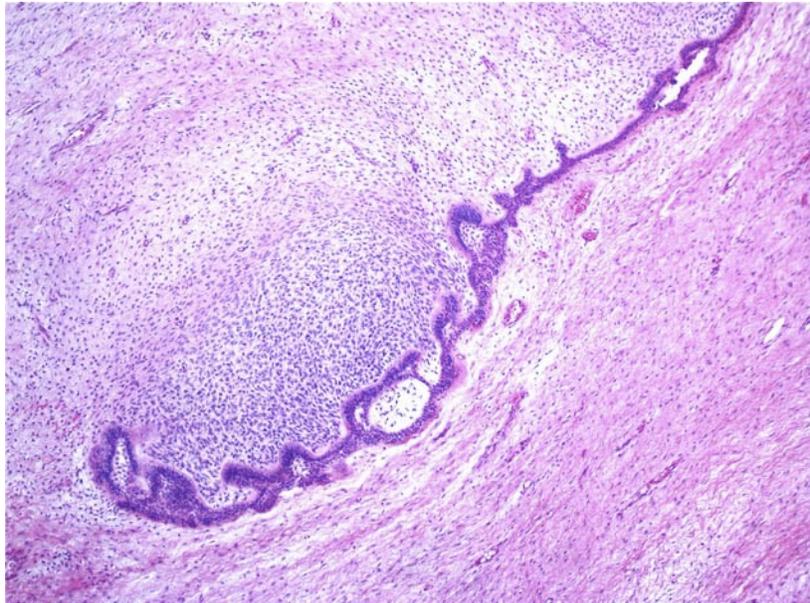


Figura 59. FSA (Caso 32), mostrando maior densidade celular próximo a uma das superfícies do cordão epitelial, assemelhando-se a papila dental. As áreas adjacentes são menos celularizadas, mais eosinofílicas, com vasos de pequeno diâmetro evidentes (HE, aumento original 50X).

Três casos mostravam áreas de calcificações que foram interpretadas como distróficas, sem evidentes características de dentina ou esmalte (Figuras 60 e 61). Num dos casos com calcificação, a área adjacente tinha características de tumor de Pindborg. Através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (Figura 62) observou-se estruturas esferoidais e amorfas, que no análise espectral da região mostrou principalmente cálcio (Ca) e fósforo (P). A morfologia não correspondia à material dentinóide ou de esmalte, e talvez possam ser calcificações semelhantes às presentes no tumor odontogênico epitelial calcificante.

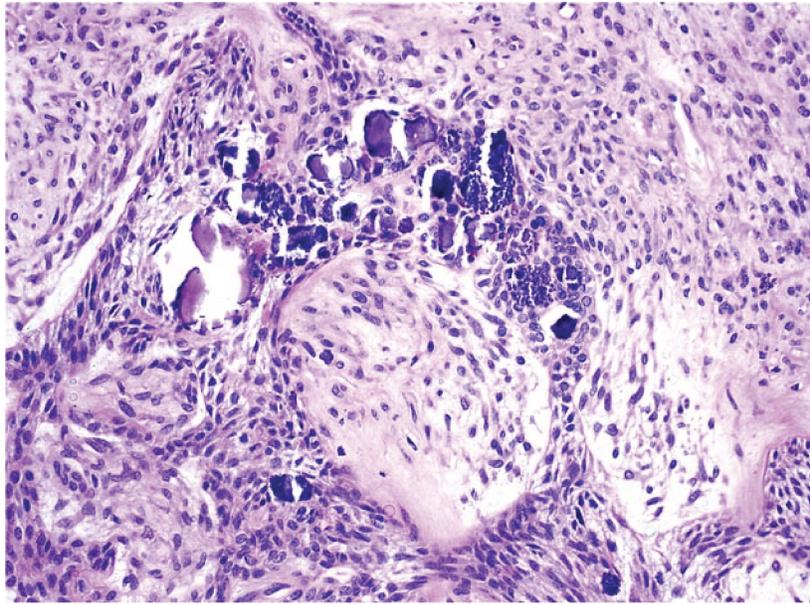


Figura 60. FSA (caso 36) mostrando áreas de calcificações em associação ao tecido epitelial. As calcificações tem características amorfas e não de dentina ou esmalte (HE, 100X).

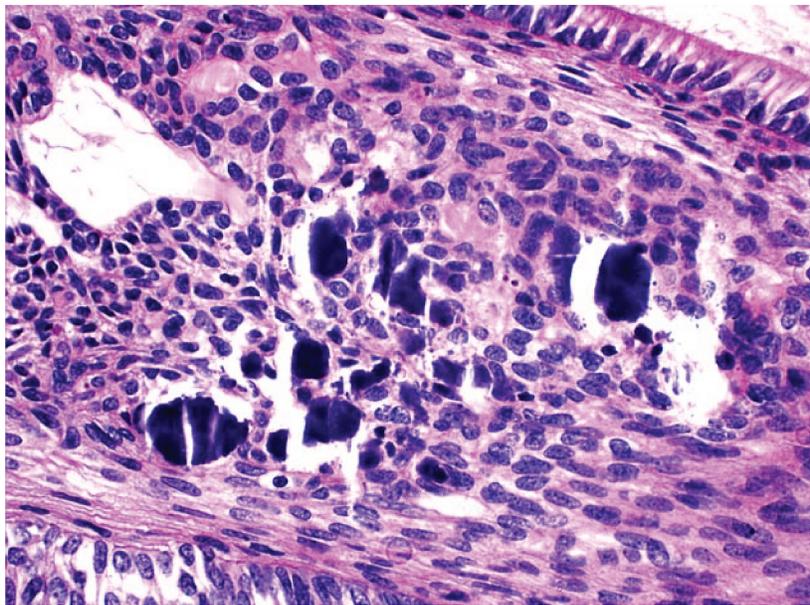


Figura 61. Caso 36 correspondente à FSA, mostrando ilha epitelial com células ameloblásticas na periferia e calcificações distróficas na área central (HE, 400X).

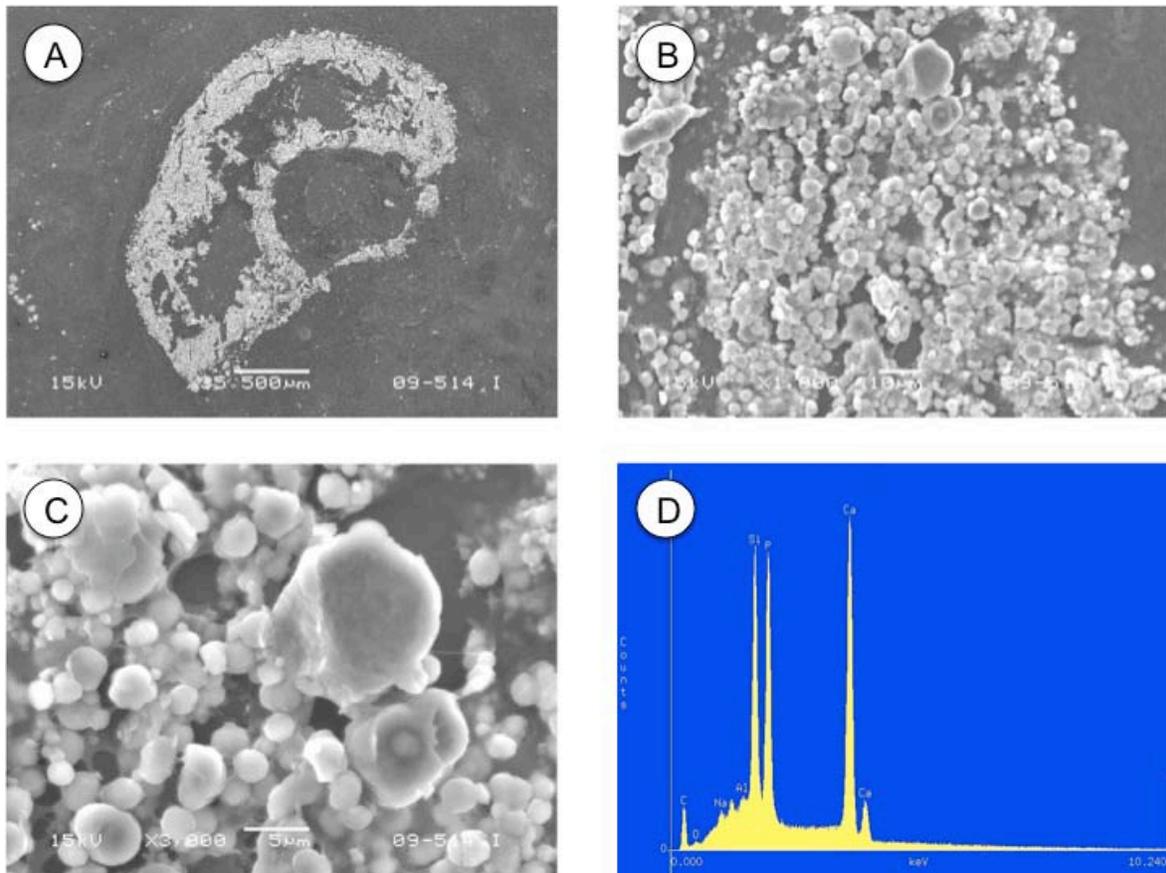


Figura 62. Microscopia eletrônica de varredura do caso 36 mostrando material calcificado. As figuras A, B e C mostram calcificações esferoidais irregulares, de tamanho variável, sem características de esmalte ou dentina; D) análise espectral da região mostrou picos mais altos de cálcio e fósforo.

5.5.3 Características imunoistoquímicas

Como para os carcinomas, nos casos de fibrossarcoma ameloblástico foram avaliadas as expressões de CKs 5, 7,14,19. CK5 e CK14 foram fortemente expressos em todos os casos, nas células ameloblásticas periféricas como também nas áreas centrais. A expressão de CK7 foi menos intensa, mas também marcou as células periféricas e centrais, CK19 também mostrou expressão menos intensa que CK5 e CK14, principalmente nas células centrais das ilhas epiteliais (Figura 63).

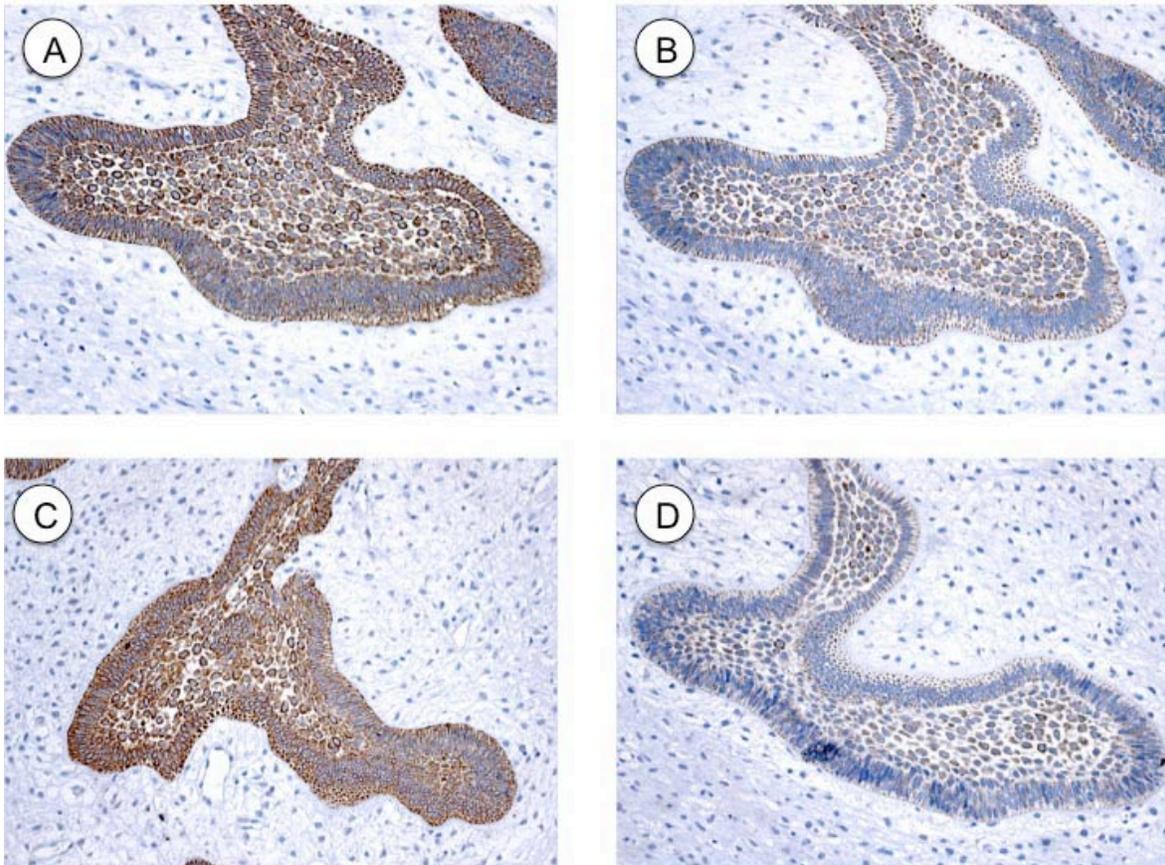


Figura 63. Fibrossarcoma ameloblástico. A) Forte imunoexpressão de CK5 em todas as células epiteliais, caso 29 (200X); B) A expressão de CK7 foi menos intensa que CK5, mas também marcou as células periféricas e centrais (200X); C) A expressão de CK14 foi semelhante à de CK5, forte e em todas as células; D) A imunoexpressão de CK19 foi menos intensa e principalmente nas células centrais das ilhas epiteliais (200X).

Ki-67 foi positivo em algumas células das camadas basal e suprabasal das ilhas e cordões epiteliais. No mesênquima a média de marcação foi de 16%. Algumas células epiteliais expressaram fracamente p53, enquanto nas células mesenquimais o índice de 28%. A proteína p63 foi altamente expressa no tecido epitelial, sendo negativa no tecido mesenquimal.

As porcentagens de todos os tumores e o percentual geral de cada diagnóstico dos três marcadores podem ser observados na tabela 31 (Figuras 64-66).

Tabela 31. Porcentagem da imunexpressão de Ki-67, p53 e p63 nas células mesenquimais dos 11 casos de fibrossarcoma ameloblástico.

Diagnóstico	Ki-67	p53	p63
No.	(%)	(%)	(%)
29	21,4	61,2	0
30	6,5	35,3	0
31	14,2	26,7	0
32	11,2	33,2	0
33	4,2	31,2	0
34	6,7	22,6	0
35	11,4	15,3	0
36	33,7	18,0	0
37	13,3	35,2	0
38	41,3	17,10	0
39	12,1	12,5	0
Total FSA (11)	16,0	28,0	0

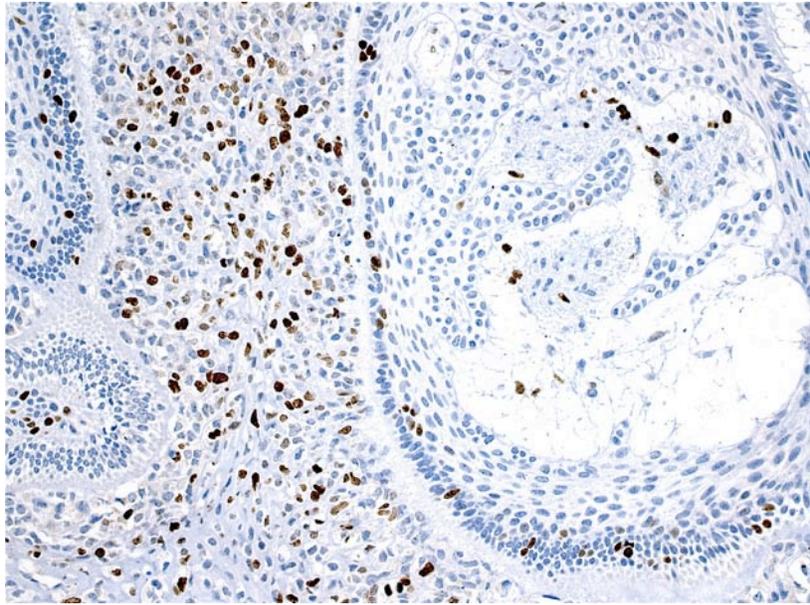


Figura 64. FSA (caso 36) mostrando positividade das células tumorais para Ki-67. Observe o padrão de marcação nuclear nas células mesenquimais (200X).

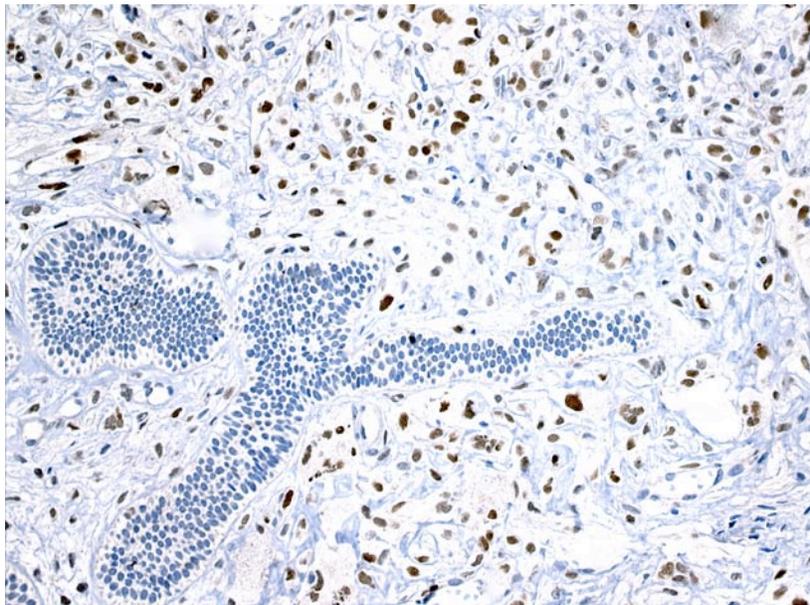


Figura 65. FSA (caso 29) mostrando imunoexpressão de p53 intensa das células neoplásicas. Observe a negatividade no epitélio ameloblástico (200X).

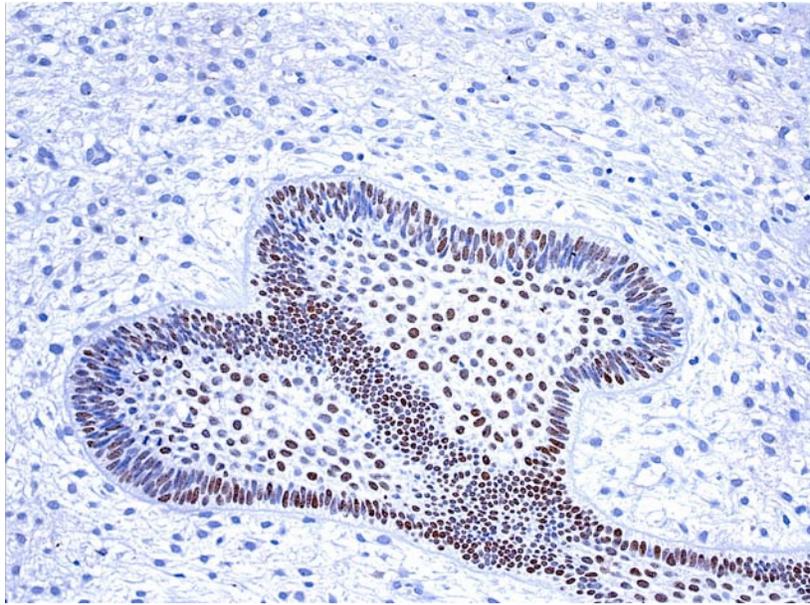


Figura 66. Imunoexpressão de p63 no caso 29. Observe a intensa marcação na maioria das células das ilhas epiteliais e negatividade nas células mesenquimais neoplásicas (400X).

Também foram analisadas as moléculas de adesão celular como CD138, E-caderina e β -catenina nos casos de FSA.

O tecido mesenquimal foi negativo para estes marcadores, enquanto que o epitélio foi positivo, mas em intensidade variável. CD138 foi fortemente positivo em algumas áreas, mas negativo em outras. E-caderina e β -catenina mostraram marcação leve a moderada (Figuras 67-69).

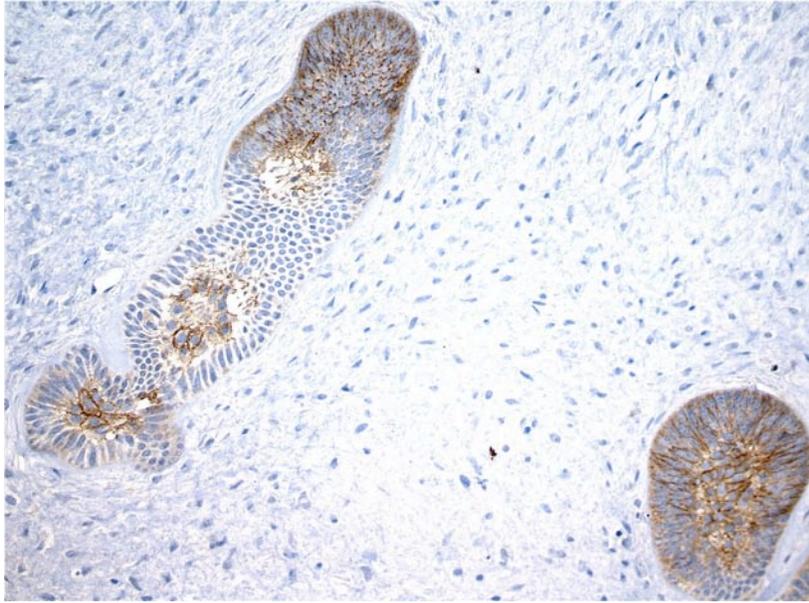


Figura 67. FSA (caso 32) mostrando forte expressão de CD138 em algumas áreas e marcação leve ou negativa em outras regiões (200X).

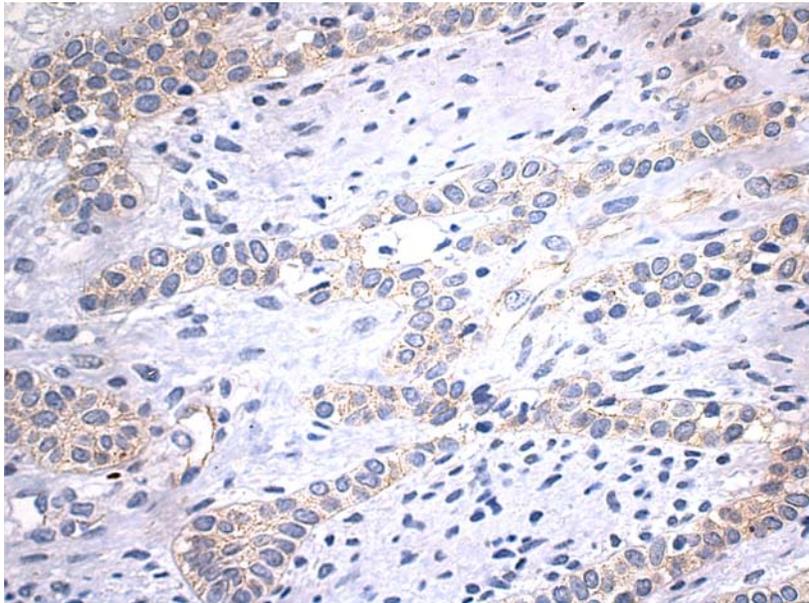


Figura 68. Caso 31 que mostra imunoexpressão positiva para E-caderina no epitélio ameloblástico (400X).

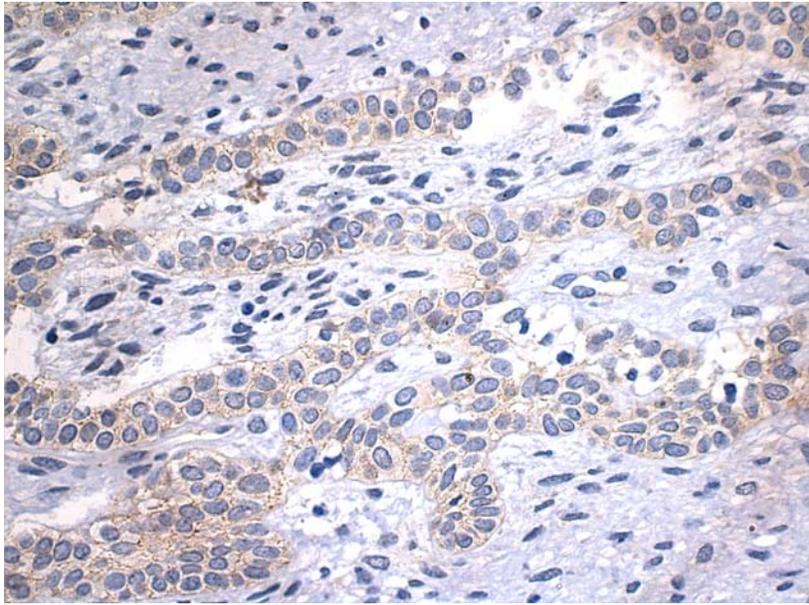


Figura 69. Caso 31 que mostra marcação leve para β -catenina no epitélio ameloblástico. Observe leve marcação no epitélio e negatividade no mesênquima hiperceularizado (400X).

6 DISCUSSÃO

Os tumores odontogênicos malignos (TOM) são lesões heterogêneas, com baixa frequência nas séries relatadas em diferentes países, representando cerca de 6% de todos os tumores odontogênicos (Oducoya, 1995; Lu *et al.*, 1998; Luo & Li, 2009). A maioria possui uma contraparte benigna, podendo originar-se destes, especialmente em lesões recorrentes. Também podem-se originar de cistos odontogênicos, particularmente os queratocistos. Como outros tumores malignos, clinicamente podem causar sintomatologia dolorosa, tumefação, ulceração da mucosa bucal, mobilidade dental e parestesia, além da capacidade de invadir estruturas adjacentes e produzir metástases (Praetorius, 2009).

Como os TOM são raros, é difícil determinar com precisão os mais freqüentes, mas considera-se que o mais comum é o CA, seguido do CEIP. Na nossa casuística, dos 39 casos estudados, a maioria era de origem epitelial (71,8%), e os outros 11 casos corresponderam à fibrossarcomas ameloblásticos. Em ordem decrescente dos tumores odontogênicos epiteliais tivemos 14 casos de CA, 7 de CEIP, 4 de COCC e 3 de COCF.

As características demográficas dos casos de CA foram similares à outros trabalhos relatados na literatura. A idade variou de 30 a 81 anos na nossa série, com média de 49,6 anos, sendo que Benlyazid *et al.* (2007) e Yoon *et al.* (2009) encontraram uma média de idade em CA de 45,9 e 49,4 anos respectivamente. Dos pacientes analisados a maioria corresponderam ao gênero masculino, dado concordante ao encontrado por Benlyazid *et al.* (2007), Hall *et al.* (2007), Akrish *et al.* (2007), Yoon *et al.* (2009) e Ndukwe *et al.* (2010). Radiograficamente todos os casos mostraram imagens radiolúcidas, a maioria em região posterior de mandíbula, como foi relatado também por Yoon *et al.* (2009) e Ndukwe *et al.* (2010).

Em nossa série de CEIP foram analisados 7 tumores, sendo 4 do tipo sólido e 3 casos derivados de queratocisto odontogênico. A média de idade foi de

59,6 anos, dado concordante com os de outros trabalhos como o estudo de Gallego *et al.* (2010) feito na Espanha, com média de idade de 50 anos. Huang *et al.* (2009) na China, relataram idade média de 54 anos, e Yamada *et al.* no Japão, (2009) de 64,4 anos. Portanto a maior prevalência de CA encontra-se entre a sexta e sétima décadas da vida. É importante mencionar que foi observada variação da idade média entre os casos de CEIP de tipo sólido que foi de 67 anos e CEIP derivados de queratocisto odontogênico que apresentaram média de idade de 42,7 anos. É possível que isto esteja relacionado com a ocorrência do queratocisto odontogênico, entre a segunda e terceira décadas da vida (Barnes *et al.*, 2005). Os CEIP também ocorrem com maior frequência em pacientes masculinos, envolvendo preferencialmente a região posterior da mandíbula, como descrito por outros autores (Abbas *et al.*, 2010 e Huang *et al.*, 2009; Gallego *et al.*, 2010).

Dos 4 casos de COCC a idade média foi de 73,6 anos, ligeiramente maior do que a média registrada em outros trabalhos como os de Chera *et al.* (2008) na França que encontrou média de idade de 55 anos, Xavier *et al.* (2008) 56,2 anos no Brasil, Werle *et al.* (2009) 54 anos na Alemanha, Zhang *et al.* (2010) 52,8 anos na China e Bilodeau *et al.* (2011) 55,6 anos nos Estados Unidos. Foi observado maior ocorrência em mulheres, dado similar ao encontrado por Chera *et al.*, (2008) com predomínio pelo gênero feminino em 2:1, Xavier *et al.*, (2008) com relação de 2,4:1 e Werle *et al.* (2009), porém discordante com o encontrado por Zhang *et al.*, (2010) que relatou maior ocorrência em pacientes do gênero masculino com proporção de 2:1. A maioria dos casos apresentaram-se como lesões radiolúcidas na região posterior da mandíbula, resultados semelhantes aos encontrados por outros autores (Avninder *et al.*, 2006; Chera *et al.*, 2008; Xavier *et al.*, 2008; Werle *et al.*, 2009; Bilodeau *et al.*, 2011). Entretanto, Zhang *et al.*, (2010) observaram maior incidência de COCC na região anterior da mandíbula.

Na presente série foram analisados 3 casos de COCF, com média de idade de 41,6 anos, ligeiramente maior aos achados de outros trabalhos como os de Sun *et al.* (2007) e Li *et al.* (2010) que observaram um pico de incidência na quarta década da vida com variação de 13 a 72 anos. O gênero masculino foi o predominante na nossa casuística em pacientes com COCF, sendo esses dados similares aos de Sun *et al.* (2007) e Li *et al.* (2010) com predomínio também em homens. Outro dado concordante encontrado na nossa série de COCF foi a maior incidência observada em maxila, achado relatado também em outros trabalhos na literatura como os de Sun *et al.*, 2007 e Li *et al.*, 2010.

Foram analisados 11 casos de FSA nos quais observamos a média de idade de 21,6 anos, dado que foi similar ao relatado por Bregni *et al.* (2001) em uma revisão de 59 casos previamente relatados na literatura, com média de idade de 27,3 anos. Nossa série constava de 7 mulheres e 4 homens, achados discordantes aos de Bregni *et al.* (2001) em sua revisão da literatura, além de posteriores relatos de casos que também mostraram predominância em pacientes do gênero masculino (Kobayashi *et al.*, 2005; Zabolinejad *et al.*, 2008; Kousar *et al.*, 2009). Como a maioria dos carcinomas odontogênicos, o FSA também tem predileção para região posterior da mandíbula, confirmando dados da literatura (Bregni *et al.*, 2001; Kobayashi *et al.*, 2005 e Zabolinejad *et al.*, 2008).

Dos 14 casos de CA, 12 mostraram predomínio do padrão plexiforme e 2 com predomínio folicular, achado semelhante aos dados previamente descritos na literatura (Hall *et al.*, 2007; Bello *et al.*, 2009), porém discordante com o trabalho de Yoon *et al.* (2009) que relataram maior predomínio do padrão folicular em 5 de 6 casos estudados. O principal diagnóstico diferencial do CA é o ameloblastoma, principalmente em casos com características de malignidade não evidentes. Por outro lado, se os parâmetros malignos forem evidentes é importante encontrar aspectos de ameloblastoma, como presença de retículo estrelado nas áreas centrais das ilhas epiteliais, células periféricas em paliçada e com polarização inversa. Em proporções variáveis, estas características em

conjunto ou isoladas foram observadas em todos os nossos casos. Hall *et al.* (2007) e Yoon *et al.* (2009) relataram que a diminuição destas características típicas de ameloblastoma eram indicadores de um processo maligno.

Todos os 7 casos de CEIP derivados ou não de queratocistos apresentaram características de carcinomas escamosos da mucosa oral. Os casos derivados de queratocistos também apresentavam áreas que lembravam estas lesões benignas, permitindo a interpretação de que eram derivados destes cistos ou tumores, como considerados pela OMS. Os casos derivados de queratocistos também mostraram maior quantidade de infiltrado inflamatório, talvez uma característica da lesão ou eventualmente intervenção prévia para o diagnóstico. Necrose foi observada em 4 casos (28,6%), infiltrado inflamatório associado ao tumor e invasão perivascular em 6 casos (42,8%), invasão perineural em 3 casos (21,4%), e 3 casos (21,4%) com calcificações distróficas, dados esses que são semelhantes aos obtidos por Hall *et al.* (2007) e Yoon *et al.* (2009). Outras características que sugerem malignização são a presença de pleomorfismo celular e mitoses atípicas presentes em todos os casos.

Alguns casos apresentaram, além de evidentes características celulares malignas, necrose, invasão perivascular e perineural que podem ser úteis para confirmação de malignidade em casos difíceis.

Os 4 casos de COCC eram histologicamente do tipo bifásico, que corresponde ao tipo mais frequente, como também descrito por Chera *et al.* (2008). O tipo bifásico mostra ninhos de células claras e também células poligonais, com núcleo hiper cromático e citoplasma eosinofílico com escassas figuras de mitoses assim como pouco pleomorfismo celular. Outras alterações indicativas de malignidade, como necrose e invasão perivascular e perineural, são praticamente ausentes. As células claras e eosinófilas são positivas para PAS, confirmando a presença de grânulos de glicogênio (Werle *et al.*, 2009) e negativo para mucó, achado importante para descartar carcinoma mucoepidermóide.

Na descrição histopatológica dos 3 casos de COCF, observamos que as lesões continham bastante tecido ameloblástico com características de órgão do esmalte, camada periférica em paliçada com polarização inversa bem conservadas. Além do epitélio ameloblástico, observou-se também pequenas ilhas de células cuboidais lembrando ligeiramente redemoinhos. Grupos pequenos ou grandes de células fantasmas foram observados na massa tumoral epitelial, além de depósitos hialinos nas áreas adjacentes. Os três casos estudados apresentaram figuras de mitoses e pleomorfismo celular, além de necrose, focos de inflamação e invasão perivascular.

Um caso de FSA mostrou calcificações aparentemente distróficas, mas que tinham íntimo contato com os ameloblastos. Através da microscopia eletrônica de varredura observou-se abundantes formações esferoidais, não compatíveis com dentinóide. Como as calcificações eram concêntricas, concluímos que poderiam ser calcificações tipo anéis de Liesegang, presentes no tumor odontogênico epitelial calcificante e que segundo a literatura podem ser observadas em outros tumores odontogênicos sem modificar seu diagnóstico (Leon *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2009).

Os TOM são raros, comumente oferecendo dificuldades para a correto diagnóstico, classificação e às vezes, para confirmação de ser maligno ou não. O diagnóstico histológico depende da interpretação dos preparados em HE, e potencialmente a imunoistoquímica pode ser útil, entretanto são poucos os dados de imunoistoquímica dos TOM relatados na literatura.

Na análise das citoqueratinas nos CA encontramos que a maioria de nossos casos apresentaram positividade para CK5,14 e19 e foram negativos ou com baixa expressão para CK7, confirmando os achados de Yoon *et al.*, 2009, que encontraram em uma série de 6 casos, positividade para CK5, 14 e 18 e negatividade para CK7. Nos ameloblastomas a expressão destas CKs é semelhante. De acordo com Crivelini *et al.* (2003) a CK13 era expressa nas células escamosas metaplásicas dos ameloblastomas, CK14 marcava principalmente as células periféricas das ilhas epiteliais e CK19 apresentava

escassa marcação nas células estreladas do centro das ilhas. Dados similares foram descritos por Fukumashi *et al.* (2002), que observaram principalmente a expressão de CK19 nas camadas basais em ameloblastomas.

Na avaliação dos CEIP, tanto os tipos sólido como os derivados de queratocisto mostraram positividade para todas as CKs estudadas. Charles *et al.* (2008) encontraram positividade para AE1/AE3 e baixa reatividade para citoqueratinas de alto peso molecular. Em carcinomas de cabeça e pescoço, CK19 pode ser usada em conjunto com a CK AE1/AE3, para detecção de linfonodo sentinela (Yamauchi *et al.*, 2011). A expressão de CK19 já foi comparada com a de CK13, considerando-se que esses dois polipeptídios provêm da lâmina dental primitiva. Entretanto assim como CK13, CK19 também pode ser expressa em epitélio escamoso (Crivelini *et al.*, 2003).

Os casos de COCC mostraram maior imunexpressão para as CKs 14 e 19. Como esperado os dados da literatura mostram positividade para CKs, embora haja variabilidade com relação aos subtipos de CKs. De acordo com Maiorano *et al.* (2001), as células tumorais são positivas para CKs 8, 13, 19 e Kumar *et al.* (2003) descreveram positividade para CKs 14 e 19.

Outros autores como De Aguiar *et al.* (1996) relataram também positividade para CK14 e ocasional para CK13 e Iezzi *et al.*, (2002) confirmaram a positividade para CK19. Por outro lado, de acordo com Xavier *et al.*, (2008), CK7 foi negativa para as células claras e positivo focal em escassas células poligonais. As células claras importantes para o diagnóstico deste tumor, contém glicogênio e tipicamente poucas organelas e escassos tonofilamentos. Entretanto a forte expressão de CK14 e 19, mostradas neste trabalho e também por Xavier *et al.*, (2008) podem ser úteis para confirmação do diagnóstico deste tumor odontogênico. Bilodeau *et al.*, (2011) encontraram positividade para CK5/6 e AE1/AE3 em 9 casos estudados.

São escassas as informações sobre expressão de CKs em COCF. De acordo com Murakami *et al.*, (2003) o tumor odontogênico de células fantasmas é positivo para CK13 nas camadas suprabasais das ilhas epiteliais, enquanto CK19

é expressa em todo o epitélio, sendo que as células fantasmas são negativas para os dois marcadores. Sun *et al.*, (2007) relataram positividade para CK AE1/AE3, enquanto que Li *et al.*, (2010) descreveram alta positividade para CK5 e 14. Os nossos casos foram positivos para todas as citoqueratinas usadas, mas com padrões diferentes. CK5, 14 e 19 marcaram todas as células, mas com maior intensidade nos engrossamentos celulares das formações micro-císticas, formadas por células cuboidais que lembram em algumas áreas o ameloblastoma. As células fantasmas foram negativas para citoqueratinas como descrito por outros autores.

Todos os casos de FSA foram negativos para citoqueratinas no componente neoplásico mesenquimal. As ilhas e cordões de epitélio ameloblástico não malignos, foram positivos para todas as CKs com intensidade de moderada a forte. Crivelini *et al.*, (2003) relataram a expressão de CK 14 nos cordões de epitélio ameloblástico, escassa expressão de CK13 no retículo estrelado e negatividade para CK8, CK18 e CK19.

A maioria dos TOM não mostram intensa atipia ou alto índice de proliferação. Nos CA encontramos índice de imunoexpressão de Ki-67 de 19,8%, similar aos de outros autores como Akrish *et al.*, (2007) que relatou em um caso, a marcação de Ki-67 em 20% das células, enquanto que Yoon *et al.* (2009) encontrou 13,91% em uma série de 6 casos, Bello *et al.*, (2009) de 18,2% e Bologna *et al.*, (2009) descreveu um índice de 41,2% em 3 casos o mais alto encontrado na literatura.

O índice de Ki-67 encontrado nos CEIP foi mais alto do que nos CA, com 53,2% em média. Isto confirma a maior agressividade destes tumores em relação aos CA. Os carcinomas de boca e orofaringe geralmente têm prognóstico desfavorável e a sobrevida é menor do que 50% (Scully & Bagan, 2009; Lambert *et al.*, 2011). Os CEIP também não têm bom prognóstico, com sobrevida de 5 anos em 46% dos pacientes, mas se o diagnóstico for feito precocemente o prognóstico é mais favorável (Makowski *et al.*, 2001; Abbas *et al.*, 2010).

A imunexpressão de Ki-67 em COCC foi de 9,0%, maior que o valor relatado por Xavier *et al* (2008) de 2,73%, o único relato de Ki-67 em COCC prévio a nosso trabalho.

O índice de Ki-67 em COCF em nosso trabalho foi de 17,4%, maior que o resultado obtido por Motosugi *et al.*, (2009) que relataram porcentagem de 5,3% e menor que o relatado por Li *et al.*, (2010) 37,3% num caso de COCF oriundo da transformação de uma lesão benigna de células fantasmas. Em 2009, Gong *et al.*, relataram que o índice de Ki-67 nos COCF era maior do que os tumores correspondentes benignos.

Nos FSA a imunexpressão de Ki-67 foi de 16,0%, com grande variação de marcação entre os diferentes tumores de 6 até 45%. De acordo com Batista de Paula *et al.*, (2003) a imunomarcação de Ki-67 é maior no componente mesenquimal do que no epitelial. Pontes *et al.* (2010) encontrou marcação de Ki-67 no tecido mesenquimal maligno de 47%.

Os achados da análise de p53 foram similares aos encontrados com Ki-67, e a correlação entre esses dois marcadores pode ser importante para determinar o potencial maligno de um tumor odontogênico.

Encontramos percentual de 17,5% de marcação com p53 nos casos de CA. Este valor é similar aos dados da literatura. Segundo Yoon *et al.*, (2009) a marcação de p53 em 4 dos 6 casos analisados foi menor do que 25%, e nos outros dois casos o índice foi de 50-75%, enquanto que Karakida *et al.*, (2010) encontrou positividade focal em um caso de CA tipo secundário. Este mesmo autor descreveu que a expressão de p53 em COCC foi de 4,5%, porcentagem similar ao encontrado por Xavier *et al.* (2008) de 2,92% em 1 caso de COCC. Nossos achados confirmaram que os COCC mostram baixo índice de expressão de p53, indicando que esta proteína não tem papel muito importante na patogênese deste TOM.

Os valores de p53 encontrados nos COCF foram relativamente altos 20,9%. Na literatura encontramos relatos da baixa positividade de p53 nestes

tumores (Folpe *et al.*, 1998; Piattelli *et al.*, 1998). Motosugi *et al.*, (2009) encontraram menos de 5% em 1 caso de COCF.

Os FSA mostraram 28,0% de positividade nas células neoplásicas, valor similar ao descrito por Batista de Paula *et al.*, (2003) que relataram a imunolocalização de p53 no tecido mesenquimal dos FSA. Posteriormente DeLair *et al.*, (2007) relataram a transformação de um fibroma ameloblástico em carcinossarcoma ameloblástico, com índice de expressão de p53 de 90% nas células mesenquimais e nas epiteliais e de 45% para Ki-67, em contraste com a baixa marcação encontrada nas áreas onde ainda conservava características de fibroma ameloblástico. Portanto, p53 pode ser eventualmente positivo no epitélio das lesões benignas, enquanto que o tecido mesenquimal expressa p53 nos FSA. Como muitas vezes a diferenciação destas lesões em termos de malignidade pode ser difícil, p53 pode ser um marcador útil nestas casos (Williams *et al.*, 2007).

A imunoexpressão de p63 foi alta em todos os TOM, exceto no FSA que mostrou ser negativa no componente neoplásico. Os carcinomas, como CA, CEIP sólido, derivado de queratocisto e COCF tiveram valores acima de 90%, sendo que o valor mais baixo foi observado no COCC, 60,8%. A proteína p63 é um gene importante no desenvolvimento epitelial e na formação das extremidades como as estruturas craniofaciais. Esta proteína pode ser formada em 6 isoformas divididas em dois grupos de acordo com a presença ou ausência de uma cadeia de ativação transcricional. A isoforma TAp63 que contém a cadeia de ativação, está envolvida na apoptose enquanto que a isoforma Δ p63 que não apresenta a cadeia, participa na proliferação celular (Yang *et al.*, 1999; Little & Jochemsen, 2002). O clone usado neste trabalho reconhece as duas isoformas. Lo Muzio *et al.*, (2006) que detectaram a expressão de p63 em mais de 50% das células epiteliais nos 5 TOM, incluindo 1 caso de CA, 1 CEIP e 1 a COCC, com expressão significativamente maior que os tumores odontogênicos benignos. O tumor odontogênico adenomatóide mostra focalmente positividade para p63 (Vera Sempere *et al.*, 2006; Friedrich *et al.*, 2009). P63 marca as células

das camadas basais e suprabasais do epitélio de queratocistos. Por outro lado, Bilodeau *et al.*, (2011) encontraram marcação em 12 COCC estudados.

As moléculas de adesão celular são importantes para a manutenção da arquitetura dos tecidos epiteliais, e a perda destas proteínas tem sido associada à capacidade de invasão do tumor.

CD138 (Syndecan-1) é um proteoglicano da superfície celular que une as células à matriz extracelular. Está presente em células epiteliais, endoteliais, tecido conectivo, fibras musculares normais e nos plasmócitos. No epitélio regula a adesão e proliferação celular. Alguns estudos têm demonstrado que a perda de expressão de CD138 se associa com a invasão tumoral, favorecendo metástases e piorando o prognóstico (Bologna-Molina *et al.*, 2008)

A imunoexpressão de CD138 nos CA foi parcialmente perdida em 10 casos e 5 casos apresentaram baixa intensidade de marcação. Leocata *et al.*, (2007) mostrou a expressão de CD138 em ameloblastomas, mas com intensidade menor do que no capuz pericoronário. É sabido que CD138 pode ser expresso nas células epiteliais normais e também durante a odontogênese. Em 2008 Bologna-Molina *et al.* relataram 40,2% de marcação de CD138 em ameloblastomas sólidos e 49,9% em ameloblastomas unicísticos comparado com 89% de marcação em capuz dentários. Mais tarde relataram a expressão de CD138 em diferentes tipos de ameloblastomas, encontrando correlação com o índice de proliferação celular com Ki-67, além da expressão uniforme observada no epitélio do ameloblastoma desmoplásico (Bologna-Molina *et al.* 2009, 2010).

Em CEIP sólido 2 casos dos 4 estudados, apresentaram perda parcial da expressão de CD138. Nos CEIP derivados de queratocisto foi observada perda parcial da expressão em 1 caso dos três analisados. De acordo com a literatura, no epitélio oral, há perda da expressão de CD138 em lesões pré-malignas quando comparadas com epitélio normal (Soukka *et al.*, 2000). Mukunyadzi *et al.*, 2003 demonstraram a diminuição da expressão de CD138 em todos os carcinomas de células escamosas invasivos de cabeça e pescoço, sendo que a expressão de CD138 também tem sido associada com pior

prognóstico (Anttonen *et al.*, 1999, Jackson *et al.*, 2007). Kurokawa *et al.*, (2006) sugeriram que a diminuição na expressão de CD138 favorece a invasão e o desenvolvimento de metástases de carcinomas escamosos da cavidade oral. Foi descrito também baixa expressão em carcinoma espinocelular de lábio, quando comparado com queilite actínica e tecido labial normal (Martínez *et al.*, 2009).

Nos casos de COCC observamos perda parcial da expressão de CD138 e não encontramos outras informações na literatura para comparação. O mesmo é válido para os COCF, onde observamos também perda parcial ou expressão focal, sem outros dados na literatura.

Todos os casos de FSA foram negativos para CD138 no componente mesenquimal maligno, e positivos nos cordões epiteliais benignos. Também não foram encontrados outros dados na literatura.

Na descrição de CD138 é importante ressaltar que os casos que apresentaram maior índice de proliferação com Ki-67, mostraram maior perda da expressão desta molécula de adesão. Portanto o uso destes dois marcadores pode ajudar na avaliação do comportamento e prognóstico das lesões odontogênicas, como foi descrito por Bologna *et al.*, (2008, 2010) em ameloblastoma e carcinoma ameloblástico.

E-caderina é uma glicoproteína trans-membrana dependente da função dos íons de cálcio da membrana celular, que é responsável pelas uniões célula-célula, mantendo a integridade dos tecidos. Todos os casos de FSA foram negativos para E-caderina no componente neoplásico e positivos nos cordões epiteliais benignos. Na análise dos carcinomas odontogênicos observamos que a expressão de E-caderina foi perdida parcialmente em todos os casos com diferentes graus de intensidade. Obara *et al.*, (1998) analisaram a distribuição de E-caderina por imunofluorescência indireta em folículos dentários e demonstraram expressão moderada de E-caderina em todas as células epiteliais. Kumamoto & Ooya., (1999) detectaram a forte expressão na membrana das células do retículo estrelado em folículos dentários e células poliédricas de ameloblastomas.

β -catenina é uma proteína de membrana celular, que serve de união da E-caderina ao citoesqueleto de actinas. Na análise de β -catenina encontramos que todos os carcinomas odontogênicos sofreram perda da expressão, em diferentes graus de intensidade. Sekine *et al.*, (2003) relataram em TO a perda parcial da expressão de β -catenina em ameloblastomas especialmente no tipo folicular, quando comparado com o plexiforme. Obara & Lesot., (2004) pesquisaram a distribuição de E-caderina e β -catenina em folículos dentários encontrando variação na marcação de β -catenina em diferentes locais do órgão do esmalte, sugerindo assim o papel da β -catenina na ativação da via de sinalização de Wnt, durante o estágio de desenvolvimento dentário. Kumamoto & Ooya, (1999) observaram marcação de β -catenina na membrana ou citoplasma nos ameloblastomas, assim como maior expressão no tipo folicular que no plexiforme.

Também encontraram alguns casos com marcação nuclear nas células próximas à membrana basal, características que segundo os autores sugerem a ativação da via da sinalização de Wnt e que poderia estar associada com a oncogênese do epitélio. Em 2006, Miyake *et al.*, encontraram moderada expressão focal em ameloblastomas, mutação do gene β -catenina num dos casos, sugerindo que as mutações nesse gene eram raras embora os tumores expressem marcação nuclear. Tanahashi *et al.*, (2008) observou a imunorreação nuclear de β -catenina em 11 (61%) dos 18 casos estudados especificamente nas células colunares periféricas, enquanto que Alves Pereira *et al.* (2010) encontrou 15,3%. Estes achados são similares aos encontrados no nosso trabalho, onde observamos marcação nuclear em 5 casos (12,8%), 4 correspondiam a CA e 1 a COCC. Portanto, a marcação nuclear da β -catenina pode servir de marcador nos tumores odontogênicos, indicando também possível maior agressividade. Como os TOM são muito raros, outros estudos são necessários para melhor compreensão da relevância destes marcadores.

7. CONCLUSÃO

1. Os TOM ocorrem principalmente em homens, na região posterior da mandíbula, exceto o FSA que predomina em mulheres.
2. A expressão de CKs é variável nos diferentes TOM, sendo pouco útil no diagnóstico diferencial dos diferentes tipos.
3. A expressão de Ki-67 e p53 podem ser úteis na avaliação do grau de malignidade, e na diferenciação com os tumores benignos. Em todos os TOM analisados a expressão de p63 foi alta, podendo este marcador ser útil na diferenciação com os tumores benignos.
4. Os TOM mostraram perdas focais da expressão das moléculas de adesão CD138, E-caderina e β -catenina, que podem estar associadas ao grau de agressividade e diferenciação destes tumores.

REFERÊNCIAS

1. Abbas K, Maryam E, Khojasteh A, Saedeh Atarbashi. Keratinized primary de novo intraosseus carcinoma of mandible: Report of a case and literature review. *Res J of Biol Sciences*. 2010 5(3): 233-240.
2. Adebayo ET, Ajike SO, Adekeye EO. A review of 318 odontogenic tumors in Kaduna, Nigeria. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005; 63(12): 1786.
3. Akrish S, Buchner A, Shoshani Y, Vered M, Dayan D. Ameloblastic carcinoma: report of a new case, literature review, and comparison to ameloblastoma. *J Oral Maxillofac Surg*. 2007; 65(4): 777-83.
4. Altini M & Smith I. Ameloblastic dentinosarcoma- a case report. *Int J Oral Surg*. 1976; 5(3): 142-7.
5. Altini M, Thompson SH, Lownie JF, Berezowski BB. Ameloblastic sarcoma of the mandible. *J Oral Maxillofac Surg*. 1985. 43: 789-794.
6. Alves Pereira KM, do Amaral BA, dos Santos BR, Galvão HC, Freitas Rde A, de Souza LB. Immunohistochemical expression of E-cadherin and beta-catenin in ameloblastomas and tooth germs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010; 109(3): 425-31.
7. Anttonen A, Kajanti M, Heikkilä P, Jalkanen M, Joensuu H. Syndecan-1 expression has prognostic significance in head and neck carcinoma. *Br J Cancer*. 1999; 79(3-4): 558-64.
8. Arotiba JT, Ogunbiyi JO, Obiechina AE. Odontogenic tumors: a 15-year review Ibadan, Nigeria. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 1997; 35(5): 363-7.
9. Avelar RL, Antunes AA, Santos Tde S, Andrade ES, Dourado E. Odontogenic tumors: clinical and pathology study of 238 cases. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2008; 74(5): 668-73.
10. Avninder S, Rakheja D, Bhatnagar A. Clear cell odontogenic carcinoma: a diagnostic and therapeutic dilemma. *World J Surg Oncol*. 2006 12; 4: 91.

11. Bang G, Koppang HS, Hansen LS, Gilhuus-Moe O, Aksdal E, Persson PG et al. Clear cell odontogenic carcinoma: report of three cases with pulmonary and lymph node metastases. *J Oral Pathol Med*. 1989 Feb; 18(2): 113-8.
12. Barnes L, Eveson JW, Reichart PA, Sidransky D, editors. World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of tumours of the head and neck. Lyon: IARC: 2005.
13. Batista de Paula AM, da Costa Neto JQ, da Silva Gusmão E, Guimarães Santos FB, Gomez RS. Immunolocalization of the p53 protein in a case of ameloblastic fibrosarcoma. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003; 61(2): 256-8.
14. Bello IO, Alanen K, Slootweg PJ, Salo T. Alpha-smooth muscle actin within epithelial islands is predictive of ameloblastic carcinoma. *Oral Oncol*. 2009; 45(9): 760-5.
15. Benlyazid A, Lacroix-Triki M, Aziza R, Gomez-Brouchet A, Guichard M, Sarini J. Ameloblastic carcinoma of the maxilla: case report and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007; 104(6): e17-24.
16. Bilodeau EA, Hoschar AP, Barnes EL, Hunt JL, Seethala RR. Clear cell carcinoma and clear cell odontogenic carcinoma: a comparative clinicopathologic and immunohistochemical study. *Head Neck Pathol*. 2011; 5(2): 101-7.
17. Bland-Sutton J. Odontomes. *Trans Odont Soc (Lond.)* 1888; 20: 32–87.
18. Bologna-Molina R, Mosqueda-Taylor A, de Almeida-Oslei P, Toral-Rizo V, Martínez-Mata G. Peripheral desmoplastic ameloblastoma: histopathological and immunohistochemical profile of a case. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010; 15(6): e846-9.
19. Bologna-Molina R, Mosqueda-Taylor A, Lopez-Corella E, Almeida OP, Carrasco-Daza D, Garcia-Vazquez F, Farfan-Morales JE, Irigoyen-Camacho ME, Damián-Matsumura P. Syndecan-1 (CD138) and Ki-67 expression in different subtypes of ameloblastomas. *Oral Oncol*. 2008; 44(8): 805-11.

20. Bologna-Molina R, Mosqueda-Taylor A, Lopez-Corella E, de Almeida OP, Carrasco-Daza D, Farfán-Morales JE et al. Comparative expression of syndecan-1 and Ki-67 in peripheral and desmoplastic ameloblastomas and ameloblastic carcinoma. *Pathol Int.* 2009; 59(4): 229-33.
21. Brandwein M, Said-Al-Naief N, Gordon R, Urken M. Clear cell odontogenic carcinoma: report of a case and analysis of the literature. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002; 128: 1089-1095.
22. Bregni RC, Taylor AM, Garcia AM. Ameloblastic fibrosarcoma of the mandible: report of two cases and review of the literature. *J Oral Pathol Med.* 2001; 30: 316- 320.
23. Broca P. *Traite´ des Tumeurs, Vol. 2.* Paris: Asselin P, Libraire de la Faculté de Médecine, 1869.
24. Buchner A, Merrell PW, Carpenter WM. Relative frequency of central odontogenic tumors: a study of 1,088 cases from Northern California and comparison to studies from other parts of the world. *J Oral Maxillofac Surg.* 2006; 64(9): 1343-52.
25. Cardoso A, Lazow SK, Solomon MP, Berger JR, Rock A. Metastatic ameloblastoma to the cervical lymph nodes: a case report and review of literature. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 67(6): 1163-6.
26. Castle JT, Arendt DM. Aggressive (malignant) epithelial odontogenic ghost cell tumor. *Ann Diagn Pathol.* 1999. 3: 243-248.
27. Charles M, Barr T, Leong I, Ngan BY, Forte V, Sándor GK. Primary intraosseous malignancy originating in an odontogenic cyst in a young child. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008; 66(4): 813-9.
28. Chera BS, Villaret DB, Orlando CA, Mendenhall WM. Clear cell odontogenic carcinoma of the maxilla: a case report and literature review. *Am J Otolaryngol.* 2008; 29(4): 284-90.
29. Cox DP, Muller S, Carlson GW, Murray D (2000). Ameloblastic carcinoma ameloblastoma of the mandible with malignancy-associated hypercalcemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 90: 716-722.

30. Crivelini MM, de Araújo VC, de Sousa SO, de Araújo NS. Cytokeratins in epithelia of odontogenic neoplasms. *Oral Dis.* 2003; 9(1): 1-6.
31. Dahiya S, Kumar R, Sarkar C, Ralte M, Sharma MC. Clear cell odontogenic carcinoma: a diagnostic dilemma. *Pathol Oncol Res.* 2002. 8: 283-285.
32. Daley TD, Wysocki GP, Pringle GA. Relative incidence of odontogenic tumors and jaw cysts in a Canadian population. *Oral Surg Oral Pathol.* 1994; (3): 276-80.
33. Datta R, Winston JS, Diaz-Reyes G, Loree TR, Myers L, Kuriakose MA et al. Ameloblastic carcinoma: report of an aggressive case with multiple bony metastases. *Am J Otolaryngol.* 2003. 24: 64-69.
34. De Aguiar MC, Gomez RS, Silva EC, de Araújo VC. Clear-cell ameloblastoma (clear-cell odontogenic carcinoma): report of a case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996; 81(1): 79-83.
35. DeLair D, Bejarano PA, Peleg M, El-Mofty SK. Ameloblastic carcinosarcoma of the mandible arising in ameloblastic fibroma: a case report and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 103(4): 516-20.
36. Dhir K, Sciubba JJ, Tufano RP. Ameloblastic carcinoma of the maxilla. *Oral Oncol.* 2003. 39: 736-741.
37. El-Gehani R, Orafi M, Elarbi M, Subhashraj K. Benign tumours of orofacial region at Benghazi, Libya: a study of 405 cases. *J Craniomaxillofac Surg.* 2009; 37(7): 370-5.
38. Eversole LR, Belton CM, Hansen LS. Clear cell odontogenic tumor: histochemical and ultrastructural features. *J Oral Pathol.* 1985.14: 603-614.
39. Eversole LR. Malignant epithelial odontogenic tumors. *Semin Diagn Pathol.* 1999; 16(4): 317-24.
40. Fernandes AM, Duarte EC, Pimenta FJ, Souza LN, Santos VR, Mesquita RA et al. Odontogenic tumors: a study of 340 cases in a Brazilian population. *J Oral Pathol Med.* 2005; 34(10): 583-7.
41. Folpe AL, Tsue T, Rogerson L, Weymuller E, Oda D, True LD. Odontogenic

- ghost cell carcinoma: a case report with immunohistochemical and ultrastructural characterization. *J Oral Pathol Med.* 1998; 27(4): 185-9.
42. Fregnani ER, da Cruz Perez DE, de Almeida OP, Kowalski LP, Soares FA, de Abreu Alves F. Clinicopathological study and treatment outcomes of 121 cases of ameloblastomas. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2010; 39(2): 145-9.
 43. Fregnani ER, Fillipi RZ, Oliveira CR, Vargas PA, Almeida OP. Odontomas and ameloblastomas: variable prevalences around the world? *Oral Oncol.* 2002; 38(8): 807-8.
 44. Friedrich RE, Scheuer HA, Zustin J. Adenomatoid odontogenic tumor (AOT) of maxillary sinus: case report with respect to immunohistochemical findings. *In Vivo.* 2009; 23(1): 111-6.
 45. Fukumashi K, Enokiya Y, Inoue T. Cytokeratins expression of constituting cells in ameloblastoma. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2002; 43(1): 13-21.
 46. Furuta Y, Shinohara T, Sano K, Nagashima K, Inoue K, Tanaka K et al. Molecular pathologic study of human papillomavirus infection in inverted papilloma and squamous cell carcinoma of the nasal cavities and paranasal sinuses. *Laryngoscope.* 1991.101: 79-85. 855.
 47. Fusconi M, Magliulo G, Della Rocca C, Marcotullio D, Suriano M, de Vincentiis M. Leiomyosarcoma of the sinonasal tract: a case report and literature review. *Am J Otolaryngol.* 2002. 23: 108-111.
 48. Gaitán-Cepeda LA, Quezada-Rivera D, Tenorio-Rocha F, Leyva-Huerta ER. Reclassification of odontogenic keratocyst as tumour. Impact on the odontogenic tumours prevalence. *Oral Dis.* 2010; 16(2): 185-7.
 49. Gallego L, Junquera L, Villarreal P, Fresno MF. Primary de novo intraosseous carcinoma: report of a new case. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010; 15(1): e48-51.
 50. Gong Y, Wang L, Wang H, Li T, Chen X. The expression of NF-kappaB, Ki-67 and MMP-9 in CCOT, DGCT and GCOC. *Oral Oncol.* 2009; 45(6): 515-20.
 51. Guerrisi M, Piloni MJ, Keszler A. Odontogenic tumors in children and adolescents. A 15-year retrospective study in Argentina. *Med Oral Patol Oral*

- Cir Bucal. 2007; 12(3): E180-5.
52. Günhan O, Erseven G, Ruacan S, Celasun B, Aydintug Y, Ergun E et al. A series of 409 cases. *Aust Dent J.* 1990 Dec; 35(6): 518-22.
 53. Hall JM, Weathers DR, Unni KK. Ameloblastic carcinoma: an analysis of 14 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 103(6): 799-807.
 54. Hansen LS, Eversole LR, Green TL, Powell NB. Clear cell odontogenic tumor—a new histologic variant with aggressive potential. *Head Neck Surg.* 1985. 8: 115-123.
 55. Hayashi N, Iwata J, Masaoka N, Ueno H, Ohtsuki Y, Moriki T. Ameloblastoma of the mandible metastasizing to the orbit with malignant transformation. A histopathological and immunohistochemical study. *Virchows Arch.* 1997. 430: 501-507.
 56. Heath C. Lectures on Certain Diseases of the Jaws. *Br Med J.* 1887; 2(1383): 5-13.
 57. Howell RM, Burkes EJJr. Malignant transformation of ameloblastic fibro-odontoma to ameloblastic fibrosarcoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1977. 43: 391- 401.
 58. Huang JW, Luo HY, Li Q, Li TJ. Primary intraosseous squamous cell carcinoma of the jaws. Clinicopathologic presentation and prognostic factors. *Arch Pathol Lab Med.* 2009; 133(11): 1834-40.
 59. Iezzi G, Rubini C, Fioroni M, Piattelli A. Clear cell odontogenic carcinoma. *Oral Oncol.* 2002; 38(2): 209-13.
 60. Ikemura K, Horie A, Tashiro H, Nandate M. Simultaneous occurrence of a calcifying odontogenic cyst and its malignant transformation. *Cancer.* 1985; 56(12): 2861-4.
 61. Jackson LL, Wade Z, Hessler RB, Abdelsayed R, Rogers JB, Gourin CG. Quantitative analysis of syndecan-1 expression in dysplasia and squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Laryngoscope.* 2007; 117(5): 868-71.
 62. Jing W, Xuan M, Lin Y, Wu L, Liu L, Zheng X et al. Odontogenic tumours: a

- retrospective study of 1642 cases in a Chinese population. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2007 Jan; 36(1): 20-5.
63. Karakida K, Aoki T, Sakamoto H, Takahashi M, Akamatsu T, Ogura G et al. Ameloblastic carcinoma, secondary type: a case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010; 110(6): e33-7.
 64. Keszler A, Piloni MJ, Malignant transformation in odontogenic keratocysts. Case report. *Med Oral*. 2002;7(5):331-5.
 65. Kim J, Lee EH, Yook JI, Han JY, Yoon JH, Ellis GL. Odontogenic ghost cell carcinoma: a case report with reference to the relation between apoptosis and ghost cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2000. 90: 630-635.
 66. Kobayashi K, Murakami R, Fujii T, Hirano A. Malignant transformation of ameloblastic fibroma to ameloblastic fibrosarcoma: case report and review of the literature. *J Craniomaxillofac Surg*. 2005; 33(5): 352-5.
 67. Kousar A, Hosein MM, Ahmed Z, Minhas K. Rapid sarcomatous transformation of an ameloblastic fibroma of the mandible: case report and literature review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009; 108(3): e80-5.
 68. Kramer IR. The World Health Organization: histological typing of odontogenic tumours: an introduction to the second edition. *J Dent Assoc S Afr*. 1992 May; 47(5): 208-10.
 69. Kumamoto H, Ooya K. Expression of E-cadherin and alpha-catenin in epithelial odontogenic tumors: an immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med*. 1999; 28(4): 152-7.
 70. Kumar M, Fasanmade A, Barrett AW, Mack G, Newman L, Hyde NC. Metastasising clear cell odontogenic carcinoma: a case report and review of the literature. *Oral Oncol*. 2003; 39(2): 190-4.
 71. Kurokawa H, Zhang M, Matsumoto S, Yamashita Y, Tanaka T, Takamori K et al. Reduced syndecan-1 expression is correlated with the histological grade of malignancy at the deep invasive front in oral squamous cell carcinoma. *J*

- Oral Pathol Med. 2006; 35(5): 301-6.
72. Ladeinde AL, Ajayi OF, Ogunlewe MO, Adeyemo WL, Arotiba GT, Bamgbose BO et al. Odontogenic tumors: a review of 319 cases in a Nigerian teaching hospital. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005 Feb; 99 (e): 191-5.
 73. Lambert R, Sauvaget C, de Camargo Cancela M, Sankaranarayanan R. Epidemiology of cancer from the oral cavity and oropharynx. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011 Aug; 23(8): 633-41.
 74. Laughlin EH. Metastatic ameloblastoma. *Cancer.* 1989; 64(3): 776-80.
 75. Leocata P, Villari D, Fazzari C, Lentini M, Fortunato C, Nicòtina PA. Syndecan-1 and Wntless-type protein-1 in human ameloblastomas. *J Oral Pathol Med.* 2007; 36(7): 394-9.
 76. Leon JE, Mata GM, Fregnani ER, Carlos-Bregni R, de Almeida OP, Mosqueda-Taylor A et al. Clinicopathological and immunohistochemical study of 39 cases of Adenomatoid Odontogenic Tumour: a multicentric study. *Oral Oncol.* 2005; 41(8): 835-42.
 77. Li BH, Cho YA, Kim SM, Kim MJ, Hong SP, Lee JH. Recurrent odontogenic ghost cell carcinoma (OGCC) at a reconstructed fibular flap: A case report with immunohistochemical findings. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010.
 78. Li TJ, Yu SF, Gao Y, Wang EB. Clear cell odontogenic carcinoma: a clinicopathologic and immunocytochemical study of 5 cases. *Arch Pathol Lab Med.* 2001 Dec; 125(12): 1566-71.
 79. Lin SC, Lieu CM, Hahn LJ, Kwan HW. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1987 Apr; 16(2): 202-4. Laughlin 1989
 80. Little NA, Jochemsen AG. p63. *Int J Biochem Cell Biol.* 2002 Jan; 34(1): 6-9.
 81. Lo Muzio L, Santarelli A, Caltabiano R, Rubini C, Pieramici T, Giannone N et al. p63 expression correlates with pathological features and biological behaviour of odontogenic tumours. *Histopathology.* 2006 Aug; 49(2): 211-4.
 82. Lu Y, Mock D, Takata T, Jordan RC (1999). Odontogenic ghost cell carcinoma: report of four new cases and review of the literature. *J Oral Pathol*

Med 28: 323-329.

83. Lu Y, Xuan M, Takata T, Wang C, He Z, Zhou Z et al. Odontogenic tumors. A demographic study of 759 cases in a Chinese population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998 Dec; 86(6): 707-14
84. Luo HY, Li TJ. Odontogenic tumors: a study of 1309 cases in a Chinese population. *Oral Oncol.* 2009 Aug; 45(8): 706-11.
85. Madras J, Lapointe H. Keratocystic odontogenic tumor: reclassification of the odontogenic keratocyst from cyst to tumor. *J Can Dent Assoc.* 2008 Mar; 74(2): 165-165h.
86. Mainenti P, Oliveira GS, Valério JB, Daroda LS, Daroda RF, Brandão G et al. Ameloblastic fibro-odontosarcoma: a case report. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2009 Mar; 38(3): 289-92.
87. Maiorano E, Altini M, Viale G, Piattelli A, Favia G. Clear cell odontogenic carcinoma. Report of two cases and review of the literature. *Am J Clin Pathol.* 2001 Jul; 116(1): 107-14.
88. Makowski GJ, McGuff S, Van Sickels JE. Squamous cell carcinoma in a maxillary odontogenic keratocyst. *J Oral Maxillofac Surg.* 2001 Jan; 59(1): 76-80.
89. Martínez A, Mosqueda-Taylor A, Marchesani FJ, Brethauer U, Spencer ML. Adenomatoid odontogenic tumor concomitant with cystic complex odontoma: case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009 Oct; 108(4): e25-9.
90. Martínez A, Spencer ML, Brethauer U, Grez P, Marchesani FJ, Rojas IG. Reduction of syndecan-1 expression during lip carcinogenesis. *J Oral Pathol Med.* 2009 Aug; 38(7): 580-3.
91. McClatchey KD (1987). Tumors of the dental lamina: a selective review. *Semin Diagn Pathol* 4: 200-204.
92. McClatchey KD, Sullivan MJ, Paugh DR (1989). Peripheral ameloblastic carcinoma: a case report of a rare neoplasm. *J Otolaryngol* 18: 109-111.
93. Miyake T, Tanaka Y, Kato K, Tanaka M, Sato Y, Ijiri R et al. Gene mutation

- analysis and immunohistochemical study of beta-catenin in odontogenic tumors. *Pathol Int.* 2006 Dec; 56(12): 732-7.
94. Mosqueda TA. New findings and controversies in odontogenic tumors. *Med Oral Patol Cir Bucal.* 2008; 13(9): E 555-8.
 95. Mosqueda Taylor A, Meneses García A, Ruíz Godoy Rivera LM, Suárez Roa Mde L, Luna Ortiz K. Malignant odontogenic tumors. A retrospective and collaborative study of seven cases. *Med Oral.* 2003 Mar-Apr; 8(2): 110-21.
 96. Mosqueda-Taylor A, Ledesma-Montes C, Caballero Sandoval S, Portilla Robertson J, Ruíz-Godoy Rivera LM, Meneses-García A. Odontogenic tumors in Mexico: a collaborative retrospective study of 349 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 1997; Dec; 84(6): 672-5.
 97. Mosqueda-Taylor A, Meneses Garcia A, Ruiz-Godoy Rivera LM, Lourdes Suarez-Roa M (2002). Clear cell odontogenic carcinoma of the mandible. *J Oral Pathol Med* 31: 439-441.
 98. Mothes P, Kreuzsch T, Harms D, Donath K, Schmelzle R. Frequency of odontogenic tumors in the growth period. *Dtsch Zahnarztl Z.* 1991 Jan; 46(1): 18-9.
 99. Motosugi U, Ogawa I, Yoda T, Abe T, Sugawara M, Murata S et al. Ghost cell odontogenic carcinoma arising in calcifying odontogenic cyst. *Ann Diagn Pathol.* 2009 Dec; 13(6): 394-7.
 100. Mukunyadzi P, Liu K, Hanna EY, Suen JY, Fan CY. Induced expression of syndecan-1 in the stroma of head and neck squamous cell carcinoma. *Mod Pathol.* 2003 Aug; 16(8): 796-801.
 101. Müller S, Waldron CA. Primary intraosseous squamous carcinoma. Report of two cases. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1991 Dec; 20(6): 362-5.
 102. Murakami S, Koike Y, Matsuzaka K, Ohata H, Uchiyama T, Inoue T. A case of calcifying odontogenic cyst with numerous calcifications: immunohistochemical analysis. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2003 May;44(2):61-6.
 103. Ndukwe KC, Adebisi EK, Ugboko VI, Adeyemo WL, Ajayi FO, Ladeinde AL et al. Ameloblastic carcinoma: a multicenter Nigerian study. *J Oral Maxillofac*

- Surg. 2010 Sep; 68(9): 2111-4.
104. Obara N, Lesot H. Subcellular localization of beta-catenin and cadherin expression in the cap-stage enamel organ of the mouse molar. *Histochem Cell Biol.* 2004 Apr; 121(4): 351-8. Epub 2004 Mar 2.
 105. Obara N, Suzuki Y, Nagai Y, Takeda M. Expression of E- and P-cadherin during tooth morphogenesis and cytodifferentiation of ameloblasts. *Anat Embryol (Berl).* 1998 Jun; 197(6): 469-75.
 106. Ochsenius G, Ortega A, Godoy L, Peñafiel C, Escobar E. Odontogenic tumors in Chile: a study of 362 cases. *J Oral Pathol Med.* 2002 Aug; 31(7): 415-20.
 107. Odukoya O. Odontogenic tumors: analysis of 289 Nigerian cases. *J Oral Pathol Med.* 1995 Nov; 24(10): 454-7.
 108. Ogunsalu CO. Odontogenic tumors from two centres in Jamaica. A 15-year review. *West Indian Med J.* 2003 Dec; 52(4): 285-9.
 109. Okada H, Yamamoto H, Tilakaratne WM. Odontogenic tumors in Sri Lanka: analysis of 226 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007 May; 65(5): 875-82.
 110. Olgac V, Koseoglu BG, Aksakalli N. Odontogenic tumours in Istanbul: 527 cases. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2006 Oct; 44(5): 386-8.
 111. Papaioannou M, Manika K, Tsaoussis B, Cheva A, Sichletidis L, Kioumis J. Ameloblastoma of the mandible with pulmonary metastases 45 years after initial diagnosis. *Respirology.* 2009 Nov; 14(8): 1208-11. Epub 2009 Sep 1.
 112. Philipsen HP, Reichart PA. Classification of odontogenic tumours. A historical review. *J Oral Pathol Med.* 2006 Oct; 35(9): 525-9.
 113. Piattelli A, Fioroni M, Di Alberti L, Rubini C. Immunohistochemical analysis of a dentinogenic ghost cell tumour. *Oral Oncol.* 1998 Nov; 34(6): 502-7.
 114. Pindborg JJ, Clausen F. Classification of odontogenic tumors. A suggestion. *Acta Odontol Scand* 1958; 16: 293- 301.
 115. Pindborg JJ, Kramer IRH, Torloni H. Histological typing of odontogenic tumors, jaw cysts and allied lesions. Geneva: World Health Organisation; 1971. p. 35-6.

116. Pontes HA, Pontes FS, Silva BS, Cury SE, Fonseca FP, Salim RA, et al. Immunoexpression of Ki67, proliferative cell nuclear antigen, and Bcl-2 proteins in a case of ameloblastic fibrosarcoma. *Ann Diagn Pathol.* 2010 Dec; 14(6): 447-52. Epub 2010 Feb 4.
117. Praetorius F. Odontogenic tumors. In: Barnes L. organizador. *Surgical Pathology of the head and neck.* USA. Informa. 2009.
118. Regezi JA, Kerr DA, Courtney RM. Odontogenic tumors: analysis of 706 cases. *J Oral Surg.* 1978 Sep-Oct;
119. Reichart PA, Philipsem HP. *Odontogenic tumors and allied lesions.* France: Lavoisier; 2004.
120. Rodríguez-Fregnani E, De Faria PR, Carrinho-Ayrosa Rangel AL, Almeida OP, Vargas PA. Tumores Odontogênicos: análise de 113 casos da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, em RPG Rev Pos Grad. 2003;10:355-9.
121. Santos JN, Pinto LP, de Figueredo CR, de Souza LB. Odontogenic tumors: analysis of 127 cases. *Pesqui Odontol Bras.* 2001 Oct-Dec; 15(4): 308-13.
122. Scheer M, Koch AM, Drebber U, Kübler AC. Primary intraosseous carcinoma of the jaws arising from an odontogenic cyst--a case report. *J Craniomaxillofac Surg.* 2004 Jun; 32(3): 166-9.
123. Scully C, Bagan J. Oral squamous cell carcinoma: overview of current understanding of aetiopathogenesis and clinical implications. *Oral Dis.* 2009 Sep; 15(6): 388-99.
124. Sekine S, Sato S, Takata T, Fukuda Y, Ishida T, Kishino M et al. Beta-catenin mutations are frequent in calcifying odontogenic cysts, but rare in ameloblastomas. *Am J Pathol.* 2003 Nov; 163(5): 1707-12.
125. Shafer WG, Hine MK, Levy BM. *A Textbook of oral pathology.* 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1974: 254.
126. Simon EN, Merckx MA, Vuhahula E, Ngassapa D, Stoelinga PJ. A 4-year prospective study on epidemiology and clinicopathological presentation of odontogenic tumors in Tanzania. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*

- Endod. 2005 May; 99(5): 598-602.
127. Simon EN, Stoelinga PJ, Vuhahula E, Ngassapa D. Odontogenic tumors and tumor-like lesions in Tanzania. *East Afr Med J.* 2002 Jan; 79(1): 3-7.
 128. Siriwardena BS, Tilakaratne WM, Rajapaksha RM. Clear cell odontogenic carcinoma-a case report and review of literature. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004 Jul; 33(5): 512-4.
 129. Slater LJ (1999). Odontogenic sarcoma and carcinosarcoma. *Semin Diagn Pathol* 16: 325-332.
 130. Soukka T, Pohjola J, Inki P, Happonen RP. Reduction of syndecan-1 expression is associated with dysplastic oral epithelium. *J Oral Pathol Med.* 2000 Aug; 29(7): 308-13.
 131. Sriram G, Shetty RP. Odontogenic tumors: a study of 250 cases in an Indian teaching hospital. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Jun; 105(6): e14-21. Epub 2008 Apr 16.
 132. Suei Y, Tanimoto K, Taguchi A, et al. Primary intraosseous carcinoma: review of the literature and diagnostic criteria. *J Oral Maxillofac Surg* 1994; 52(6): 580–583.
 133. Sun ZJ, Zhao YF, Zhang L, Li ZB, Chen XM, Zhang WF. Odontogenic ghost cell carcinoma in the maxilla: a case report and literature review. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007 Sep; 65(9): 1820-4.
 134. Takeda Y (1999). Ameloblastic fibroma and related lesions: current pathologic concept. *Oral Oncol.* 1999. 35: 535-540.
 135. Takeda Y, Kuroda M, Suzuki A (1990). Ameloblastic odontosarcoma (ameloblastic fibro-odontosarcoma) in the mandible. *Acta Pathol Jpn* 40: 832-837.
 136. Tamme T, Soots M, Kulla A, Karu K, Hanstein SM, Sokk A et al. Odontogenic tumours, a collaborative retrospective study of 75 cases covering more than 25 years from Estonia. *J Craniomaxillofac Surg.* 2004 Jun; 32(3): 161-5.
 137. Tanahashi J, Daa T, Yada N, Kashima K, Kondoh Y, Yokoyama S. Mutational analysis of Wnt signaling molecules in ameloblastoma with aberrant nuclear

- expression of beta-catenin. *J Oral Pathol Med*. 2008 Oct; 37(9): 565-70. Epub 2008 Feb 17.
138. Tawfik MA, Zyada MM. Odontogenic tumors in Dakahlia, Egypt: analysis of 82 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010 Feb; 109(2): e67-73. Epub 2009 Dec 6.
139. Ten Cate (2008). *Histologia oral. Desenvolvimento, estrutura e função*. Mosby. 7a edição. Capítulo 5
140. Thoma KH, Goldman HM. Odontogenic Tumors: A Classification Based on Observations of the Epithelial, Mesenchymal, and Mixed Varieties. *Am J Pathol*. 1946 May; 22(3): 433-71.
141. Eliasson A, Moser R, Tenholder M. Diagnosis and treatment of metastatic ameloblastoma. *South Med J* 1989; 82:1165-8.
142. Vera Sempere FJ, Artes Martínez MJ, Vera Sirera B, Bonet Marco J. Follicular adenomatoid odontogenic tumor: immunohistochemical study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006 Jul 1; 11(4): E305-8.
143. Waldron CA, Small IA, Silverman H (1985). Clear cell ameloblastoma-an odontogenic carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg* 43: 707-717.
144. Werle H, Blake FA, Reichelt U, Schmelzle R, Heiland M. Clear-cell odontogenic carcinoma: a new case and long-term follow-up of an old case, and review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009 Jun; 67(6): 1342-8.
145. Wettan HL, Patella PA, Freedman PD. Peripheral ameloblastoma: review of the literature and report of recurrence as severe dysplasia. *J Oral Maxillofac Surg*. 2001 Jul; 59(7): 811-5.
146. Williams MD, Hanna EY, El-Naggar AK. Anaplastic ameloblastic fibrosarcoma arising from recurrent ameloblastic fibroma: restricted molecular abnormalities of certain genes to the malignant transformation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007 Jul; 104(1): 72-5.
147. Xavier FC, Rodini CO, Ramalho LM, Sarmiento VA, Nunes FD, de Sousa SC. Clear cell odontogenic carcinoma: case report with immunohistochemical findings adding support to the challenging diagnosis. *Oral Surg Oral Med Oral*

- Pathol Oral Radiol Endod. 2008 Sep; 106(3): 403-10.
148. Yamauchi K, Fujioka Y, Kogashiwa Y, Kohno N. Quantitative expression study of four cytokeratins and p63 in squamous cell carcinoma of the tongue: suitability for sentinel node navigation surgery using one-step nucleic acid amplification. *J Clin Pathol*. 2011 Jun 24.
 149. Yang A, Schweitzer R, Sun D, Kaghad M, Walker N, Bronson RT et al. p63 is essential for regenerative proliferation in limb, craniofacial and epithelial development. *Nature*. 1999 Apr 22; 398(6729): 714-8.
 150. Yoon HJ, Hong SP, Lee JI, Lee SS, Hong SD. Ameloblastic carcinoma: an analysis of 6 cases with review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009 Dec; 108(6): 904-13.
 151. Zabolinejad N, Hiradfar M, Anvari K, Razavi AS. Ameloblastic fibrosarcoma of the maxillary sinus in an infant: a case report with long-term follow-up. *J Pediatr Surg*. 2008 Feb; 43(2): e5-8.
 152. Zhang J, Liu L, Pan J, Tian X, Tan J, Zhou J et al. Clear cell odontogenic carcinoma: report of 6 cases and review of the literature. *Med Oncol*. 2010.

